

raZyEie

# Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

Publicación Científica de la Asociación Argentina de Zoonosis

Volumen IX • Nº 3 • Diciembre 2014



AAZ • 25 años • 1989-2014

ISSN 1851-3638  
(En línea) ISSN 2346-8858



# Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

— raZyEie —

Publicación científica cuatrimestral  
de la Asociación Argentina de Zoonosis

## Comité Editorial

### Directores Editoriales

Dr. Alfredo Seijo  
*Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires - Argentina*

Dr. Pablo Martino  
*Comisión de Investigaciones Científicas de la  
Pcia. de Buenos Aires - Argentina*

### Editores Asociados

Lic. Marcelo Abril  
*Fundación Mundo Sano - Buenos Aires - Argentina*

Dra. Marina Khoury  
*Comité de Docencia e Investigación Instituto de Investigaciones  
Médicas Alfredo Lanari - Buenos Aires - Argentina*

Dra. Marta Rivas  
*Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS  
"Dr. C. G. Malbrán" - Ciudad de Buenos Aires.*

### Asistente Editorial

Lic. Karina Veliz  
*Asociación Argentina de Zoonosis  
Ciudad de Buenos Aires - Argentina*

### Secretaría de redacción on line

Dr. Sergio Giamperetti  
*Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires - Argentina*

### Secretario de Relaciones Institucionales

Dr. Gabriel Capitelli  
*Relaciones Internacionales - Universidad de Buenos Aires - CABA*

## Consejo Editorial

### Argentina

Dr. Miguel A. Basombrio  
*Universidad Nacional de Salta (UNSA) - Salta*

Dr. Juan Basualdo Farjat  
*Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de La Plata -  
Buenos Aires*

Dr. Jorge Bolpe  
*Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires - Azul*

Dra. Bibiana Briguega  
*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria  
Buenos Aires - Argentina*

Dr. Marcelo Corti  
*Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires*

Dra. Sabrina Domené  
*Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética  
y Biología Molecular - Ciudad de Buenos Aires*

Dr. Ricardo Durlach  
*Hospital Alemán - Ciudad de Buenos Aires*

Dra. Delia Enría  
*Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas  
"Dr. Julio I. Maiztegui" - Pergamino - Pcia. Buenos Aires*

Lic. Manuel Osvaldo Espinosa  
*Fundación Mundo Sano - Ciudad de Buenos Aires*

Dr. Amadeo Esposto  
*Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional  
de La Plata - Pcia. de Buenos Aires*

Dr. Jorge Gorodner  
*Académico de Medicina; Instituto de Medicina Regional.  
Universidad Nacional del Noreste - Corrientes*

Dr. Olindo Martino  
*Academia Nacional de Medicina - Buenos Aires*

Dr. Ramón Nosedá  
*Laboratorio de Azul - Pcia. de Buenos Aires*

Dr. Domingo Palmero  
*Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires*

Dr. Alberto Parma  
*Universidad Nacional del Centro. Laboratorio de  
Inmunoquímica y Biotecnología (CIC) Tandil - Buenos Aires*

Dr. Ricardo Rodríguez  
*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires*

Dr. Daniel Salomón  
*Instituto Nacional de Medicina Tropical - Misiones*

Dr. Luis Samartino  
*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires*

Dr. Alejandro Schudel  
*Fundación PROSAIA - Ciudad de Buenos Aires*

Dra. Cristina Salomón  
*Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo -  
Mendoza*

Dr. Eduardo Zerba  
*Centro de Investigación en Plagas e Insecticidas (CIPEIN).  
CITEFA-CONICET*

### Del Exterior

Dr. Juan Arbiza  
*Facultad de Ciencias - Montevideo - Uruguay*

Dr. Joan A. Cayla i Buqueras  
*Agencia de Salud Pública de Barcelona - España*

Dr. Cesar Cabezas  
*Instituto Nacional de Salud - Perú*

Dr. José Guillermo Estrada Franco  
*División Medicina. Universidad de Texas - EE.UU.*

Dr. Eduardo Gotuzzo  
*Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt",  
Universidad Peruana Cayetano Heredia - Perú*

Dr. Marcelo Gottschalk  
*Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Montreal -  
Canadá*

Dra. María Guadalupe Guzmán  
*Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" de la Habana - Cuba*

Dr. Yoshihisa Haschiguchi  
*Universidad de Kochi - Japón*

Dr. Dionisio José Herrera Guibert  
*Director, Red de Programas de Formación en Epidemiología de  
Campo y Salud Pública (TEPHINET) EE. UU.*

Dr. Alvaro Hilinki  
*Medicina Tropical e Infectología.  
Facultad de Ciencias Médicas de Santos - Brasil*

Dr. James Le Duc  
*Galveston National Laboratory. Departamento de Medicina.  
Universidad de Texas -EE.UU.*

Dr. Santiago Mas Coma (España)  
*Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia - España*

Dr. Christopher Paddock  
*Infectious Diseases Pathology Branch. Centers for Disease  
Control and Prevention. Atlanta. EE.UU.*

Dr. Hector Ratti Jaeggli  
*Academia Nacional de Medicina del Paraguay*

Dr. Eric Martínez Torres  
*Miembro del Tribunal Permanente de Infectología y Medicina  
Tropical de la Comisión. Nacional de Grados Científicos y miembro  
del Grupo Internacional Estrategia de Gestión Integrada-Dengue  
de la OPS y del Grupo de expertos de Dengue del TDR/OMS - Cuba*

Dr. Pedro F. C. Vasconcelos  
*Instituto Evandro Chagas (IEC). WHOCC - Brasil*

ÍNDICE

■ <b>Acerca de la ilustración de tapa</b> .....	4
■ <b>Objetivos de la Revista</b> .....	4
■ <b>Editorial</b> .....	5
■ <b>Artículos Originales</b>	
■ <b>Hallazgo de brucelosis en perros del Municipio de Nogoyá, provincia de Entre Ríos</b> Juan Carlos Zárate, Alejandro López, Deborah B. Hasan, Celina A. Celestino, Nidia E. Lucero .....	7
■ <b>Efecto de la asociación de un inhibidor de bombas de eflujo en la cinética de muerte bacteriana de <i>Escherichia coli</i></b> Laura Marchetti, Valeria Vedovato, Andrea Buchamer, Juan Chiarizia, Yanina Cabril, Nora Mestorino .....	13
■ <b>Leishmaniosis tegumentaria: Retardo en el diagnóstico en una región no endémica</b> María L. Yantorno, María F. Ferrer, et al. ....	17
■ <b>Triquinelosis: Conocimientos y hábitos en poblaciones epidemiológicamente diferentes de la Provincia de Buenos Aires, y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina</b> Adriana Betti, Natalia Cardillo, Mariana Pasqualetti, Fernando Fariña, Adriana Rosa, Mabel Ribicich .....	21
■ <b>Análisis genético comparativo de la glutatión S-transferasa de <i>Fasciola hepatica</i> procedente de distintos huéspedes definitivos</b> Vanesa Fernández, Silvia M. Estein, Pedro Ortiz, Hugo Solana .....	25
■ <b>Comunicaciones breves</b>	
■ <b>Detección de <i>Rickettsia amblyommii</i> en la garrapata <i>Amblyomma tonelliae</i> n. sp. Nava, Beati y Labruna (Acari: Ixodidae) en Jujuy, Argentina</b> Evelina L. Tarragona, Gabriel L. Cicuttin, Atilio J. Mangold, Mariano Mastropaolo, María N. De Salvo, Santiago Nava .....	30
■ <b>Dinámica estacional de <i>Lutzomyia longipalpis</i>, vector de leishmaniasis visceral, en dos localidades del Norte Argentino.</b> Andrea Gómez Bravo, Ignacio Gould, María Gabriela Quintana, Oscar Daniel Salomón, Marcelo Abril .....	31
■ <b>La presencia de <i>Amblyomma coelebs</i> Neumann, 1899 y <i>Haemaphysalis juxtakochi</i> Cooley, 1946 (Acari: Ixodidae) en la provincia de Misiones, Argentina</b> Daniela Lamattina, Evelina Luisa Tarragona, Sebastián Andrés Costa, Santiago Nava .....	32
■ <b>Persistencia de la infestación de <i>Lutzomyia longipalpis</i>, vector de Leishmaniasis Visceral, en la ciudad de Bella Unión, Uruguay</b> Yester Basmadján, Alejandra Lozano, Lorenzo Verger, et al. ....	34
■ <b>Reservorios silvestres de <i>Trypanosoma cruzi</i> en el Chaco Argentino. 2002-2011</b> M. Marcela Orozco, Gustavo F. Enriquez, Leonardo A. Ceballos, M. Victoria Cardinal, Ricardo E. Gürtler ..	35
■ <b>Rol de roedores sigmodontinos en la ecoepidemiología de <i>Rickettsia parkeri</i> en el Delta del Paraná: resultados preliminares</b> Valeria C. Colombo, Lucas D. Monje, Carolina S. Thompson, et al. ....	37
■ <b><i>Microcavia australis</i> (Caviidae, Rodentia), un nuevo reservorio de <i>Trypanosoma cruzi</i></b> M. Carla Cecere, Marta V. Cardinal, Juan P. Arrabal, Claudio Moreno, Ricardo E. Gürtler .....	38
■ <b>Detección del serotipo 4 de virus dengue (DEN-4), genotipo II, en Argentina, 2013</b> Cintia Fabbri, María A. Morales, Victoria Luppó, Delia Enria, Silvana Levis .....	40
■ <b>Enfermedad de Chagas en el sistema nervioso central en paciente con infección por HIV/SIDA: a propósito de un caso con dificultades diagnósticas y terapéuticas</b> Federico Simioli, Milagro Sanchez Cunto, Esteban Couto, Susana Lloveras, Jorge Wallach, Tomas Orduna .....	41
■ <b>Evaluation of immune responses and protection induced by the <i>Leishmania antigen</i> LOxy with MPLA or CpG adjuvants against <i>Visceral Leishmaniasis</i></b> Leopoldo Ferreira Marques Machado, Adriana Monte Cassiano Canavaci, Vivian T. Martins, et al. ....	43
■ <b>Producción recombinante de antígenos en el desarrollo de un método serológico para la detección de encefalitis flavivirales de importancia local</b> Matías Lorch, Sandra Goñi, Betina Stephan, et al. ....	44
■ <b>Participación doméstica en estrategias ambientales para el manejo sostenible en presencia de <i>Lutzomyia longipalpis</i> en Posadas, Misiones</b> Karen López, Ingrid Steinhorst, José Busse, et al. ....	45
■ <b>Identificación molecular de <i>Rickettsia massiliae</i> en garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> colectadas en el barrio Los Piletones, Villa Soldati</b> Eliana Guillemi, Marcela Martínez Vivot, Ludmila Lopez Arias, Diego Alvarez, Marisa Farber ...	46
■ <b>Evaluación de desempeño de la técnica de ELISA NS1 de virus Dengue (DEN) en la Red Nacional, 2013</b> MA. Morales, G. Castro, M. Figueredo, et al. ....	48
■ <b>Aislamiento <i>in vitro</i> e intensidad de infección de <i>Rickettsia parkeri</i> en garrapatas <i>Amblyomma triste</i> de la región del Delta del Río Paraná, Argentina</b> Lucas Monje, Santiago Nava, Leandro Antoniazzi, Valeria Colombo, Pablo Beldomenico .....	49
■ <b>Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de <i>Leishmania</i> spp. en áreas endémicas de Chaco, Argentina: a propósito de un caso</b> Marcelo Gabriel Medina, Horacio Lucero .....	51
■ <b>Estudio de foco ante el primer caso humano de leishmaniasis visceral en Paso de los Libres, provincia de Corrientes. Diciembre de 2013</b> Josefina Blanco, Natalia Ferro, Ignacio Gould, Natalia Casas, Oscar Salomón .....	53

<p>■ <b>Novel spotted fever group rickettsiae infecting <i>Amblyomma dubitatum</i> in northeastern Argentina</b> Lucas Monje, Santiago Nava, Ayelen Eberhardt, Ana Correa, Alberto Guglielmo, Pablo Beldomenico.....</p>	55	<p>■ <b>Leishmaniasis visceral en caninos de Mendoza provenientes de zona endémica de la República Argentina</b> Roberto Mera y Sierra, Ricardo Lo Bello, Sergio Biglieri, Gisela Neira .....</p>	69
<p>■ <b>Detección de <i>Ehrlichiosis</i> en caninos atendidos en diversas clínicas veterinarias en 2 ciudades de Chile</b> Romy Weinborn, Ignacio Troncoso, Álvaro Opazo, et al. ....</p>	56	<p>■ <b>Leishmaniasis visceral: Evaluación del riesgo de transmisión en la ciudad de Santa Ana, Misiones, Argentina</b> Santini MS, Gould IT, Casas N, Blanco J, Costa de Oliveira V, Salomon OD .....</p>	71
<p>■ <b>Febre Maculosa Brasileira: surto familiar</b> Fábio Miranda Junqueira, Maria Carolina Pereira da Rocha, Marcos Vinicius da Silva, et al. ....</p>	58	<p>■ <b>Leishmaniasis tegumentaria: una serie de casos atendidos en una región no endémica de Argentina</b> María L. Yantorno, María F. Ferrer, Yanina Nuccetelli, et al. ....</p>	72
<p>■ <b>Caso de leishmaniosis canina no autóctono en Santa Fe, Argentina</b> Dana Plaza, Juan Quinodoz, María Florencia Bono Battistoni, Viviana Orcellet, Esteban Junkers, José Luis Peralta, Alexis Burna, Carlos Ayala .....</p>	59	<p>■ <b>Presencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> y <i>Toxoplasma gondii</i> en caninos de localidades de la provincia de Salta</b> Javier Binda, Gabriela Trova, Marcelo Alonso, Rodrigo Pereyra, Olga Sánchez Negrette .....</p>	73
<p>■ <b>Estudio de la prevalencia de infección chagásica en escolares de la ciudad de Salta, localidades de La Unión, San Carlos provincia de Salta y Taco Pozo, provincia de Chaco</b> Héctor Freilij, Olga Sánchez Negrette, Mario Zaidenberg, María Concepción Monteros, Víctor Linares, Analía Acevedo .....</p>	61	<p>■ <b>Uso de SIG y la teledetección para el análisis, control y prevención de enfermedades transmitidas por vectores: Aplicaciones en Chagas</b> Gustavo Leonhard, Diana Brito Hoyos, Ximena Porcasi, Hugo Hrellac, Cynthia Spillmann .....</p>	75
<p>■ <b>Estudio de la situación seroepidemiológica de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en jornaleros migrantes en Ensenada, Baja California, Méjico</b> Elisa Pallarés-Broche, Liliana Carrizo, Raquel Muñoz-Salazar, María Cristina Salomón .....</p>	62	<p>■ <b>Evaluación comparativa de la efectividad insecticida de tres principios activos sobre ejemplares de <i>Lutzomyia longipalpis</i> capturados en campo</b> Laura W. Juan, Ignacio T. Gould, Oscar D. Salomón, Juan Molina, Raúl A. Alzogaray, Eduardo N. Zerba ....</p>	76
<p>■ <b>Infection dynamics of <i>Rickettsia parkeri</i> in cattle in the Paraná River Delta, Argentina</b> Lucas Monje, Valeria Colombo, Marcelo Labruna, et al. ....</p>	63	<p>(Comunicaciones breves presentadas en el III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis)</p>	
<p>■ <b>Leishmaniosis visceral canina en el Paraguay</b> Jorge Miret, Ramón Martínez, Jorge Ojeda, et al. ....</p>	65	<p>■ <b>Caso clínico</b></p>	
<p>■ <b><i>Rickettsia felis</i> en pulgas <i>Ctenocephalides felis</i> de barrios carenciados de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Resultados preliminares</b> M. Laura Isturiz, M. Cielo Linares, M. Nazarena De Salvo, Federico E. Gury Dohmen, Gabriel L. Cicuttin .....</p>	66	<p>■ <b>Detección por guardia, de un caso de hantavirus, en ocasión de turismo</b> Jorge Correa, Federico Simioli, Gustavo Bruni, Sergio Giamperetti, Gladys Poustis .....</p>	78
<p>■ <b>Enfermedad de Chagas en un municipio del conurbano bonaerense</b> Juan Pablo Stagnaro, Judith Celina Bernstein, Regina Alvarez .....</p>	68	<p>■ <b>In Memoriam</b> .....</p>	82
		<p>■ <b>Cartas al editor</b> .....</p>	83
		<p>■ <b>Imágenes en Zoonosis</b></p>	
		<p>■ <b>Un aspecto distinto de la Medicina del Viajero</b> Delia Enría, Ana M Briggiler, Anabel Sinchi, María Florencia Coronel, Jorge Taylor .....</p>	84
		<p>■ <b>Reglamento de Publicación</b> .....</p>	86

La Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes (raZ y Eie) forma parte de la Asociación Argentina de Editores Biomédicos y es indizada por SIIC Data Bases

## Acerca de la ilustración de la tapa



"Cabeza llorando con pañuelo."  
Tinta sobre papel de dibujo blanco.  
Pablo Picasso, 4 de julio de 1937

En este número de *raZyEie*, la ilustración de la tapa se relaciona con el editorial, y conforme a ello, con las noticias sanitarias que han puesto en vilo a grandes sectores de la población, en especial aquellas informaciones provenientes de África por el brote de Ébola. Las catástrofes humanas más visibles han sido históricamente las guerras, las hambrunas y las epidemias con connotaciones de plagas. Este nombre es utilizado por los angloparlantes para designar a la peste, en sentido de la enfermedad causada por *Y. pestis*, y al igual que en nuestro idioma, para nombrar en forma genérica los grandes males sanitarios de la humanidad (viruela, tífus, cólera, etc.). La epidemia de peste del siglo XIV, tuvo una repercusión para la historia posterior de occidente, que aún utilizamos su nombre para designar todo aquello que es maléfico o tiene connotaciones de suma gravedad.

*Cabeza llorando, mujer llorando, cabeza de mujer llorando, cabeza de mujer llorando con pañuelo y cabeza llorando con pañuelo* (ilustración de la tapa), pertenecen a los denominados "postscriptos" del *Guernica*

de Pablo Picasso (1881-1973). Fueron pintados con posterioridad al *Guernica*, utilizando diversas técnicas, desde el óleo hasta grafito, tinta, aguatinta y otros. Se relacionan al *Guernica* en la desesperación y la vez impotencia, la tristeza junto con el asombro y tantos sentimientos humanos, frente a los "horrores de la guerra", que un siglo antes había plasmado en sus *pinturas negras* el genial Goya. Estos "postscriptos", fueron presentados junto con los bocetos preparatorios del *Guernica*, en total suman 64 obras, cuando éste pudo ser visto por el público español, en el Casón del Buen Retiro, en octubre de 1981. Había estado fuera de España (Museo de Arte Moderno de Nueva York), durante la dictadura de Franco y por propia decisión de Picasso. En la actualidad se exponen en el Museo Nacional Centro de Arte Reina Sofía, de Madrid.

Producido el genocidio y destrucción de la villa vasca de Guernica, por bombas arrojadas desde aviones nazis, durante la Guerra Civil Española, es posible que Picasso haya tomado conocimiento por las fotos del bombardeo que aparecieron en diarios de París el 30 de abril de 1937. Un día después, el primero de mayo, realizó el primero de varios bocetos para la composición del cuadro y comenzó, a partir de allí, con una febril actividad, hasta que plasmó el *Guernica* a comienzos de junio de ese año. No hay aviones, ni bombas, ni nada que recuerde a la villa de Guernica en sí. Toda la composición está conformada por temas muy caros y preexistentes en la obra de Picasso, como la fuerza expresiva de la tauromaquia (en esto también se acerca a Goya), rostros de mujeres que provenían de experiencias personales dolorosas, es decir, todo su mundo interior, complejo y rico, con múltiples significados, traducidos en forma surrealista ante el horror de la guerra. Es ese mundo surrealista de García Lorca y Miró, con el cual compartió sus momentos de sufrimiento personal. Se ha dicho que el *Guernica*, "es una combinación entre la atracción por el compromiso social y político y la innovación formal" –artística–, que era el reto de los pintores de vanguardia del siglo XX. Como él expresó: "Manejo los objetos de mis cuadros según me dictan mis pasiones".

## Objetivos de la revista

Dentro del múltiple y diverso universo de las revistas científicas, la Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes se distingue por brindar a todos los actores de la salud pública la posibilidad de difundir experiencias y resultados fruto del ejercicio cotidiano de su profesión y vocación. Ponemos especial énfasis en este rol de la RAZyEI, partiendo de una convicción, y es que son escasas e insuficientes estas posibilidades, con la consecuente pérdida de información generada en terreno, de primera mano, en el contexto en el que tienen lugar las patologías que nos ocupan y sus consecuencias.

¿Cuántas veces se reflexiona sobre las limitaciones que se imponen al proceso de extrapolar conocimientos,

herramientas o estrategias nacidas en el marco de estudios de diseño perfecto desde el punto de vista metodológico pero distantes en su concepción de la complejidad del mundo real?

Afortunadamente no solo en el ámbito académico encontramos profesionales con capacidad de observación, con inquietud de entender y descubrir. Son muchas las personas que día a día en el desempeño de su labor encuentran caminos que merecen ser compartidos.

Para todos aquellos trabajadores de la salud que viven su profesión con esta vocación y pasión, que incluye la voluntad por compartir sus experiencias, es este espacio de la RAZyEI.

## Editorial

### Consideraciones sobre Ébola y Chikungunya

En los últimos meses de este año, el mundo occidental –en especial– se ha visto conmovido o preocupado por dos enfermedades: el brote de Ébola y la emergencia del virus Chikungunya (CHIKV) en las Américas. En este último caso, opacado por la repercusión y el temor ante la aparición de casos de Ébola en Europa y los EE.UU. Es muy posible que CHIKV se disperse por las Américas en forma rápida, sumando otra preocupación a la ya conocida del dengue. Si bien ambas enfermedades presentan ciertas similitudes, como la trasmisión por los mismos vectores y algunas características clínicas, existen otras que las diferencian. Un hecho notable es la rapidez de la dispersión de CHIKV, ya que en escasos meses pasó de Haití y Dominicana a Estados Unidos, prácticamente todas las islas del Caribe (exceptuando a la fecha Cuba), toda Centroamérica (exceptuando a la fecha a México y Honduras), Guyana, Guyana Francesa, Surinam, Brasil, Venezuela, y Colombia. El dengue mostró patrones de dispersión más lentos. Desde el mítico brote de Cuba en 1981 hasta que apareció en la Argentina en 1997, pasaron diez y seis años. Es muy posible también, que las poblaciones afectadas por CHIKV deban lidiar con manifestaciones subagudas y crónicas, en especial articulares, hecho tan distinto del carácter autolimitado del dengue.

Como decíamos arriba, el brote de Ébola opacó, en parte, el interés de la salud pública por el CHIKV. ¿Fue debido al número inusual de casos de Ébola en tres remotos países africanos? Probablemente las razones de mayor peso, se encuentren en que, por primera vez, los países desarrollados consideraron la posibilidad que sus territorios fueran atravesados por el virus. Desde su reconocimiento a mediados de la década del setenta, en la República Democrática del Congo (ex Zaire), se han producido varios miles de casos, en brotes que afectaron el centro y occidente del África subsahariana, con una letalidad muy alta.

### Algunas observaciones respecto del comportamiento mundial

En estos cuarenta años, ¿cuánto del presupuesto y del interés político de la OMS, fue destinado a investigar alternativas terapéuticas o el desarrollo de vacunas? Ébola emerge en un contexto de destrucción del África negra, donde el único negocio para Occidente fue la venta de armas, o el despojo de los recursos naturales. En este sentido, se inscriben los genocidios tribales azuzados por los países centrales, el descontrol de la malaria y ahora el Ébola. Probablemente,

en pocos meses el brote comience a autolimitarse, y en forma paralela veamos decrecer el interés “científico” por la enfermedad, algo que ya ocurrió con el SARS (síndrome agudo respiratorio severo) debido a coronavirus, y sea reemplazado por alguna “novedad sanitaria”, entre ellas otro filovirus, el Marburg. Es cierto que la capacidad operativa y resolutive de los organismos internacionales es paupérrima, como lo demuestran la no resolución por parte de la ONU, de conflictos ancestrales, de grandes hambrunas en poblaciones desarraigadas, de altas tasas de mortalidad infantil en vastas regiones del mundo o la situación marginal de las mismas poblaciones; pero es de esperar al menos, que justifiquen su enorme gasto burocrático, en acciones definidas que hagan variar la razón costo/beneficio.

El brote actual de Ébola, fue mitigado en cuanto al sufrimiento humano, no por un organismo internacional (OMS) sino por una ONG como Médicos sin Fronteras. Las cifras son elocuentes: un plantel de trecientos agentes de salud propios, de los cuales sólo tres han padecido la enfermedad en África, en una situación sanitaria que ellos mismos definen como “desbordada” y donde llevan asistidos a miles de enfermos. Contrasta con la aparición de casos en Europa y Estados Unidos, donde se asistieron pocos pacientes, en situación ideal de atención médica, lo cual indica que las medidas de contención programadas desde el escritorio, no son efectivas. Esta es otra enseñanza de la actual crisis sanitaria.

Es también probable, que muchos habitantes de la Argentina, y por desgracia profesionales de la salud, conozcan alguna faceta del Ébola, pero no sepan qué es el virus Junín y en el mejor de los casos tengan una referencia lejana de la fiebre hemorrágica Argentina.

Entre 1958 y 1965 se produjeron picos de 3500 casos anuales de fiebre hemorrágica argentina (FHA), con una letalidad del 30%. Afectaba trabajadores jóvenes, de la zona rural, conocida como “Pampa húmeda” o “Pampa gringa”. El área afectada en 1958 era de 16.000 Km<sup>2</sup> y para 1976 superaba los 100.000 Km<sup>2</sup>. Tuvo una morbilidad promedio constante de 300 casos anuales durante 15 años (1965-1979) y de 4416 casos notificados, fueron confirmados por laboratorio el 70% (3052). La letalidad disminuyó del 16% al 1% cuando fue utilizado el plasma hiperinmune o de convaleciente (uno de los primeros trabajos de evaluación incluyó 188 casos con un diseño caso-control, cuya significación estadística fue p: 0.001). Cuando vemos los grandes hitos científicos que encerró esta enfermedad en la Argentina, no deja de sorprendernos y admirarnos, pasados ya 70 años de historia, los logros alcan-

zados: En 1955, el Dr. Arribáizaga, un médico que transitaba una medicina urbana y rural, en Bragado, provincia de Buenos Aires, caracterizaba una nueva entidad clínica, a que denominó en la histórica publicación de *El día Médico*: "Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: hipertérmica, nefrotóxica, leucopénica y exantemática". Pasaron poco menos de tres años y en 1958, Armando Parodi y col. (Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina, UBA) publicaban en la misma revista: "Sobre la etiología del brote epidémico de Junín", hallazgo microbiológico al que en forma concomitante llegaría el grupo de Ignacio Pirovsky, del Instituto Nacional de Microbiología, luego Malbrán. También sucedió un hecho político, que no quedó en meras reuniones ministeriales, y fue la decisión política primero de Arturo Frondizi (1958/62), creando la Comisión Nacional *ad hoc* y luego Arturo Umberto Illia con la Comisión Coordinadora para el Estudio y Lucha contra la Fiebre Hemorrágica Argentina. Entre 1959 y 1961, Parodi ensayó una vacuna que llamó XJ Clon 3, con la que vacunó a 636 voluntarios. Cuestionada porque no se la consideraba segura, en 1971, se suspendió su producción. Sin embargo, a fines del verano de 1974, Pergamino padeció un grave brote epidémico y la población insistió con la utilización de la desechada vacuna XJ Clon 3. En 1958 Humberto Ruggiero y col. del Hospital FJ Muñiz, utilizaron plasma de convaleciente (publicado en 1972), Mercedes Weissenbacher en 1968 y J Maiztegui en 1972. Pirovsky también había utilizado una vacuna –con virus muertos– que aplicó a 15.000 habitantes rurales, pero su proyecto se tronchó con la intervención militar al Instituto "Malbrán". En 1978 Julio Maiztegui propuso la creación del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas (INEVH), y en 1984 Julio Barrera Oro desarrolló Cándid I, vacuna actualmente producida en la Argentina por el INEVH, que ha logrado controlar la enfermedad. En escasos años, con la tecnología y conocimientos de ese momento, se individualizó la enfermedad, se encontró su agente etiológico, se desarrolló una vacuna eficaz, y se implementó el uso de plasma de convaleciente, con lo cual se redujo la letalidad de la enfermedad. En esas décadas, la Argentina tuvo un formidable desarrollo científico y tecnológico, y lo acontecido en la FHA es

uno de los espejos de ese desarrollo. Parodiando una conocida película que mostraba un brote de Ébola, podríamos concluir que en Argentina no necesitamos tirar una bomba sobre una ciudad de la pampa húmeda para resolver el problema.

El manejo de la información suele no ser el mejor, y este es uno de los ejemplos. En situaciones de catástrofe sanitaria, las noticias producen más pánico en la población que conocimiento para la prevención. Y en muchos casos se desconoce la propia historia. Con grandes titulares, en las cuales aparecieron profesionales, se informó que este brote de Ébola tenía una letalidad del 90%, lo cual equivale a instalar que indefectiblemente el enfermo muere. La realidad es que, la letalidad promedio de todos los brotes, incluyendo el actual, oscila en el 50%. Letalidad además que aparece en una población devastada por otras enfermedades, la guerra y el hambre, muy distinto a la letalidad de la FHA en jóvenes hijos de gringos, con una alimentación proteica única y sin grandes endemias.

La mayoría de los virus emergentes, preocupantes para la salud pública, provienen de regiones silvestres, boscosas o selváticas, con una rica diversidad en especies vegetales y animales. Tanto Ébola, Marburg, Chikungunya, Sabiá –arenavirus que produjo sólo un caso mortal en el estado de San Pablo, en Brasil, del cual desconocemos su ecoepidemiología, transmisión, etc.–, son algunos ejemplos de la inevitable relación del hombre con distintos ecosistemas. El avance de la frontera agrícola, parece ser imprescindible para el actual desarrollo y la progresión demográfica de la especie humana y condiciona la emergencia de enfermedades.

El rol de los organismos internacionales debería ser preocuparse cuando el problema emerge en las poblaciones más vulnerables (sentido de la solidaridad), y los sistemas de salud estar preparados para la emergencia. Esto no supone la adquisición de equipamientos costosos, ya que en la mayoría de los casos la adecuación de las normas universales de bioseguridad, podría actuar de contención. Por desgracia, las tan mentadas normas no se cumplen en la práctica diaria, donde el lavado de manos sigue siendo una utopía, pero ahora dentro de salas presurizadas.

## Hallazgo de brucelosis en perros del Municipio de Nogoyá, provincia de Entre Ríos

Juan Carlos Zárate<sup>1</sup>, Alejandro López<sup>1</sup>, Deborah B. Hasan<sup>2</sup>, Celina A. Celestino<sup>2</sup>, Nidia E. Lucero<sup>2</sup>

### Resumen

La infección causada por *B. canis*, origina alteraciones reproductivas en perros de ambos sexos, abortos en el último tercio de la gestación en las hembras y espermatoogénesis, dermatitis escrotal, prostatitis y epididimitis en los machos. El contagio puede ser por contacto con flujos vaginales, semen, orina o fetos abortados de animales contaminados. En Argentina, la situación de la enfermedad en perros se conoce solo por investigaciones regionales. En los últimos años se ha observado un aumento en el número de animales que se acercan a las inmediaciones de las urbanizaciones en procura de alimentos. En la literatura a nuestro alcance no hemos encontrado información sobre la presencia de esta enfermedad en Nogoyá, Entre Ríos y el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio clínico, serológico y bacteriológico en 100 perros seleccionados en 11 áreas del Municipio. Se encontraron 9 perros positivos a alguna prueba de tamizaje, 2 fueron confirmados por el ensayo de seroaglutinación en tubo (SAT) y de los 7 positivos a la prueba de microaglutinación rápida (RSAT), 5 fueron confirmados por IELISA. De 2 hembras mestizas procedentes del área sur de la ciudad se aislaron cepas de *B. canis*. Reiteramos la importancia de vigilar la proliferación de perros vagabundos, desarrollar programas de educación sobre las enfermedades zoonóticas regionales e incluir el diagnóstico de brucelosis en perros teniendo en cuenta que los casos sospechosos de brucelosis humana se definen en base a la clínica y al vínculo epidemiológico con animales infectados.

**Palabras clave:** Brucelosis canina, *Brucella canis*, brucelosis en perros.

### Finding of brucellosis in dogs from Nogoyá Municipality, Entre Rios province

*Brucella canis* infection causes reproductive disorders in dogs of both sexes, abortions in the third period of gestation in females and spermatogenesis, scrotal dermatitis, prostatitis and epididymitis in males. Transmission can be through contact with vaginal fluids, semen, urine or aborted fetuses of infected animals. In Argentina, the situation of the disease in dogs is known only by regional research. In recent years there has been an increase in the number of stray dogs that are close to the urban areas in search of food. In the literature available to us we could not find information about the presence of this disease in Nogoyá, Entre Rios province and the aim of this study was to perform a clinical, serological and bacteriological study in 100 dogs from 11 selected areas from this city. Nine positive dogs were found at any screening test, 2 were confirmed by serum agglutination test (SAT) and from 7 positive to rapid agglutination test (RSAT), 5 were confirmed by IELISA. From 2 crossbred females from the southern area of the city *B. canis* strains were isolated. It is important to monitor the proliferation of stray dogs and develop education programs on zoonotic diseases as well as include the diagnosis of brucellosis in dogs given that suspected cases of human brucellosis are defined based on the link to infected animals.

**Key words:** Canine brucellosis, *Brucella canis*, brucellosis in dogs.

### Introducción

Brucelosis es una infección causada por el género *Brucella*, cuyas especies fueron históricamente diferenciadas teniendo en cuenta sus caracteres fenotípicos y su afinidad con el hospedero. Las 6 especies terrestres consideradas clásicas son: *B. melitensis* (cabras y ovejas); *B. suis* (cerdos, renos y roedores); *B. abortus* (bovinos); *B. ovis* (ovejas); *B. neotomae* (ratas) y *B. canis* (caninos). En la última década se han reconocido nuevas especies aisladas

de animales terrestres y marítimos como: *B. pinnipedialis* (focas); *B. ceti* (ballenas y delfines); *B. microti* (roedor) y otras como *B. inopinata* (implante mamario humano) y BO<sub>2</sub> (paciente con neumonía crónica) que no han sido ligadas a ningún hospedero animal hasta la fecha<sup>1</sup>.

La mayoría de los casos de infección en humanos que se informan en el mundo son causados por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis* aunque esta última ha sido definida por algunos au-

1. Departamento de Zoonosis, Municipalidad de Nogoyá, Entre Ríos.

2. Servicio de Brucelosis, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI-ANLIS)

Dr. Carlos G. Malbrán, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

nlucero@anlis.gov.ar

Enviado: 9-05-14

Aprobado: 20-10-14

tores como de escasa ocurrencia<sup>2</sup>. Sin embargo, en Argentina se han registrado 11 aislamientos en el período 1994-2012<sup>3</sup> de pacientes procedentes de las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, La Pampa, Rio Negro, Santa Fe y Tierra del Fuego (INEI-ANLIS, 2013).

La infección causada por *B. canis*, origina alteraciones reproductivas en perros de ambos sexos pudiendo presentar además discoespondilitis, linfadenopatía, esplenitis y uveitis anterior. En las hembras se han observado fallas en la concepción, muerte embrionaria precoz, abortos en el último tercio de la gestación o el nacimiento de cachorros débiles que mueren a los pocos días de vida.

En los machos los signos frecuentes son: alteración de la espermatogénesis, dermatitis escrotal, prostatitis y epididimitis aunque en los casos crónicos suele haber atrofia testicular. El contagio puede ser directo por el contacto con flujos vaginales, semen, orina o fetos abortados de animales contaminados o a través del medio ambiente contaminado o por vía transplacentaria<sup>4,5</sup>.

En Argentina, la situación de la enfermedad en perros se conoce parcialmente a través de investigaciones realizadas en diferentes zonas del país. Un estudio sobre 219 perros con hábitos de vagabundeo en la Ciudad de Buenos Aires encontró que 7.3% eran positivos a pruebas serológicas y en 3 perros se aisló *B. canis*<sup>6</sup>, un trabajo posterior en 224 animales de Lomas de Zamora, provincia de Buenos Aires detectó 10.7% de positivos a pruebas serológicas y hubo 2 aislamientos de *B. canis*<sup>7</sup>. Reynes y col en 2012<sup>8</sup> estudiaron 41 perros en 3 de Febrero, provincia de Buenos Aires de los cuales 9 fueron positivos a la serología.

En los últimos años se ha observado un aumento en el número de perros que se acercan a las inmediaciones de las urbanizaciones en procura de alimentos enfrentando a la comunidad con el desafío de nuevas enfermedades.

En el servicio de Brucelosis INEI-ANLIS durante el período 1996-2012 se han estudiado 317 cepas de *B. canis* aisladas de perros de ambos sexos, algunos de raza, otros mestizos procedentes de Buenos Aires, Córdoba, San Juan, San Luis y Tierra del Fuego, con hábitos domiciliarios, peri-domiciliarios y de vagabundeo (INEI-ANLIS, 2012).

Debido a que en el Municipio de Nogoyá, provincia de Entre Ríos, no hay información sobre la presencia de esta enfermedad, el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio clínico, serológico y bacteriológico en perros seleccionados en 11 áreas del Municipio.

## Materiales y Métodos

**Población estudiada:** Se tomaron muestras de 100 animales, seleccionados en 11 zonas de los cuatro puntos cardinales del Municipio de Nogoyá:

Ciudad (12), Ciudad Centro (7), Ciudad Este (14), Ciudad Periferia Sur (8), Ciudad Periferia Este (5), Barrio Colminac (3), Barrio Chañar (22), Barrio 14 viviendas (9), Ejido Sur Hica SA (7), Villa Ghiano (5), Volcadero (8).

**Perros:** Se seleccionaron animales con dueños que otorgaron su consentimiento para la toma de la muestra y animales vagabundos. En todos los casos se siguieron los lineamientos de la guía internacional de principios para la investigación biomédica que involucra el uso de animales<sup>9</sup>.

**Muestras:** Se tomaron 5 ml de sangre de la vena yugular externa y/o cefálica ante braquial, se separó el suero y se conservó congelado a -20 °C hasta el momento de su utilización en pruebas serológicas.

## Pruebas serológicas

Para detectar anticuerpos anti especies lisas (S) de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*) se realizó la prueba de aglutinación con antígeno tamponado (BPAT) descrita por Angus y Barton, 1983<sup>10</sup>. A los sueros positivos a esta técnica se les realizó Rosa de Bengala (RB), sero aglutinación en tubo (SAT) y 2-mercaptoetanol (2ME), con antígenos preparados en el INEI-ANLIS con la cepa *B. abortus* 1119-3.

Para detectar anticuerpos anti especies rugosas (R) de *Brucella* (*B. canis* y *B. ovis*) se efectuó como técnica de tamizaje la aglutinación rápida en portaobjeto (RSAT)<sup>11</sup>, con antígeno preparado en el servicio de Brucelosis-INEI-ANLIS, utilizando la cepa *B. canis* M.

Como ensayo confirmatorio se hizo una ELISA indirecta (IELISA), cuyo antígeno se obtuvo de la cepa *B. canis* M- en el servicio de Brucelosis-INEI-ANLIS. Se diluyó 1: 2.000 en buffer de carbonato de sodio 0.06 M pH 9.6 y se pegó en placas NUNC 2-69620, colocando 50 µl en cada hoyo. Como conjugado se usó una proteína liofilizada A/G-HRSP (*ImmunoPure*, *Pierce Lab*) y el último paso fue la adición de sustrato cromógeno ABTS en buffer de citrato 0.05M pH 4.5. Las placas se agitaron en un agitador orbital y la lectura se efectuó en un fotómetro (*Labsystems Multiskan EX*), a 414 nm. La prueba se consideró positiva cuando desarrolló color y el porcentaje de positividad (% P) fue mayor a 29 en perros y a 27 en humanos<sup>12,13</sup>.

**Estudios bacteriológicos:** A los animales positivos al RSAT o BPAT se le tomaron 5 ml de sangre y se inocularon frascos de hemocultivo, preparados en el servicio de Brucelosis-INEI-ANLIS. Los frascos se incu-

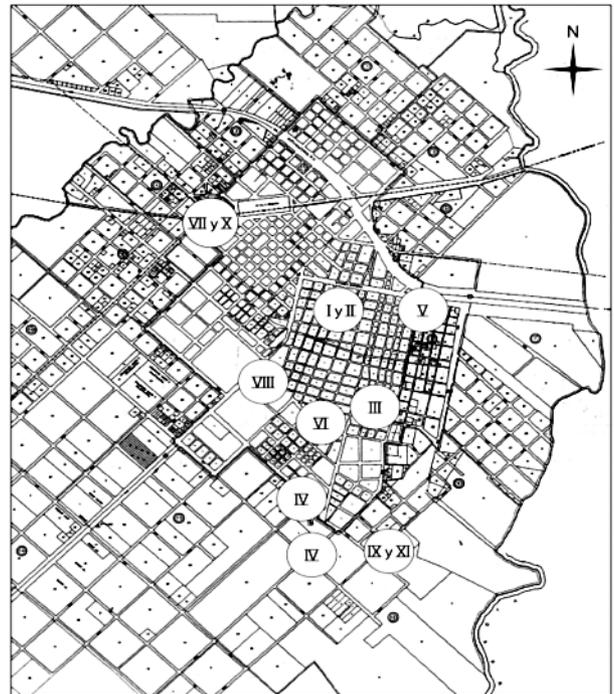
baron 30 días a 37 °C, en atmósfera adicionada con 10% de CO<sub>2</sub> y semanalmente se efectuaron pases a medios sólidos de *Agar Brucella* BB™. Las colonias aisladas fueron identificadas y tipificadas en el servicio de Brucelosis-INEI-ANLIS de acuerdo a procedimientos estándares<sup>14-15</sup>.

**Datos epidemiológicos:** Se elaboró una ficha en la que se solicitaron los siguientes datos: identificación del animal, datos del propietario, raza, sexo, hábitos (domiciliario: animales que viven dentro del hogar; peri-domiciliario: animales que entran y salen del domicilio sin restricciones; vagabundos: animales que viven en la vía pública y que ocasionalmente son alimentados por algún vecino), información clínica al momento de la muestra, antecedentes de abortos, orquitis, orqui-epididimitis, tiempo de convivencia en el entorno humano.

**Propietarios:** A las personas convivientes con los perros positivos a alguna prueba de tamizaje o confirmatoria se les propuso realizar un diagnóstico serológico de brucelosis.

**Resultados:** La figura 1, indica las once zonas del Municipio de Nogoyá donde se tomaron las muestras que incluyeron 48 hembras y 52 machos. Dos hembras y 4 machos tenían hábitos domiciliarios, 46 hembras y 46 machos peridomiciliarios y 2 machos eran vagabundos (Tabla 1). La edad de ambos sexos estuvo en el rango 8 meses a 18 años y al examen clínico en el momento de la toma de la muestra se observó epididimitis solo en un caso, correspondien-

**Figura 1.** Ubicación de las once zonas donde se tomaron las 100 muestras



I (Ciudad), II (Ciudad Centro), III (Ciudad Este), IV (Ciudad Periferia Sur), V (Ciudad Periferia Este), VI (Barrio Colminac), VII (Barrio Chañar), VIII (Barrio Viviendas), IX (Ejido Sur, Hica SA), X (Villa Ghiano), XI (Volcadero).

**Tabla 1.** Distribución de los 100 perros estudiados según área de residencia, sexo, hábitos y raza

Zona	n	Hembras	Hábitos D/P/V	Raza	Machos	Hábitos D/P/V	Raza
Ciudad (I)	12	9	P	6 GA; 3 Mz	3	P	1 GA; 2 Mz
Ciudad Centro (II)	7	2	P	2 AST; 1 Mz	5	4P 1V	1 AST, 1 GSH, 3 Mz
Ciudad Este (III)	14	6	P	6 GA	8	P	6 GA, 2 Mz
Ciudad Periferia Sur (IV)	8	3	P	2 GA, 1 Mz	5	P	1 GA, 4 Mz
Ciudad Periferia Este (V)	5	4	P	4 Mz	1	P	1 Mz
Barrio Colminac (VI)	3	3	D	3 Mz	0	0	0
Barrio Chañar (VII)	22	10	P	7 GA, 3Mz	12	P	7 GA, 5 Mz
Barrio Viviendas (VIII)	9	3	P	1 CA, 2 Mz	6	5P 1V	1 CA, 5 Mz
Ejido Sur Hica SA (IX)	7	4	P	4 Mz	3	P	3 Mz
Villa Ghiano (X)	5	1	D	1 GA	4	D	1 BO, 1 GA, 2 Mz
Volcadero (XI)	8	3	P	3 Mz	5	P	5 Mz
Total	100	48	2/46/0	22 GA, 1 CA, 1 AST, 24 Mz	52	4/46/2	16 GA, 1 CA, 1 BO, 1AST, 1 GSH, 32 Mz

D: domiciliario; P: peridomiciliario; V: vagabundo; Mz: mestizo;  
 AST: American Staffordshire; GSH: German Shepherd;  
 GA: Galgo; CA: Caniche; BO: Boxer.

te a un galgo de 12 años de hábitos peridomiciliario procedente del lado Este de la Ciudad (Tabla 2). Se observó que 14 perras estaban castradas, 1 tenía antecedentes de abortos y 1 tenía dificultades en la preñez mientras que 2 machos eran monórquidos y solo 3 estaban castrados (Tabla 2).

De los 9 perros que se encontraron positivos a alguna prueba de tamizaje, dos fueron confirmados por el ensayo SAT, una hembra mestiza, castrada de 3 años con hábitos peridomiciliario procedente de la zona Ejido Sur Hica SA y 1 macho mestizo de 6 años peridomiciliario de Ciudad Este (Tabla 3).

De los 7 perros positivos al RSAT, 5 fueron confirmados por IELISA y de 2 hembras se aislaron cepas de *Brucella canis* (Tabla 3).

### Discusión

Nogoyá es uno de los 17 Departamentos en los que está dividida la provincia de Entre Ríos. Tiene una superficie de 4282 Km<sup>2</sup> y una población de 39026 habitantes de acuerdo al censo del 2010 (INDEC). El Departamento comprende 4 Municipios: Nogoyá, Aranguren, Hernández y Lucas González. El Municipio de Nogoyá, con una población de 22

**Tabla 2.** Distribución de los 100 perros estudiados según edad e informe clínico al momento de la entrevista

Zona	n	Hembras	Edad	Informe clínico	Antecedentes	Machos	Edad	Informe clínico	Antecedentes
I	12	9	8m-6a	Asin	1 castrada, 1 difícil preñez	3	3-5a	Asin	1 monórquido, 1 castrado
II	7	2	2-9a	Asin	Sin antecedentes	5	1-14a	Asin	2 castrados
III	14	6	2-7a	Asin	Sin antecedentes	8	1-12a	1 epididimitis	Sin antecedentes
IV	8	3	2-9a	Asin	1 castrada	5	10m-8a	Asin	Sin antecedentes
V	5	4	2-5a	Asin	4 castradas	1	6a	Asin	1 monórquido
VI	3	3	8-12a	Asin	3 castradas	0	0		
VII	22	10	11m-18a	Asin	2 castradas	12	1-18a	Asin	Sin antecedentes
VIII	9	3	2-4a	Asin	1 castrada	6	1-11a	Asin	Sin antecedentes
IX	7	4	1-7a	Asin	1 castrada, 1 c/abortos	3	3-10a	Asin	Sin antecedentes
X	5	1	3	Asin	Sin antecedentes	4	4-11a	Asin	Sin antecedentes
XI	8	3	1-10a	Asin	1 castrada	5	2-7a	Asin	Sin antecedentes
Total	100	48	8m-18a	48 Asint	14 castradas, 1 c/abortos, 1 difícil preñez	52	10m-18a	1 epididimitis 51 Asint	2 monórquidos, 3 castrados

M: meses; a: años; Asin: asintomáticos.

**Tabla 3.** Datos clínicos, epidemiológicos y bacteriológicos de los 9 perros positivos a alguna prueba serológica

Perro	Sexo	Raza	Edad	Zona	BPA	SAT	2ME	RSAT	IELISA %P	Clínica	Hemo	Cepa aislada
1	M	Mz	10a	IX	Neg			Pos	88	Asin	Neg	
2	H	Mz	3a	IX	Pos	50	ss			Castrada	Neg	
3	H	Mz	3a	IX	Neg			Pos	100	2 abortos	Pos	<i>B. canis</i>
4	M	Mz	3a	IX	Neg			Pos	100	Asin	Neg	
5	H	Mz	1a	IX	Neg			Pos	100	Asin	Pos	<i>B. canis</i>
6	M	Mz	6a	III	Pos	50	50+/-			Asin	Neg	
7	M	Mz	2a	XI	Neg			Pos	100	Asin	Neg	
8	M	Mz	5a	VIII	Neg			Pos	12	Asin	Neg	
9	H	Mz	3a	VIII	Neg			Pos	6	Castrada	Neg	

Mz: mestizo; Asin: asintomático; M: macho; H: hembra; a: años; BPA: aglutinación con antígeno tamponado; SAT: seroaglutinación en tubo; 2-ME: 2-mercaptoetanol; RSAT: microaglutinación rápida en portaobjeto; IELISA: ELISA indirecta positivo %P> 29.

285 habitantes, se caracteriza por tener una comunidad íntimamente relacionada con la producción agrícola-ganadera.

Se desconoce el número total de la población canina en el municipio pero los perros callejeros abundan y son una preocupación para las autoridades. En abril de 2013 la Ordenanza 992 del Concejo Deliberante de la Municipalidad<sup>16</sup> declaró de interés el Programa Nacional de Tenencia Responsable y Sanidad de Perros y Gatos y adhirió al Decreto 1088/11 que creó el Programa mencionado (Municipalidad de Nogoyá). La Protectora de Animales "Los Amigos" trabaja como una ONG desde hace 5 años tratando de reducir la reproducción indiscriminada de animales y el Departamento de Zoonosis, desde 2004 desarrolla en forma sistemática proyectos de educación sobre tenencia responsable, a través de diferentes medios de comunicación.

En la muestra estudiada llama la atención que 38 (38%) de los perros eran Galgos, 2 Caniches, 1 Boxer, 2 American Staffordshire, 1 German Shepherd y 56 mestizos. De los 38 Galgos 33 eran de hábitos peridomiciliarios y 5 domiciliarios, la alta proporción de Galgos podría explicarse porque en la Ciudad de Nogoyá estuvieron autorizadas durante varios años las carreras de Galgos<sup>17</sup> en el canódromo Municipal.

De los 9 perros positivos a las pruebas serológicas 2 (1 de la zona IX y otro de la zona III ambos mestizos y con hábitos peridomiciliarios), presentaron anticuerpos anti-S-*Brucella*, probablemente porque han estado próximos a animales de la zona rural. De los 7 (7%) perros positivos al RSAT, 5 (5%) fueron confirmados por IELISA, tal vez los 2 positivos solo al RSAT se encontraban en la etapa inicial de la infección o tal vez se trató de una reacción cruzada con algún otro germen Gram negativo. Ninguna de estas hipótesis se pudo comprobar porque no se tomó una segunda muestra.

De 2 perras de 1 y 3 años, mestizas, asintomáticas, una con antecedentes de abortos, ambas con hábitos peridomiciliarios procedentes del Ejido Sur Hica SA que resultaron positivas al RSAT e IELISA se aisló *B. canis*.

A los propietarios de los 9 perros con anticuerpos anti S y R-*Brucella* se los invitó a realizar un diagnóstico serológico y bacteriológico de brucelosis, concurren 4/9 y resultaron negativos. Los exámenes se repitieron 7 meses después con igual resultado.

A pesar de las limitaciones de este trabajo por el número pequeño de animales estudiados, las cepas aisladas de 2 perras llaman la atención sobre la necesidad de controlar esta enfermedad que constituye un riesgo para la salud humana. La transmisión al hombre puede ser por contacto con el semen, orina,

descargas vaginales, placenta y/o fetos abortados de animales infectados, cuya apariencia es muchas veces saludable. Zanini y col. 2013<sup>18</sup> realizaron una encuesta en 70 municipios del país para conocer las actividades de manejo canino y encontraron que el 75% tenía poco controlada la población canina.

La primera indicación ante un perro con diagnóstico de brucelosis es la esterilización quirúrgica para controlar las principales vías de eliminación de la bacteria. En machos se practica la orquidectomía y en hembras se aconseja la ovario-histerectomía por sobre la ovariectomía para evitar el riesgo que el animal presente síndrome de ovario remanente y la posibilidad de que siga diseminando la infección<sup>19</sup>.

Concluimos reiterando la importancia de vigilar la proliferación de perros vagabundos, desarrollar programas de educación sobre las enfermedades zoonóticas e incluir el diagnóstico de brucelosis canina en los perros de criaderos.

## Bibliografía

1. Ficht T. *Brucella* taxonomy and evolution. *Future Microbiol* 2010; 5(6),859-866.
2. Al Dahouk S, Sprague LD, Neubauer H. New developments in the diagnostic procedures for zoonotic brucellosis in humans. *Rev sci tech Off int Epiz* 2013;32(1): 177-188
3. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *CIMID* 2013;36(1):55-61
4. Carmichael LE, Shin SJ. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 1996;11:161-5.
5. Hollet RB. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology* 2006; 66: 575-7.
6. Boeri E, Escobar GI, Ayala SM, Sosa-Estani S, Lucero NE. Brucelosis canina en perros de la Ciudad de Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 2008;68:291-297.
7. Lopez G, Ayala SM, Efron AM, Gomez CF, Lucero NE. A serological and bacteriological survey of dogs to detect *Brucella* infection in Lomas de Zamora, Buenos Aires province. *RAM* 2009;41:97:101.
8. Reynes E, López G, Ayala SM, Hunter GC, Lucero NE. Monitoring infected dogs after a canine brucellosis outbreak. *CIMID* 2012 35(6):533-7.
9. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS). International guiding principles for biomedical research involving animals, 1984. [http://www.cioms.ch/frame\\_1985\\_texts\\_of\\_guidelines.htm](http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm).
10. Angus RD, Barton CE. The production and evaluation of a buffered plate antigen for use in a presumptive test for brucellosis. 3rd. International Symposium on Brucellosis, Algiers, Algeria, 1983. *Dev Biol Stand* 1984; 56: 349-56.
11. Carmichael LL, Joubert JC. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. *Cornell Vet*. 1987; 77: 3-12. 15.

12. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, López G. Sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunoassay for the diagnosis of *Brucella canis* infection in dogs. *J Med Microbiol.* 2002; 51: 656-60.
13. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob NR. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol.* 2005; 54: 457-61.
14. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the brucellosis Laboratory. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988.
15. Corbel MJ, Brinley Morgan WJ. Genus *Brucella*, Meyer and Shaw 1920, 173 AL. In: Krieg NR, Holt JG (eds.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. Baltimore, Md: The Williams & Wilkins Co. 1984; p 377-88.
16. Municipalidad de Nogoyá, Entre Ríos. Ordenanza 992. <http://www.Nogoyá.gov.ar/print.php?id=1485> 11-04-2013.
17. Municipalidad de Nogoyá, Entre Ríos. Ordenanza 764/06. Decreto de Promulgación N° 552 – 31/08/2 006
18. Zanini F, Leiva D, Fernández R, Bergagna H, Elisondo MC. Manejo de las poblaciones caninas urbanas en Argentina. *RAZyEIE* 2013; 8(2):20-25.
19. Enfermedades infecciosas: Brucelosis. Guía para el equipo de salud N° 12. 2013. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
20. Ramacciotti F. Primer aislamiento de *B. canis* en humano por hemocultivo efectuado en la República Argentina. *Rev Med Vet (Bs. As.)* 1980; 61:49-54.

*Interior de una ambulancia en las primeras décadas del siglo XX.*



## Efecto de la asociación de un inhibidor de bombas de eflujo en la cinética de muerte bacteriana de *Escherichia coli*

Laura Marchetti<sup>1</sup>, Valeria Vedovato<sup>1</sup>, Andrea Buchamer<sup>1</sup>, Juan Chiarizia<sup>1</sup>, Yanina Cabril<sup>1</sup>, Nora Mestorino<sup>1</sup>

**Resumen:** La sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gramnegativas tiene un rol determinante en la virulencia bacteriana y en la expresión de fenotipos multirresistentes a los antibacterianos. El objetivo central de nuestro trabajo fue evaluar el efecto del inhibidor de bombas 1-(1-naphthylmethylpiperazine) o NMP en asociación con florfenicol (FLF), tetraciclina (TET) y ciprofloxacina (CIP) frente a *Escherichia coli* con fenotipo multirresistente. Se realizaron curvas de muerte bacteriana de cepas isogénicas, AG112 y AG100, frente a FLF, TET y CIP, con y sin NMP por la técnica de macrodilución. Con los datos obtenidos se realizó el análisis estadístico correspondiente. Se comprobó que es posible disminuir la concentración de los antimicrobianos –FLF, TET, CIP– con la incorporación de NMP, sin modificar de manera importante la “cinética de muerte bacteriana”. Resulta prometedor el efecto de la combinación de un fármaco inhibidor de bombas de eflujo como coadyuvante de aquellos antimicrobianos sustratos de las bombas de eflujo sobreexpresadas como mecanismo inespecífico de resistencia bacteriana.

**Palabras claves:** multirresistencia, bombas de eflujo, *Escherichia coli*, virulencia.

### Effect of the combination of an efflux pump inhibitor in the kinetics of bacterial killing of *Escherichia coli*

**Abstract:** Efflux pumps overexpression in gramnegative bacteria have an important role in bacterial virulence and in the expression of antibacterial multi-resistant phenotypes. The main objective of our study was to evaluate the effect of the efflux pump inhibitor 1-(1-naphthylmethylpiperazine) or NMP in association with florfenicol (FLF), tetracycline (TET) and ciprofloxacin (CIP) against *Escherichia coli* strains with multidrug-resistant phenotype. Bacterial killing curves of isogenic strains, AG112 and AG100, were made against FLF, TET and CIP, with and without NMP by macrodilution test. Data obtain were statistically analyzed. It was found that it is possible to decrease the antimicrobial concentration –FLF, TET, CIP– without changing significantly the “bacterial killing kinetic,” with the addition of NMP.

It is promising the effect of the combination of an efflux pump inhibitor with antimicrobials which were substrates of efflux pump overexpressed as nonspecific mechanism of bacterial resistance.

**Keywords:** multidrug resistance, efflux pumps, *Escherichia coli*, virulence.

### Introducción

La sobreexpresión de bombas de eflujo de tipo inespecífico, como las de la familia RND en bacterias gramnegativas, interviene en el bombeo de numerosas sustancias y antimicrobianos, ocasionando la creciente aparición de bacterias con fenotipo de resistencia múltiple<sup>1</sup>. Se ha demostrado además, que la sobreexpresión de este mecanismo de resistencia ubicuo, tiene un rol determinante en la virulencia bacteriana<sup>2</sup>.

Es sabido, que los microorganismos patógenos y/o zoonóticos deben ser capaces de sobrevivir a los mecanismos de defensa del hospedador para poder infectarlo exitosamente. Varias condiciones ambientales de estrés mediadas por mecanismos de regulación global son causales de la sobreexpresión de bombas tipo RND, tal como ocurre con los radi-

cales oxidativos y nitrogenados reactivos producidos durante la fagocitosis<sup>3, 4</sup>.

El diseño de nuevas estrategias terapéuticas como la inactivación de sistemas de eflujo activo por medio de fármacos inhibidores de bombas, es una posible alternativa para enfrentar la problemática. Por todo lo expuesto, el objetivo central de nuestro trabajo es evaluar el efecto del inhibidor de bombas 1-(1-naphthylmethylpiperazine) o NMP en asociación con florfenicol (FLF), tetraciclina (TET) y ciprofloxacina (CIP) frente a bacterias de la especie *Escherichia coli* con fenotipo multirresistente.

### Materiales y métodos

Se realizaron curvas de letalidad bacteriana (CLB) utilizando dos bacterias isogénicas de *E. coli* con genotipo conocido: AG112 con sobreexpresión

de bombas de eflujo tipo RND, y AG100 con fenotipo "wild type". Los antimicrobianos evaluados fueron FLF, TET, CIP a las concentraciones de la CIM, 2, 4 y 8 veces la CIM. Se emplearon tres baterías de tubos con caldo LB por cada cepa analizada<sup>5</sup>. En la primera, se determinó la CLB frente al antimicrobiano solo. En la segunda, se combinó el antibiótico con 50 µg/mL de NMP y en la tercera con 100 µg/ml del mismo. Se realizaron lecturas a las 0, 2, 4, 8, 24 y 48 hs. El límite de detección fue de 100 UFC/ml de muestra<sup>6</sup>.

La medición de la actividad antibacteriana y el análisis farmacodinámico se realizó, a través del cálculo matemático del área bajo la curva de muerte bacteriana (ABCL; Log UFC.h/ml) en relación al tiempo experimental (ABCL<sub>24h</sub> y/o ABCL<sub>48h</sub>), de cada cepa analizada, en combinación o no con NMP. El ABC se calculó a través del método trapezoidal<sup>7</sup>. Se utilizaron como controles las áreas bajo la curva de crecimiento de las cepas (ABCC; Log UFC.h/ml). Luego, se determinaron las diferencias obtenidas entre ABCCs y ABCLs con los tres antimicrobianos a todas las concentraciones mencionadas, con y sin NMP,

para establecer el área comprendida entre la curva de crecimiento control y la de muerte bacteriana de cada cepa analizada (ABBC<sub>24h</sub> y ABBC<sub>48h</sub>; Log UFC.h/ml)<sup>8, 9, 10</sup>. Posteriormente, se llevó a cabo la división entre las ABBCs obtenidas y las CIMs correspondientes, a fin de poder comparar el efecto del inhibidor de bombas en combinación con los antimicrobianos a través de un análisis estadístico.

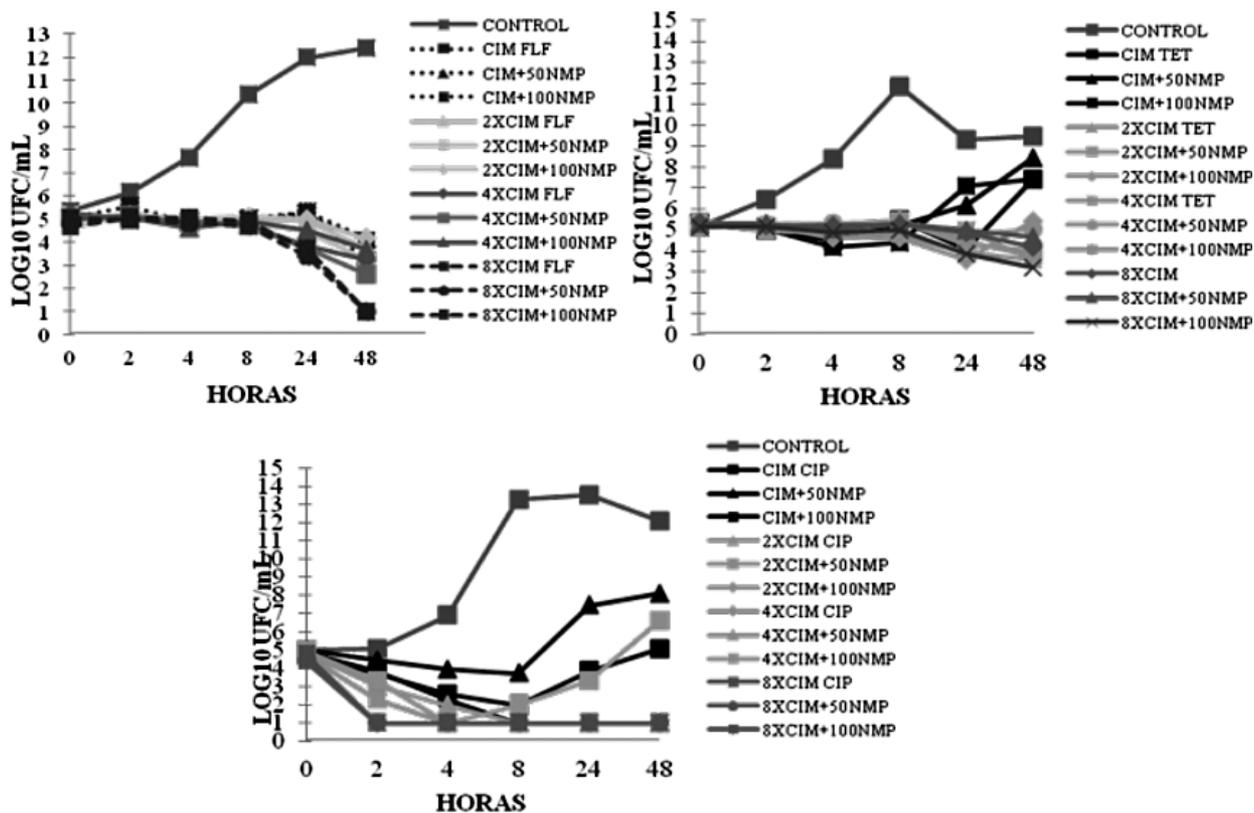
Para la realización del análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa Instat versión 3.033 (Statistical Services Centre, University of Reading UK, 2006). Se aplicó ANOVA y contraste de rango múltiple. El límite de significancia fue establecido en un valor  $\alpha \leq 0.05$ . Para cada concentración de antimicrobiano se calculó el porcentaje de eficacia.

### Resultados

Existió una "cinética de muerte" muy semejante entre las baterías de tubos para los tres antimicrobianos evaluados (Figura 1).

Se hallaron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) al evaluar el efecto de la adición de NMP sobre el parámetro farmacodinámico ABBC<sub>24h</sub>; CIM, en la cepa

**Figura 1.** Comparación del efecto del uso de NMP en la CLB de la cepa AG112 frente a: A) FLF; B) TET y C) CIP. Las concentraciones evaluadas en todos los casos fueron la CIM, 2xCIM, 4xCIM, 8xCIM



AG112. Es primordial destacar que las concentraciones antimicrobianas iniciales (CIMs) a las cuales se expuso el inóculo bacteriano en cada batería fueron diferentes (Tabla 1).

En cuanto al análisis estadístico de la eficacia total expresada como porcentaje de muerte bacteriana a las distintas concentraciones evaluadas. Al aplicar ANOVA a dichos resultados, no se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de eficacia ( $P > 0.05$ ) en las curvas con antimicrobiano solo o con NMP (50 µg/ml o 100 µg/ml).

**Discusión**

Existió efecto sinérgico, pues la incorporación de

NMP en concentraciones crecientes permitió que los antimicrobianos mantengan similar eficacia a pesar de estar presente en concentraciones claramente inferiores. Coincidiendo con el resultado de un estudio realizado por Bohnert y col. (2005), quienes lograron potenciar la acción de levofloxacina, cloranfenicol y tetraciclina al incorporar 100 µg/ml de NMP en cepas isogénicas de *E. coli* con sobreexpresión de bombas, permitiendo a través del bloqueo de las mismas la acumulación de bromuro de etidio en el interior celular<sup>11</sup>.

En base a los resultados obtenidos al evaluar el efecto de la adición de NMP sobre el parámetro farmacodinámico ABBC<sub>24</sub>: CIM, podemos afirmar que

**Tabla 1.** Parámetros farmacodinámicos CIM, ABBC:CIM y porcentaje de eficacia antimicrobiana de FLR, CIP y TET frente a la cepa AG112

CIM (µg/ml)	ATB/NMP	Concentraciones iniciales	ABBC24:CIM (UFC.h/ µg)	ABBC48:CIM (UFC.h/ µg)	%Eficacia total del ATB c/ o s/ NMP a 24 y 48h	
8x	FLR	256	4.2	11.5	54.4	68.6
	FLR+50NMP	64	17.1	47.1	55.8	70.0
	FLR+100NMP	16	65.8	183.8	53.6	68.4
4x	FLR	128	4.1	10.6	53.9	63.1
	FLR+50NMP	32	16.6	43.7	54.3	65.0
	FLR+100NMP	8	63.0	160.1	51.3	59.5
2x	FLR	64	3.8	9.7	49.8	57.8
	FLR+50NMP	16	15.7	40.7	51.2	60.5
	FLR+100NMP	4	59.6	150.9	48.6	56.1
1x	FLR	32	3.7	9.6	47.7	57.2
	FLR+50NMP	8	14.8	37.2	48.3	55.3
	FLR+100NMP	2	59.4	150.1	48.4	55.8
8x	CIP	0.5	4010.7	8538.0	88.9	90.6
	CIP+50NMP	0.25	8053.7	17123.0	89.1	90.7
	CIP+100NMP	0.125	16747.9	35611.9	89.1	90.7
4x	CIP	0.312	4008.0	8535.4	88.8	90.6
	CIP+50NMP	0.125	7949.3	17018.5	87.9	90.1
	CIP+100NMP	0.062	16522.7	35386.7	87.9	90.1
2x	CIP	0.125	3890.5	8417.8	86.2	89.3
	CIP+50NMP	0.062	6948.2	12965.3	76.9	68.7
	CIP+100NMP	0.031	16377.7	35241.7	87.1	89.7
1x	CIP	0.125	3313.5	6515.4	73.4	69.1
	CIP+50NMP	0.031	4956.9	8811.1	54.8	46.7
	CIP+100NMP	0.015	16017.0	34881.0	85.2	88.8
8x	TET	64	14.1	28.7	47.9	56.0
	TET+50NMP	16	55.7	110.2	47.2	54.3
	TET+100NMP	4	249.2	529.9	52.6	62.6
4x	TET	32	14.0	29.3	47.4	56.9
	TET+50NMP	8	56.0	109.9	47.5	54.2
	TET+100NMP	2	253.2	523.2	53.4	62.0
2x	TET	16	14.2	30.0	48.2	58.0
	TET+50NMP	4	58.4	121.2	49.5	58.4
	TET+100NMP	1	263.0	497.0	55.4	59.6
1x	TET	8	14.9	25.9	50.5	51.8
	TET+50NMP	2	53.1	78.2	45.1	42.4
	TET+100NMP	0.5	215.2	317.8	45.7	42.9

las diferencias existentes en la intensidad del efecto antibacteriano se deben al efecto del bloqueo de las bombas de eflujo frente a la cepa AG112.

Podemos concluir que el uso de NMP resulta prometedor, pues puede ser factible no solo modificar la susceptibilidad bacteriana, sino también inferir en las habilidades de la bacteria para infectar exitosamente al hospedador.

### Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Bibliografía

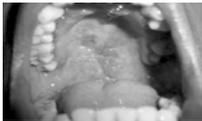
1. Nikaido H, Takatsuka Y. Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. *BBA-Proteins Proteom* 2009; 1794(5): 769-81.
2. Join-Lambert O, Michea-Hamzehpour M, Köhler T et al. Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an experimental model of *Pseudomonas aeruginosa* acute pneumonia in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 (2): 571-6.
3. Dinesh M & Ayush K. Resistance-Nodulation-Division multidrug efflux pumps in gram-negative bacteria: role in virulence. *Antibiotics* 2013; 2: 163-81.
4. Bialek-Davenet S, Marcon E, Leflon-Guibout V et al. In vitro selection of ramR and soxR mutants overexpressing efflux systems by fluoroquinolones as well as cefoxitin in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (6): 2795-2802.
5. Kern WV, Steinke P, Schumacher A, Schuster S, Baum Hv, Bohnert JA. I. Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 339-43.
6. NCCLS. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents M26-A; Approved Guideline. Wayne, Pennsylvania, USA: 1999.
7. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-third edition. CLSI document M31-A3. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
8. Prescott JF, Baggot JD, Walter RD. Terapéutica antimicrobiana en medicina veterinaria. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Intermédica, 2002.
9. Firsov A, Chernykh V, Navashin S. Quantitative analysis of antimicrobial effect kinetics in an in vitro dynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34 (7): 1312-17.
10. Firsov A, Zinner S. Use of modeling techniques to aid in antibiotic selection. *Curr Infec Dis Rep* 2001; 3 (1): 35-43.
11. Bohnert JA, Kern WV. Selected arylpiperazines are capable of reversing multidrug resistance in *Escherichia coli* overexpressing RND efflux pumps. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49 (2): 849-52.

La mayoría de los animales mantienen una interacción con el mundo basada en comportamientos instintivos, modificados hasta cierto punto por su propia experiencia, pero como subraya David Pilbean. "El hombre es un animal aprendiz por excelencia. Aprendemos mucho más, tardamos más en lograrlo, lo hacemos de una forma más compleja e incluso más eficaz (es decir culturalmente), y tenemos un tipo único de sistema de comunicación, el lenguaje vocal, para impulsar nuestro aprendizaje". El hombre llega a este mundo provisto de muy pocas respuestas instintivas: mamar, llorar, sonreír y andar quizá sean las únicas cosas que los seres humanos hagan instintivamente. Lo que una persona llega a ser, tanto en términos de comportamiento como de creencias, depende de la cultura en que ese individuo está inmerso.

Richard Leakey,  
La formación de la humanidad.  
Ediciones Orbis, Buenos Aires, Vol. II, 1981.

## Leishmaniosis tegumentaria: Retardo en el diagnóstico en una región no endémica

María L. Yantorno<sup>1</sup>, María F. Ferrer<sup>1</sup>, Yanina Nuccetelli<sup>1</sup>, Cecilia Pfoh<sup>1</sup>,  
Virginia Angeletti<sup>1</sup>, Amadeo Esposto<sup>1</sup>, Gloria de la Parra<sup>1</sup>



**Resumen:** La Leishmaniosis Tegumentaria (LT) es una enfermedad zoonótica emergente y re emergente en el mundo. En Argentina es endémica en algunas regiones tropicales y subtropicales y es aun una enfermedad desatendida. El incremento en su incidencia debido a múltiples factores hace que la LT se extienda a otras regiones, donde existen dificultades para el diagnóstico y tratamiento. El objetivo de este trabajo es describir los casos de LT evaluados en un hospital público, de un área no endémica de Argentina. Se estudiaron 8 pacientes en

un período de 11 años (2003- 2014) procedentes de áreas endémicas que habían consultado en diferentes centros de salud, con cuadros clínicos compatibles y con una mediana de 36 semanas de evolución. El diagnóstico se realizó por frotis, histopatología, cultivo y técnicas de PCR. En la mayoría de los casos se realizó tratamiento con antimoniales o anfotericina según las normas internacionales logrando la curación en un número importante de pacientes. Este trabajo pone de manifiesto la falta de sospecha clínica inicial, con el consecuente diagnóstico tardío y remarca la importancia de pensar en enfermedades regionales en áreas no endémicas para su adecuado abordaje.

**Palabras claves:** leishmaniosis tegumentaria, zoonosis, enfermedades emergentes, antimoniales.

### Tegumentary leishmaniasis: diagnostic delay in non- endemic areas

**Abstract:** Tegumentary Leishmaniasis (LT) is an emerging and re emerging zoonotic disease. It is endemic in some tropical and subtropical regions in Argentina and is even so a neglected disease. The incidence has increased due to many factors and LT is present in non endemic areas where difficulties in the diagnosis and treatment are important. The aim of this study was describing LT cases attended in a public hospital, from non endemic area from Argentina and. Eight patients were studied over a period of 11 years (2003-2014) came from endemic areas who had consulted at different hospital previously with compatible clinical forms, with a median of 36 weeks of evolution. The diagnosis was made by smear, histopathology, culture and PCR techniques. In most cases treatment was performed with antimonials or amphotericin following international guidelines achieving the cure in a significant number of patients. This study shows lack of initial clinical suspicion, delay in the disease diagnosis and treatment, and draw attention to thinking about regional diseases even though in non endemic areas.

**Key words:** tegumentary leishmaniasis, zoonoses, emerging disease, antimonials.

### Introducción

La Leishmaniosis tegumentaria (LT) es una enfermedad zoonótica emergente y re-emergente en el mundo<sup>1, 2</sup>. Es endémica en nueve provincias de Argentina, que corresponden a zonas tropicales y subtropicales como las Yungas, Chaco húmedo y Chaco seco<sup>3</sup>. Tres especies del género *Leishmania* subgénero *Viannia* han sido aisladas de pacientes con LT en nuestro país: *L (V) braziliensis*, *L (V) amazonensis* y *L (V) guyanensis*. La primera es el agente causal más frecuente y se asocia a compromiso mucoso<sup>3</sup>.

La accesibilidad a la atención médica y al tratamiento adecuado de las personas que padecen LT

constituyen problemas aún no resueltos en muchos países endémicos, a pesar los esfuerzos de la OMS (Organización Mundial de la Salud) y otras entidades, por lo cual es considerada una enfermedad desatendida<sup>4</sup>.

En los últimos años la incidencia de LT ha aumentado en diversas regiones del mundo incluyendo Argentina, debido a múltiples factores como desplazamientos masivos de poblaciones humanas, deterioro del nivel socio-económico, cambios en las condiciones climáticas, deforestación, reforestación, incremento en los viajes internacionales, entre otras. Por lo cual LT puede presentarse en áreas no endé-

1. Servicio de Infectología. Centro de Medicina del Viajero.  
Hospital Interzonal General de Agudos "Gral. San Martín". La Plata. Buenos Aires. Argentina.  
[infectohigasm@yahoo.com.ar](mailto:infectohigasm@yahoo.com.ar)

Recibido: 2-06-14  
Aprobado: 20-10-14

micas, donde existen dificultades para el diagnóstico adecuado y el tratamiento oportuno<sup>2, 3, 5</sup>.

Este trabajo describe casos atendidos en un hospital fuera del área endémica, aportando experiencia local y resalta la necesidad de pensar en esta enfermedad, aun en regiones no endémicas.

### Materiales y métodos

Se revisaron las historias clínicas de pacientes mayores de 16 años con criterios diagnósticos de LT, definidos por variables clínicas, epidemiológicas, histopatológicas y microbiológicas, que fueron atendidos en el Servicio de Infectología de un hospital público de alta complejidad en la provincia de Buenos Aires, Argentina. El estudio comprendió un período de 11 años (enero de 2003 a febrero de 2014). Se clasificó LT en leishmaniosis cutánea (LC) y muco-cutánea (LMC)<sup>1, 2</sup>. Para el diagnóstico, se realizaron técnicas de observación en frotis teñidos con coloración de Giemsa e histopatología. Se realizaron métodos de cultivo en medio bifásico de agar sangre NNN (Medio de Novy, Mc Neal, Nicolle) y se investigó la existencia del genoma de *Leishmania* spp. por técnicas de PCR (reacción de la polimerasa). Estas dos últimas técnicas se realizaron exclusivamente en el Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fata-la Chaben. La reacción de Montenegro se efectuó cuando fue posible y fue considerada positiva con > 5 mm. Se solicitaron estudios bioquímicos de hemograma, glucemia, urea, creatinina, aminotransferasas y amilasa antes, durante y luego de finalizado el tratamiento, así como electrocardiograma y evaluación cardiológica a aquellos mayores de 40 años con antecedentes cardiacos o enfermedad de Chagas. Se utilizaron tratamientos recomendados en normas internacionales disponibles en el hospital al momento del diagnóstico<sup>6, 7, 8</sup>. El seguimiento fue clínico, y con

exámenes de rinoscopia y laringoscopia a los 30 días, 3, 6 y 12 meses del tratamiento.

En LC el criterio de curación fue la epitelización total de la lesión y la desaparición de la induración del fondo de la úlcera luego de 3 meses del tratamiento. En LMC se definió curación como la regresión total de los signos clínicos luego de 6 meses del tratamiento. Se definió falla según persistencia de lesiones clínicas al tercer o sexto mes del tratamiento según corresponda a LC o LMC<sup>1, 2, 9</sup>.

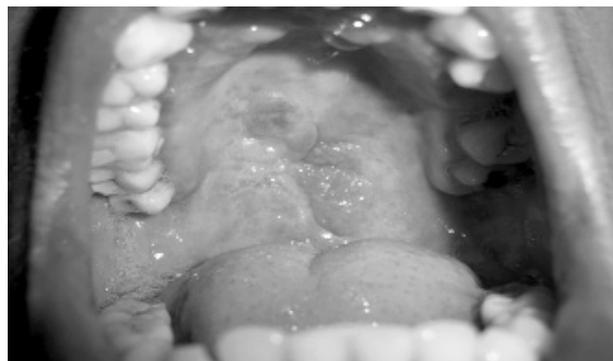
Se estudiaron las características epidemiológicas, clínicas y la respuesta al tratamiento específico. Se procesaron los datos en programa spss.19. Se utilizaron medidas centrales y de dispersión: media y mediana junto a desvío estándar y rango respectivamente para variables cuantitativas.

### Resultados

Se estudiaron 8 pacientes con LT atendidos en un período de 11 años: 3 viajeros y 5 migrantes procedentes de áreas endémicas. Las características generales se describen en la Tabla 1. La mayoría fueron hombres (87.5%). Edad promedio 40 (+ 15). El 87.5% tenían ocupaciones de riesgo para esta enfermedad: agricultores 5, biólogo 1 y geólogo 1. La totalidad de los agricultores se había dedicado, varios años antes de la consulta, al cultivo de mandioca, caña de azúcar y maíz, en zonas endémicas de: San Pedro (Paraguay), Sucre (Bolivia) y Chaco (Argentina). Los viajeros habían visitado Puerto Iguazú, Argentina (1), y Urubamba, Perú (2). Los pacientes habían consultado en diferentes centros de salud sin respuestas favorables y acudieron a nuestro hospital

**Figura 2.** Afectación infiltrativa y edematosa en paciente (N°7) con LCM con destrucción del tabique nasal y compromiso de paladar. Biopsia de piel de región malar (flecha) con infiltrado inflamatorio granulomatoso

**Figura 1.** Afectación de paladar y laringe en Leishmaniosis mucosa (paciente N°5)



refiriendo cuadros clínicos compatibles con LT con una mediana de 36 semanas (3-480) de evolución. Las formas clínicas de LT detectadas fueron: LMC 62,5% (5) y LC 37.5% (3). Las lesiones se localizaron en tabique nasal 37.5% (3), tabique nasal - paladar 25% (2), miembro superior 25% (2) y miembro inferior 12.5% (1). Las técnicas diagnósticas que se utilizaron fueron: métodos de PCR en el 50%, examen directo en el 25%, cultivo en el 12.5% e histología en el 37.5%. La reacción de Montenegro se realizó en 3 pacientes y fue positiva en su totalidad. No fue posible la tipificación de especie.

El tratamiento inicial se instauró con: antimonio de meglumina (AM) en el 50%, anfotericina B desoxicolato (ABD) 25%, anfotericina B liposomal (ABL) 12.5% y azitromicina (AZ) 12.5%. La duración media del tratamiento fue: 17 días (+7). Con respecto a la evolución de los pacientes a los 6 meses del tratamiento inicial, se observó falla en 50% (4), suspensión por toxicidad renal 25% (2), pérdida del seguimiento en 12.5% (1) y cura en 12.5% (1).

Se realizó un segundo ciclo de tratamiento en 5 pacientes: con ABD en 1, ABL en 2 pacientes y estibogluconato de sodio (EGS) en 2. La duración media del segundo tratamiento fue: 20 (+7) días. Los eventos adversos en general fueron 5: en 1 paciente colección glútea secundaria a la inyección intramuscular (AM), 2 pacientes presentaron nefrotoxicidad que obligó al retiro del fármaco (ABD) y 2 refirieron mialgias leves (AM).

La evolución global al año de finalizado el tratamiento fue: 3 (37.5%) cura, 4 (50%) pérdida de seguimiento y 1 (12.5%) falla.

## Discusión

Es importante destacar que la totalidad de los pacientes estudiados presentó el antecedente de haber desempeñado actividades laborales o de recreación en zonas endémicas de LT tanto de Argentina como de países limítrofes (Paraguay, Bolivia y Perú) y formas clínicas clásicas. Sin embargo, el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad se realizaron en forma tardía, en la mayoría de los casos, ante la falta de sospecha clínica por parte del equipo de salud.

La forma clínica prevalente fue leishmaniosis mucosa y la mayor parte de los casos fueron diagnosticados por técnicas clásicas (frotis e histopatología). Se pudo utilizar la técnica de PCR en la mitad de los casos. A pesar de ser ésta última una herramienta muy valiosa en casos de LT y haber cobrado gran importancia en los últimos años, tanto para formas cutáneas como mucosas<sup>5, 9</sup>, sólo se encuentra disponible en centros de referencia, por lo cual destacamos la importancia del diagnóstico de LT con técnicas simples.

La falta de homogeneidad en las drogas utilizadas se debió a la disponibilidad irregular de éstas por parte del sistema sanitario, al igual que ocurre en otros países de América Latina, y es parte de un importante problema de salud pública en la región<sup>10</sup>.

Se reportaron efectos adversos en poco más de la mitad de los pacientes, pero solo dos fueron graves y requirieron suspensión del fármaco (ABD). Los antimoniales utilizados causaron eventos leves como mialgias y colección glútea no infecciosa.

A pesar de las dificultades en el manejo de estos

Tabla 1.

Paciente	Sexo	Edad	Antecedente de viaje	Procedencia	Ocupación	Forma clínica	Localización de la lesión	Evolución síntomas (semanas)	Método diagnóstico	Montenegro
1	M	61	No	Chaco Argentina	Agricultor	LMC	Nasal	48	Histopatología	NR
2	F	36	No	San Pedro Paraguay	Agricultor	LMC	Nasal	96	PCR- Histopatología	NR
3	M	47	Urubamba Perú	La Plata Argentina	Geólogo	LC	Pierna	4	Frotis	NR
4	M	28	Urubamba Perú	La Plata Argentina	Biólogo	LC	Mano	3	Frotis	NR
5	M	38	No	Sucre Bolivia	Agricultor	LMC	Nasal- paladar- laringe	24	Cultivo	20 mm
6	M	31	No	San Pedro Paraguay	Agricultor	LMC	Nasal	480	PCR	20 mm
7	M	60	No	Chaco Argentina	Agricultor	LCM	Nasal- Paladar	336	PCR	15 mm
8	M	17	Misiones Argentina	La Plata Argentina	Estudiante	LC	Mano	8	PCR- Histopatología	NR

pacientes debido al retraso del diagnóstico, abandono del seguimiento médico por parte de los pacientes e irregular disponibilidad de los fármacos se logró la cura en gran parte de ellos, por lo cual, destacamos la importancia de pensar en enfermedades regionales fuera de las áreas endémicas, a fin de abordarlas adecuadamente.

### Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatała Chaben. A los servicios de Patología, Bacteriología y Otorrinolaringología Hospital Interzonal General de Agudos "Gral. San Martín" de La Plata.

### Conflicto de interés

Los autores declarar no tener conflictos de intereses.

### Bibliografía

- Goto H, Lauletta Lindoso JA. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8(4): 419–33.
- Murray H, Berman J, Davies C, Saravia N. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005; 366: 1561–77.
- Quintana M, Salomon O. Phlebotominae of epidemiological importance in cutaneous leishmaniasis in northwestern Argentina: risk maps and ecological niche models. *Med Vet Entomol*. 2013; 27: 39–48.
- Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento. Washington, D.C. EUA, 2013. Disponible en: [http://www.paho.org/lhq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=22226&Itemid](http://www.paho.org/lhq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22226&Itemid). Consultado el 8 de noviembre de 2014
- Boggild AK, Valencia BM, Veland N et al. Non-Invasive Cytology Brush PCR Diagnostic Testing in Mucosal Leishmaniasis: Superior Performance to Conventional Biopsy with Histopathology. *PLoS ONE*. 2011; 6(10).
- Solomon M, Pavlotzky F, Barzilai A, Schwartz E. Liposomal amphotericin B in comparison to sodium Stibogluconate for *Leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis in travelers. *Am Acad Dermatology*. 2012; 1:6.
- Wortmann G, Zapor M, Ressler R, et al. Liposomal Amphotericin B for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 83(5): 1028–33.
- Blum J, Buffet P, Visser L et al. LeishMan Recommendations for Treatment of Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis in Travelers. *J Travel Med* 2014; 21: 116–29.
- David C, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatologic Therapy* 2009; 22: 491–502.
- Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22 a 26 de marzo de 2010. OMS, Serie de Informes Técnicos 949. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO\\_TRS\\_949\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf). Consultado el 8 de noviembre 2014.

*Que los primeros que llamaron a esta enfermedad sagrada, fueron el tipo de gente que ahora llamamos doctores-brujos, curadores por la fe, curanderos y charlatanes.  
Este es precisamente el tipo de gente que pretende ser muy pía y particularmente sabia.  
Invocando un elemento divino eran capaces de ocultar su propia incapacidad para dar un tratamiento adecuado, y por eso llamaron a esta enfermedad "sagrada",  
para ocultar la ignorancia que ellos tenían de su naturaleza.*

Hipócrates siglo V AC. Sobre la enfermedad sagrada, conjunto de manifestaciones que hoy no son atribuibles a una dolencia en particular, pero que podrían corresponder a formas de epilepsia o accidentes cerebrovasculares. Lo importante es que niega "lo sagrado", la intervención de los dioses, y defiende causas naturales, no caprichosas, sino uniformes y universales, en la génesis de las enfermedades.

Extraído de David Lindberg,  
Los inicios de la ciencia occidental,  
Paidós, Barcelona 2002,  
529 páginas.

## Trichinellosis: Conocimientos y hábitos en poblaciones epidemiológicamente diferentes de la Provincia de Buenos Aires, y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Adriana Betti<sup>1</sup>, Natalia Cardillo<sup>1</sup>, Mariana Pasqualetti<sup>1</sup>, Fernando Fariña<sup>1</sup>, Adriana Rosa<sup>1</sup>, Mabel Ribicich<sup>1</sup>

**Resumen:** La trichinellosis es una zoonosis parasitaria, cuya prevalencia en Argentina se favorece debido a los hábitos y creencias culturales de la población. El objetivo del presente estudio fue estudiar el grado de conocimiento sobre la enfermedad en habitantes de tres zonas epidemiológicamente diferentes de la Provincia de Buenos Aires y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Se realizaron encuestas a 256 habitantes de la CABA, del Conurbano Bonaerense y de localidades del Interior de la provincia. Se registraron datos sobre el consumo de cerdo, chacinados o animales silvestres, nivel educativo, conocimientos sobre la transmisión, fuentes de infección, formas de prevención y riesgo para la salud pública. Los datos fueron analizados mediante herramientas de estadística paramétrica, considerando un nivel de significación estadística  $p \leq 0.05$ . En la CABA se registró el mayor nivel educativo, el mayor consumo de cerdo y de chacinados, y quienes refirieron mayores recaudos al momento de adquirir carne o subproductos porcinos. En las ciudades del interior de la Provincia de Buenos Aires se observó el mayor consumo de chacinados y animales silvestres; mayor conocimiento sobre la enfermedad, forma de contagio y sobre personas enfermas en el entorno, paradójicamente fueron quienes refirieron tomar menos recaudos al momento de adquirir carne de cerdo o chacinados. Dichos resultados podrían atribuirse a que la aparición de brotes humanos en esta región, están relacionados al tipo de manufactura (casera) y comercialización (sin control veterinario) de los subproductos de origen porcino. Una situación intermedia se observó en el Conurbano Bonaerense para todas las variables estudiadas. Las acciones educativas deben respetar los hábitos culturales de la población, fomentando el diagnóstico de la trichinellosis en cerdos y desalentando el consumo de carne y derivados porcinos de procedencia dudosa.

**Palabras clave:** *Trichinella* spp., educación para la salud.

### Trichinellosis: Knowledge and habits in epidemiologically different populations of the Province of Buenos Aires and Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Abstract:** Trichinellosis is a parasitic zoonosis, which prevalence in Argentina is favored due to cultural beliefs and habits of the population. The aim of this work was to study the level of awareness about the disease in residents of three epidemiologically different areas of the Province of Buenos Aires. Surveys were performed on 256 residents from Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), the Buenos Aires suburbs and cities from the interior of the Province of Buenos Aires. Data about the consumption of pork, sausages or wildlife animals, educational level, knowledge transfer, sources of infection, ways of prevention and public health risk was taken. Data were analyzed using parametric statistical tools, considering a p value  $<0.05$ . In the CABA was the highest educational level, the highest consumption of pork and pork products, and people reported greater precautions when purchasing meat or pork products. In cities of the interior of the Province of Buenos Aires was the highest consumption of sausages and wildlife animals; the knowledge about the disease, mode of transmission and sick people in the environment was very high. Nevertheless, those people were paradoxically who reported taking fewer precautions when purchasing pork or pork products. These results could be attributed to human outbreaks in this region are related to manufacturing type (home) and commercialization (without veterinary control) of pork's origin products. An intermediate situation was observed in the Greater Buenos Aires for all variables studied. Educational activities should respect the cultural habits of the population, promoting Trichinellosis diagnosis in pigs and discouraging the consumption of pig meat and meat of uncertain origin.

**Key words:** *Trichinella* spp., health education

## Introducción

La triquinosis es una zoonosis producida por *Trichinella spp.* En la Argentina, la especie *T. spiralis* presente en la carne y en los derivados de origen porcino, es la fuente principal de infección para el hombre<sup>1, 2, 3</sup>. Se la encuentra en ciclos epidemiológicos domésticos, peri domésticos y silvestres en una amplia variedad de especies animales (reptiles, aves, mamíferos terrestres y acuáticos)<sup>4</sup>. Recientemente, se ha aislado una nueva especie autóctona, en un puma de montaña (*Puma concolor*), tipificada como *Trichinella T12 n. sp T. patagoniensis*<sup>5, 6</sup>. Los brotes humanos de la enfermedad en Argentina se vinculan culturalmente a la cría familiar y domiciliar de cerdos, debido a una alimentación precaria y a la ausencia de control veterinario durante la faena<sup>3</sup>. La alimentación a base de desperdicios e incluso en basurales, promueve el ciclo de transmisión a los cerdos<sup>7</sup>. La enfermedad humana suele presentarse en forma de focos. La faena de cerdos domésticos y silvestres se concentra durante el invierno o a principios de la primavera. En los pueblos se promueve la participación social de las familias en la elaboración y en las comidas que se organizan en estas oportunidades, donde se consumen los productos recién elaborados<sup>3</sup>. Otro origen de estos focos ocurre debido a la comercialización de productos adquiridos por viajeros o turistas en los pueblos y a la vera de las rutas<sup>8</sup> debido a la valoración de la producción "casera" por parte de la población general. Las áreas más afectadas corresponden a la región central de la Argentina: Buenos Aires, Santa Fé y Córdoba, zonas que representan aproximadamente el 80% de la producción porcina nacional y donde se concentra el 91% de los casos humanos<sup>3</sup>. Debido a la vinculación cultural de la ocurrencia de la enfermedad en Argentina, el objetivo del presente estudio fue estimar el grado de conocimiento y hábitos de la población sobre aspectos que inciden en la presentación de la triquinosis en humanos, en tres zonas epidemiológicamente diferentes, dos de la Provincia de Buenos Aires: conurbano bonaerense (CB) y Ciudades del Interior (CI) y la otra en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), durante 2011.

## Materiales y Métodos

Se realizó un muestreo de conveniencia mediante encuestas, entre marzo y diciembre de 2011. Se seleccionaron aleatoriamente, 256 habitantes de una población general residente en tres áreas epidemiológicamente diferenciadas: 56 de la CABA, 95 del CB y 105 de CI: La Plata, Necochea, Chivilcoy y Junín. Se aplicó un cuestionario estructurado consis-

tente en preguntas abiertas y de opciones múltiples. El instrumento constó de tres secciones. En la primera se registraron los datos de identidad del entrevistado: edad, sexo y nivel educativo ("alto": estudios terciarios y/o universitarios completos ó incompletos, "medio": estudios secundarios completos ó incompletos y "bajo" a quienes hubieran completado o no el primer nivel educativo (Tabla 1). En la segunda sección se exploraron frecuencia de consumo de carne de cerdo se consideró "alta" a la frecuencia de consumo de una o más veces por semana; "media" al consumo de una o dos veces por mes y "baja" o "nula" al consumo esporádico del mismo (Tabla 2). Una tercera sección incluyó preguntas referidas al consumo de chacinados caseros y/o animales silvestres, se estimó una frecuencia "alta" al consumo

**Tabla 1.** Grado de instrucción de los pobladores de CABA, CB y CI, 2011

Nivel educativo	CABA % (n)	CB % (n)	CI % (n)
Alto	55.35 (31/56)	46.80 (45/95)	49.52 (52/105)
Medio	17.85 (10/56)	17.70 (17/95)	26.66 (28/105)
Bajo (*)	14.28 (8/56)	30.20 (29/95)	35.23 (37/105)

\* P≤0.05

**Tabla 2.** Frecuencia de consumo de cerdo en pobladores de CABA, CB y CI, 2011

Frecuencia de consumo de cerdo	CABA % (n)	CB % (n)	CI % (n)
Alta	A 44.64 (25/56)	B 15.78 (15/95)	C 21.90 (23/105)
Media	D 32.14 (18/56)	E 62.10 (59/95)	F 6.66 (7/105)
Bajo ó nulo	G 23.21 (13/56)	H 22.10 (21/95)	I 71.42 (75/105)

Ab: La frecuencia de consumo de cerdo Alta del CB y de CI son significativamente diferentes (p<0.05)

Def: La frecuencia de consumo de cerdo Media de CABA, CB y CI son significativamente diferentes (p<0.05)

Ghi: La frecuencia de consumo "bajo ó "nulo" son significativamente diferentes en las tres zonas estudiadas (p<0.05).

mayor a 1 vez por mes; "media" al consumo menor a una vez por mes, y "baja" ó "nula" al consumo esporádico de los mismos (Tabla 3).

También se indagó sobre si: "escuchó hablar de triquinosis"; "conocimientos generales de la enfermedad" (transmisión//prevención) y "padecimiento de algún conocido o familiar". Finalmente se incluyeron preguntas sobre "recaudos al momento de adquirir chacinados" y "productos frescos y/o congelados de origen vacuno y/ó porcino (origen: ven-

ta callejera, amigos o familiares, con o sin marca comercial, vencimiento y certificación de salubridad por parte de organismos oficiales" (Tabla 4). Se aplicó un ANOVA paramétrico para evaluar significación estadística entre las variables y el test de comparación de medias de Bonferroni en los casos donde las diferencias resultaron significativas. Se consideró una relación estadísticamente significativa a un p valor < 0.05.

**Resultados**

En las áreas estudiadas (CABA, CB y CI), el nivel educativo "alto" representó casi el 50% del total de la población encuestada. Los niveles de instrucción más bajos se detectaron en la población encuestada de localidades del interior de la Provincia de Buenos Aires, cuyos valores fueron estadísticamente significativos al compararlos con las otras dos zonas estudiadas (p<0.05) (Tabla 1).

La frecuencia de consumo de carne porcina "alta" resultó significativamente diferente al comparar las personas encuestadas del CB con CI (p<0.05). La frecuencia de consumo "media" y "baja" ó "nulo" resultó estadísticamente diferente en las tres zonas estudiadas (p<0.05) (Tabla2)

El consumo de chacinados caseros de los encuestados en CB y en CI fueron estadísticamente dife-

**Tabla 3.** Consumo de chacinados caseros y de animales silvestres en pobladores de CABA, CB y CI, 2011

Consumo	CABA% (n)	CB % (n)	CI % (n)
Chacinados caseros	44.64 (25/56)	A 32.63 (31/95)	B 60 (63/105)
Animales silvestres	C 7.14 (4/56)	D 8.42 (8/95)	E 18.09 (19/105)

Ab: El consumo de chacinados caseros de CB y CI son significativamente diferentes (p<0.05).

Ce: La frecuencia de consumo de animales silvestres de CABA y CI son significativamente diferentes (p<0.05).

De: El consumo de animales silvestres de CB y CI son significativamente diferentes (p<0.05).

**Tabla 4.** Conocimientos sobre de la enfermedad y hábitos de adquisición de productos y subproductos de origen porcino en pobladores de CABA, CB y CI, 2011

Consigna	CABA % (n)	CB % (n)	CI % (n)
Escuchó hablar de triquinosis?	A 58.93 (33/56)	B 56.84 (54/95)	C 90.48 (95/105)
Sabe cómo se contagia?	D 41.07 (23/56)	E 37.89 (36/95)	F 86.67 (91/105)
Alguna persona de su entorno padece ó padeció la enfermedad?	5.35 (3/56)	5.26 (5/95)	9.52 (10/105)
Toma algún tipo de recaudo a la hora de adquirir chacinados? (vencimiento/origen/características físicas del producto)	80.36 (45/56)	H 78.12 (75/95)	I 66.66 (70/105)
Toma algún tipo de precaución a la hora de adquirir carne de vaca ó cerdo? (vencimiento/origen/características físicas del producto)	j 89.28 (50/56)	k 77.08 (74/95)	l 64.76 (68/105)

Abc: Los conocimientos sobre la existencia de triquinosis entre las tres zonas estudiadas es estadísticamente diferente (p<0.05).

df: los conocimientos sobre contagio de la enfermedad entre CABA y CI son estadísticamente diferentes (p<0.05).

ef: Los conocimientos sobre contagio de la enfermedad entre CB y CI son significativamente diferentes (p<0.05)

hi: Los recaudos a la hora de adquirir chacinados fueron estadísticamente diferente entre CB y CI (p<0.05).

jl: los recaudos a la hora de adquirir carne de vaca fueron significativamente diferentes entre CABA y CI

kl los recaudos a la hora de adquirir carne de vaca ó cerdo fueron diferentes estadísticamente entre CB y CI (p<0.05).

rentes ( $p < 0.05$ ). Se observaron también diferencias estadísticas en lo que respecta al consumo de animales silvestres entre CABA y CI ( $p < 0.05$ ) (Tabla 3).

El conocimiento de los encuestados sobre la enfermedad y hábitos de adquisición de productos y subproductos de origen porcino resultó estadísticamente significativo en las tres zonas estudiadas ( $p < 0.05$ ). La información sobre la manera en que se contagia, resultó significativa al comparar CABA y CI y entre ésta última y CB ( $p < 0.05$ ). Los recaudos a la hora de adquirir chacinados fueron estadísticamente diferentes entre los habitantes del CB y los de CI ( $p < 0.05$ ). Los recaudos a la hora de adquirir carne de vaca ó cerdo fueron estadísticamente diferentes entre los habitantes de CABA y CI y entre ésta última y el CB ( $p < 0.05$ ) (Tabla 4).

### Discusión

Debido a la menor densidad poblacional de las comunidades rurales, es común que sus habitantes tomen conocimiento cuando existe un problema sanitario en su entorno porque pueden personalizarlo. El impacto de la ocurrencia de una enfermedad en estas poblaciones depende de la magnitud de las consecuencias, lo cual promueve una mayor difusión de la información. La trichinellosis es una enfermedad prevalente en Argentina, y a nivel humano se presenta en forma de brotes esporádicos originados a partir de un foco porcino<sup>3</sup>. En cuanto a los factores de riesgo presentes en las zonas estudiadas, predominan los relacionados a los conocimientos.

En la CABA se registró el mayor nivel educativo y el mayor consumo de cerdo, y quienes refirieron mayores recaudos al momento de adquirir carne o subproductos porcinos. En CI se observó el mayor consumo de chacinados y animales silvestres; se registró el mayor conocimiento sobre la enfermedad y forma de contagio y donde hubo referencia de conocimiento de personas enfermas en el entorno, pero paradójicamente fueron quienes refirieron tomar menos recaudos al momento de adquirir carne de cerdo o chacinados. Dichos resultados podrían atribuirse a que la aparición de brotes humanos en esta región, están relacionados al tipo de manufactura (casera) y comercialización (sin control veterinario) de los subproductos de origen porcino.

Una situación intermedia se observó en el CB para todas las variables estudiadas.

El propósito de los programas de control debe ser el de reducir y, finalmente erradicar la infección en los cerdos. Entre otras medidas, la educación continua de la población podría, a nivel individual, contribuir a la prevención de la enfermedad en el hombre. Estas acciones educativas deben respetar los hábitos culturales de la población, fomentando la remisión de muestras para diagnóstico de trichinellosis en cerdos faenados en forma domiciliaria y desalentando el consumo de carne y derivados de origen porcino de procedencia dudosa en la población general.

### Conflicto de interés

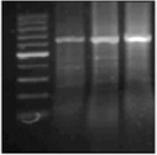
Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Bibliografía

1. Di Pietro S, Haritchabalet K, Cantoni G, et al. Surveillance of foodborne diseases in the province of Rio Negro, Argentina, 1993-2001. *Medicina (Buenos Aires)* 2004; 64(2): 120-4.
2. Larrieu E, Molina V, Albarracín S, et al. 2004. Porcine and rodent infection with *Trichinella*, in the Sierra Grande area of Rio Negro province, Argentina. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 2004; 98(7):725-31.
3. Ribicich M, Gamble HR, Rosa A, Bolpe J, Franco A. Trichinellosis in Argentina: An historical review. *Vet Parasitol* 2005; 132:137-42.
4. Pozio E. The broad spectrum of *Trichinella* hosts: From cold- to warm-blooded animals. *Vet Parasitol* 2005; 132 (1-2): 3-1.
5. Krivokapich SJ, González Prous CL, Gatti GM et al. Molecular evidence for a novel encapsulated genotype of *Trichinella* from Patagonia, Argentina. *Vet Parasitol* 2008;156: 234-40.
6. Krivokapich, SJ, Pozio E, Gatti G, et al. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. *Int J Parasitol* 2012; 42: 903-10.
7. Stojcevic D, Zivicnjak T, Marinculic A, et al. The epidemiological investigation of *Trichinella* infection in brown rats (*Rattus norvegicus*) and domestic pigs in Croatia suggests that rats are not a reservoir at the farm level. *J Parasitol* 2004; 90(3): 666-70.
8. Pozio E, Marucci G. *Trichinella*-infected pork products: a dangerous gift. *Trends in Parasitology* 2003; 19(8): 338.

# Análisis genético comparativo de la glutatión S-transferasa de *Fasciola hepatica* procedente de distintos huéspedes definitivos

Vanesa Fernández<sup>1,3</sup>, Silvia M. Estein<sup>2,3</sup>, Pedro Ortiz<sup>4</sup>, Hugo Solana<sup>1,5</sup>



**Resumen:** La fasciolosis, parasitosis zoonótica de ubicación intrahepática, es ocasionada por *Fasciola hepatica*. La resistencia de *F. hepatica* a TCBZ está progresando mundialmente por lo cual es necesario ampliar el conocimiento sobre los mecanismos de detoxificación que este helminto posee. Las glutatión S-transferasas (GSTs), enzimas multifuncionales implicadas en la detoxificación de compuestos endógenos y xenobióticos, podrían participar en la expresión de resistencia al TCBZ. En este trabajo se determinó el nivel de expresión del ARNm y se caracterizó el gen para GST (*genGST*) correspondiente a fasciolas provenientes de tres hospedadores diferentes infectados naturalmente. Las secuencias del *genGST* de las fasciolas analizadas se compararon con las secuencias de las cepas *Sligo* (triclabendazol resistente: TCBZ-R) y *Cullompton* (triclabendazol sensible: TCBZ-S) (GenBank ID: KF680281-KF680284, respectivamente) obtenidas en nuestro laboratorio. Las fasciolas de las tres especies hospedadoras expresaron diferencias significativas en el ARNm: cerdo 2 > bovino 1.7 > ovino 1 y un *genGST* idéntico al de la cepa TCBZ-S. La diferencia de expresión podría relacionarse con el nivel de resistencia de los diferentes huéspedes a *F. hepatica*. Estos resultados aportarían a la comprensión de los mecanismos generadores de resistencia a *F. hepatica* en los distintos huéspedes definitivos.

**Palabras clave:** *Fasciola hepatica*, glutatión S-transferasa, triclabendazole.

## Comparative genetic analysis of glutathione S-transferase *Fasciola hepatica* from different definitive hosts

**Abstract:** Fasciolosis, a zoonotic intrahepatic parasitosis is caused by *Fasciola hepatica*. Resistance of *F. hepatica* to TCBZ is progressing globally so it is necessary to increase the knowledge of the mechanisms of detoxification that this helminth possesses. The multifunctional enzymes glutathione S-transferases (GSTs) are involved in the detoxification of endogenous and xenobiotic compounds and could be involved in the expression of resistance to TCBZ. In this work the level of mRNA expression was determined and the gene for GST (*genGST*) from flukes from three different naturally infected hosts was characterized. The sequence of the *genGST* was compared with the sequences of resistant (TCBZ-R) (*Sligo*) and sensible (TCBZ-S) (*Cullompton*) strains of *F. hepatica* (GenBank ID: KF680281 - KF680284, respectively) obtained in our laboratory. Flukes of three different hosts expressed significant differences in their mRNA: porcine 2 > bovine 1.7 > ovine 1 and the *genGST* sequence was identical to TCBZ-S strain of *F. hepatica*. The difference in expression of the *genGST* could be related to the level of resistance of the different hosts against *F. hepatica*. These results would contribute to the understanding of the mechanisms of resistance to *F. hepatica* in different definitive hosts.

**Key words:** *Fasciola hepatica*, glutathione S-transferase, triclabendazole.

## Introducción

La fasciolosis es una zoonosis parasitaria producida por *Fasciola hepatica*, un trematodo que parasita el hígado de animales herbívoros y del hombre<sup>1</sup>. La enfermedad constituye un grave problema para el hombre el cual se infesta a través de la ingestión de vegetales contaminados con metacercarias. En la actualidad hay 17 millones de personas afectadas en el mundo por lo cual se la considera una de las en-

fermedades de mayor impacto sanitario, principalmente en poblaciones rurales y de bajos recursos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que en Rusia, China, Georgia, Vietnam y Uganda la enfermedad se expande a gran velocidad, aspecto relacionado con el cambio climático y global<sup>2</sup>. El triclabendazole (TCBZ) es un antiparasitario eficiente contra trematodos inmaduros y adultos<sup>1</sup>. La resistencia a los benzimidazoles antihelmínticos detectadas

1. Laboratorio de Biología Celular y Molecular.

2. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FCV-UNCPBA).

3. CONICET.

4. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.

5. Comisión Investigaciones Científicas (CICBA).

vanesa@vet.unicen.edu.ar

Enviado: 10-05-14

Aprobado: 11-11-14

en nematodos se asocia con la pérdida de unión de alta afinidad y alteración del patrón de  $\beta$ -tubulina del parásito (receptor diana), sin embargo, en el fenotipo TCBZ resistente (TCBZ-R) de *F. hepatica* no se observan dichos cambios genéticos<sup>3</sup>. Esto sugiere que habría un mecanismo alternativo de resistencia a dicho fármaco. Las glutatión S-transferasas (GSTs) son enzimas multifuncionales que metabolizan xenobióticos en la fase II de detoxificación y también compuestos endógenos<sup>4</sup>. En *F. hepatica* son las principales enzimas de detoxificación en helmintos adultos<sup>5</sup>. Las medidas de control estratégicas contra la fasciolosis se basan principalmente en la utilización de drogas antiparasitarias<sup>6</sup>. Resultados previos de nuestro laboratorio demuestran que existe una mayor actividad metabólica de GST en cepas TCBZ resistentes que en cepas TCBZ sensibles (TCBZ-S), hallazgo que se correlaciona con una mayor expresión del ARNm en cepas resistentes<sup>7</sup>. El gen para GST (*genGST*) en ambas cepas, sensible y resistente al TCBZ (número de acceso obtenido NCBI GenBank (KF680281-KF680284, (Fernández V. *et al*, 2013)) posee un 99 % de homología de secuencia con las secuencias publicadas. Las fasciolas provenientes de las tres especies de hospedadores expresaron un *genGST* idéntico al TCBZ-S (cepa *Cullompton*) y no se detectaron modificaciones en los aminoácidos de la GST de las fasciolas de campo recuperadas de los distintos huéspedes respecto de la cepa TCBZ-S.

En la fasciolosis existe el fenómeno de infección cruzada mediante el cual la convivencia de bovinos, ovinos y cerdos favorece que el parásito repique entre especies. Estos pasajes entre diferentes especies de hospedadores determinan modificaciones de adaptación al nuevo entorno en donde podría favorecerse la expresión del fenómeno de resistencia<sup>8</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el nivel de expresión del ARNm de la GST de *F. hepatica* aislada de tres hospedadores diferentes: ovino, bovino y porcino y caracterizar el *genGST* a través de un análisis comparativo con las cepas TCBZ-R y TCBZ-S de referencia.

### Materiales y Métodos

**Obtención del material parasitario:** Las fasciolas adultas de ovinos, bovinos y cerdos infectados naturalmente se capturaron en el frigorífico de Cajamarca (Perú). Las cepas *Cullompton* y *Sligo* (TCBZ-S y TCBZ-R, respectivamente) fueron gentilmente cedidas por el Dr. I. Fairweather (The Queens University of Belfast, Northern Ireland, UK).

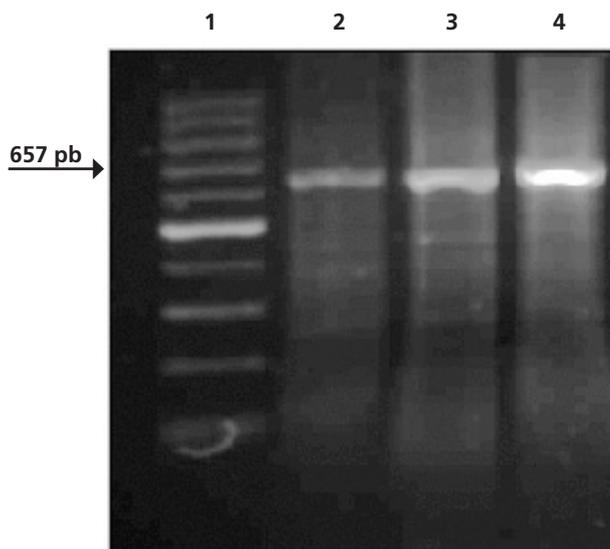
**Estudios genéticos:** La purificación del ARN total se llevó a cabo mediante la utilización de Trizol®. La RT-PCR se llevó a cabo utilizando el kit TRI REA-

GENT SIGMA® (T 9414). Para la PCR a partir del ADNc se diseñaron los siguientes "primers": FhGST -F (5' - ATG CCA CCG AAA CTC GGATAC - 3') y FhGST -R (5' - TCAAGC CGG TGC AGC GTC TC- 3') para regiones conservadas del *genGST* amplificando un fragmento de 657 pb. El análisis termodinámico de los oligonucleótidos fue realizado con el programa OligoTech con apoyo del software DNASTar. La reacción consistió en etapas de desnaturalización inicial (94°C, 5 min), hibridación (55°C, 45 seg) y extensión (72°C, 1 min) durante 30 ciclos, con una elongación final (72°C, 5 min). Dichos amplicones fueron recuperados, purificados y ligados al vector comercial TOPO TA cloning kit® (Invitrogen K457501) y secuenciados en un ABI PRISM utilizando oligonucleótidos que hibridan en el vector. El análisis de comparación de secuencias correspondiente al *genGST* de bovinos, ovinos y porcino se realizó utilizando el programa CLUSTAL 2.1 que permite el alineamiento del *genGST* de las distintas especies con el *genGST* de las cepas de referencia. Por último se utilizó la herramienta bioinformática Expansy-Translate para determinar modificaciones de aminoácidos en las proteínas GST respectivas.

### Resultados

Se identificó un amplicón de 657 pb correspondiente al ARNm del *genGST* de *F. hepatica* en ovinos, bovinos y cerdos (Figura 1) que presentó diferencias

**Figura 1.** Amplificación por RT-PCR del gen GST. Se obtuvo una banda compatible con el tamaño esperado de 657 pb. Marcador de Peso Molecular (carril 1), *F. hepatica* aislada de ovino (carril 2), *F. hepatica* aislada de bovino (carril 3) y *F. hepatica* aislada de cerdo (carril 4)



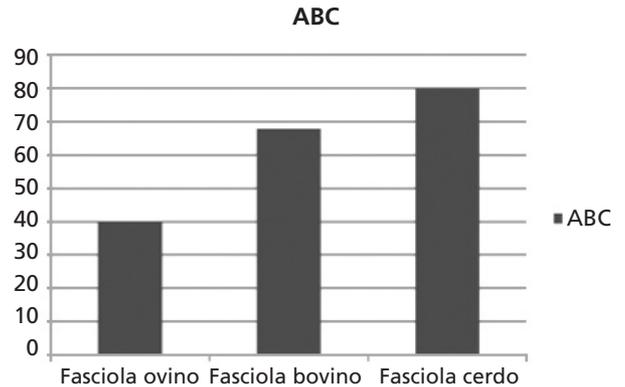
significativas en la expresión entre especies (porcino 2 > bovino 1.7 > ovino 1). El control interno del ARNm de actina y la cuantificación de las bandas mediante el programa ImageJ® se observan en la (Figura 2). Las fasciolas provenientes de las tres especies de hospedadores expresaron un *genGST* idéntico al TCBZ-S (cepa *Cullompton*) (Figura 3). No se detectaron modificaciones en los aminoácidos de la enzima GST de las fasciolas de campo de los distintos huéspedes, y la cepa TCBZ-S, la cual presentó un cambio de aminoácido respecto de la cepa TCBZ-R (treonina por serina) (Figura 4).

**Discusión**

Ante una fasciolosis, existe el fenómeno de infección cruzada en donde la convivencia de bovinos, ovinos y porcinos permite que el parásito repique entre diferentes especies. Estos pasajes condicionan modificaciones de adaptación al nuevo entorno<sup>8</sup>. En

el presente trabajo se demuestra que en *F. hepatica* la expresión del ARNm correspondiente a la enzi-

**Figura 2.** Valores relativos correspondientes al ADNc de vermes adultos de *F. hepatica* recuperadas de ovino, bovino y cerdo (programa ImageJ®)



**Figura 3.** Secuencia de la alineación de GST de *F. hepatica* susceptibles a TCBZ (cepa *Cullompton*) y resistente a TCBZ (cepa *Sligo*) comparadas con *F. hepatica* de ovinos, bovinos y cerdos provenientes de las respectivas secuencias de cDNA. El sombreado claro indica las diferencias dentro de las secuencias en la enzima GST que muestra el cambio de dos nucleótidos en la enzima GST de la cepa TCBZ-resistente. (Para GenBank números de acceso de secuencias de cDNA ver en el texto)

GSTsensible	-----GGCTCCAACAACCCGTTGACTC 23
GSTresistente	-----GGGCTCCAACAACCCGTTGACTC 24
GSTovino	-----GGGCTCCAACAACCCGTTGACTC 24
GSTbovino	TNNTGCCNNAACCAACTCGGATACTGGAAAATAAGAGGGCTCCAACAACCCGTTGACTC 60
GSTcerdo	-NNNNNCANACCAACTCGGATACTGGAAAATAAGAGGGCTCCAACAACCCGTTGACTC 59
	*****
GSTsensible	TTGCTCGAATACCTGGGTGAAGAGTACGAAGAACATCTGTACGGTCGTGATGATAGGGAG 83
GSTresistente	TTGCTCGAATACCTGGGTGAAGAGTACGAAGAACATCTGTACGGTCGTGATGATAGGGAG 84
GSTovino	TTGCTCGAATACCTGGGTGAAGAGTACGAAGAACATCTGTACGGTCGTGATGATAGGGAG 84
GSTbovino	TTGCTCGAATACCTGGGTGAAGAGTACGAAGAACATCTGTACGGTCGTGATGATAGGGAG 118
GSTcerdo	TTGCTCGAATACCTGGGTGAAGAGTACGAAGAACATCTGTACGGTCGTGATGATAGGGAG 119
	*****
GSTsensible	AAATGGTTTGCGGATAAATCAACATGGGATTGGATTTGCCAAATTTACCATACTACATT 143
GSTresistente	AAATGGTTTGCGGATAAATCAACATGGGATTGGATTTGCCAAATTTACCATACTACATT 144
GSTovino	AAATGGTTTGCGGATAAATCAACATGGGATTGGATTTGCCAAATTTACCATACTACATT 144
GSTbovino	AAATGGTTTGCGGATAAATCAACATGGGATTGGATTTGCCAAATTTACCATACTACATT 178
GSTcerdo	AAATGGTTTGCGGATAAATCAACATGGGATTGGATTTGCCAAATTTACCATACTACATT 179
	*****
GSTsensible	GACGATAAGTGCAAAGTACTCAGTCGGTGGCCATAATGCGGTACATTGCGGATAAGCAT 203
GSTresistente	GACGATAAGTGCAAAGTACTCAGTCGGTGGCCATAATGCGGTACATTGCGGATAAGCAT 204
GSTovino	GACGATAAGTGCAAAGTACTCAGTCGGTGGCCATAATGCGGTACATTGCGGATAAGCAT 204
GSTbovino	GACGATAAGTGCAAAGTACTCAGTCGGTGGCCATAATGCGGTACATTGCGGATAAGCAT 238
GSTcerdo	GACGATAAGTGCAAAGTACTCAGTCGGTGGCCATAATGCGGTACATTGCGGATAAGCAT 239
	*****
GSTsensible	GGAATGCTTGTTCTACACCCGAGGAACGAGCTCGAATTTGATGATCGAAGGAGCTGCA 263
GSTresistente	GGAATGCTTGTTCTACACCCGAGGAACGAGCTCGAATTTGATGATCGAAGGAGCTGCA 264
GSTovino	GGAATGCTTGTTCTACACCCGAGGAACGAGCTCGAATTTGATGATCGAAGGAGCTGCA 264
GSTbovino	GGAATGCTTGTTCTACACCCGAGGAACGAGCTCGAATTTGATGATCGAAGGAGCTGCA 298
GSTcerdo	GGAATGCTTGTTCTACACCCGAGGAACGAGCTCGAATTTGATGATCGAAGGAGCTGCA 299
	*****

GSTsensible	ATGGATCTTCGGATGGGTTTTGTTCTGTTTTGTTACAACCCAAAATTTGAAGAAGTGAAA 323
GSTresistente	ATGGATCTTCGGATGGGTTTTGTTCTGTTTTGTTACAACCCAAAATTTGAAGAAGTGAAA 324
GSTovino	ATGGATCTTCGGATGGGTTTTGTTCTGTTTTGTTACAACCCAAAATTTGAAGAAGTGAAA 324
GSTbovino	ATGGATCTTCGGATGGGTTTTGTTCTGTTTTGTTACAACCCAAAATTTGAAGAAGTGAAA 358
GSTcerdo	ATGGATCTTCGGATGGGTTTTGTTCTGTTTTGTTACAACCCAAAATTTGAAGAAGTGAAA 359
*****	
GSTsensible	GGAGATTATCTGAAAGAAGCTGCCAACACGTTGAAGATGTGGTCCGATTTCTTGAGAT 383
GSTresistente	GGAGATTATCTGAAAGAAGCTGCCAACACGTTGAAGATGTGGTCCGATTTCTTGAGAT 384
GSTovino	GGAGATTATCTGAAAGAAGCTGCCAACACGTTGAAGATGTGGTCCGATTTCTTGAGAT 384
GSTbovino	GGAGATTATCTGAAAGAAGCTGCCAACACGTTGAAGATGTGGTCCGATTTCTTGAGAT 418
GSTcerdo	GGAGATTATCTGAAAGAAGCTGCCAACACGTTGAAGATGTGGTCCGATTTCTTGAGAT 419
*****	
GSTsensible	CGTCACTATTTGACAGTTCTACAGTTAGCCATGTGGACTTTATGGTTTACGAAGCATTG 443
GSTresistente	CGTCACTATTTGACAGTTCTACAGTTAGCCATGTGGACTTTATGGTTTACGAAGCATTG 444
GSTovino	CGTCACTATTTGACAGTTCTACAGTTAGCCATGTGGACTTTATGGTTTACGAAGCATTG 444
GSTbovino	CGTCACTATTTGACAGTTCTACAGTTAGCCATGTGGACTTTATGGTTTACGAAGCATTG 478
GSTcerdo	CGTCACTATTTGACAGTTCTACAGTTAGCCATGTGGACTTTATGGTTTACGAAGCATTG 479
*****	
GSTsensible	GACTGTATTCGTTATTTGGCACACAGTGTCTGGAGGACTTTCCCAAATTTGAAGGAATTC 503
GSTresistente	GACTGTATTCGTTATTTGGCACACAGTGTCTGGAGGACTTTCCCAAATTTGAAGGAATTC 511
GSTovino	GACTGTATTCGTTATTTGGCACACAGTGTCTGGAGGACTTTCCCAAATTTGAAGGAATTC 504
GSTbovino	GACTGTATTCGTTATTTGGCACACAGTGTCTGGAGGACTTTCCCAAATTTGAAGGAATTC 538
GSTcerdo	GACTGTATTCGTTATTTGGCACACAGTGTCTGGAGGACTTTCCCAAATTTGAAGGAATTC 539
*****	
GSTsensible	AAGAGTCGATTGAAGATCTTCCAAAAATCAAGGCATACATGGAATCAGAGAAGTTCATC 563
GSTresistente	AAGAGTCGATTGAAGATCTTCCAAAAATCAAGGCATACATGGAATCAGAGAAGTTCATC 571
GSTovino	AAGAGTCGATTGAAGATCTTCCAAAAATCAAGGCATACATGGAATCAGAGAAGTTCATC 564
GSTbovino	AAGAGTCGATTGAAGATCTTCCAAAAATCAAGGCATACATGGAATCAGAGAAGTTCATC 598
GSTcerdo	AAGAGTCGATTGAAGATCTTCCAAAAATCAAGGCATACATGGAATCAGAGAAGTTCATC 599
*****	
GSTsensible	AAGTGGCCTTTGAACTCGTGGATTGCTTCTTTTCGGTGGTGGAGACGCNNNNNNNNNNNN 623
GSTresistente	AAGTGGCCTTTGAACTCGTGGATTGCTTCTTTTCGGTGGTGGAGACGCNNNNNNNNNNNN 631
GSTovino	AAGTGGCCTTTGAACTCGTGGATTGCTTCTTTTCGGTGGTGGAGACGCNNNNNNNNNGC 624
GSTbovino	AAGTGGCCTTTNNNNNNNNNNNNNNNNNN----- 625
GSTcerdo	AAGTGGCCTTTGANNNNNNNNNNNNNNNNNN----- 624
*****	
GSTsensible	AAN- 626
GSTresistente	NAA- 634
GSTovino	GNNN 628
GSTbovino	---- 625
GSTcerdo	---- 624

ma GST varía según el hospedador del cual deriva el verme adulto. Dicha expresión diferencial se puede correlacionar directamente con el grado de resistencia de los diferentes hospedadores frente a la parasitosis sin descartar su probable participación en la futura generación de mutantes resistentes a diferentes antihelmínticos incluido el TCBZ. La convivencia de bovinos, ovinos y porcinos con las consecuentes modificaciones de adaptación del parásito al nuevo entorno, podría ser un factor desencadenante de la resistencia antihelmíntica.

### Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Bibliografía

1. Boray JC. Disease of domestic animals caused by flukes. FAO, ROMA. 1994. pp: 187- 218.
2. Mas-Coma S. Human fasciolosis: epidemiological patterns in human endemic areas of South America, Africa and Asia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2004; 35(S1): 1-11.
3. Robinson MW, Trudgett A, Hoey EM, Fairweather 370. Triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*:  $\beta$ -tubulin and response to in vitro treatment with triclabendazole. *Parasitology* 2002; 124: 325-38.
4. Brophy PM, Barret J. Glutathione transferase in helminths. *Parasitology* 1990; 100: 345- 49.
5. Brophy PM. Pichard DI. Parasitic helminth glutathione S-transferases: An update on their potential as targets for immunotherapy and chemotherapy. *Experimental Parasitology* 1994; 79: 89-96.

**Figura 4.** Alineaciones de aminoácidos de GST de *F. hepatica* susceptibles a TCBZ (cepa *Cullompton*) y resistentes al (cepa *Sligo*) TCBZ comparadas con *F. hepatica* de ovinos, bovinos y cerdos provenientes de las respectivas secuencias de cDNA. El sombreado claro indica las diferencias dentro de las secuencias en la enzima GST que muestra el cambio de un aminoácido en la isoenzima GST de la cepa TCBZ-resistente. Para GenBank números de acceso de secuencias de cDNA ver texto

```

>GST sensible
LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYIDDKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARIS-
MIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKGDY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK-
SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA
>GST bovino
LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYIDDKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARIS-
MIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKGDY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK-
SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA
>GST ovino
LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYIDDKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARIS-
MIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKGDY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK-
SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA
>GST cerdo
LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYIDDKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARIS-
MIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKGDY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK-
SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA
>GST resistente
CQPKLGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYIDDKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGST-
PEERARIS MIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKGDY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLE-
DFPKLKEFKSRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDAD

GST sensible      ----LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYID 56
GST bovino       ----LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYID 56
GST ovino        ----LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYID 56
GST cerdo        ----LGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYID 56
GSTresistente    CQPKLGYWKIRGLQQPVRLLLEYLGE EYEEHLYGRDDREKWF GDKFNMGLDLPNLPYYID 60
                  *****

GSTsensible      DKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARISMIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKG 116
GST bovino       DKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARISMIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKG 116
GST ovino        DKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARISMIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKG 116
GST cerdo        DKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARISMIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKG 116
GST resistente    DKCKLTQSVAIMRYIADKHGMLGSTPEERARISMIEGAAMD LRMGFVRVCYNPKFEEVKG 120
                  *****

GSTsensible      DY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK 176
GST bovino       DY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK 176
GST ovino        DY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK 176
GST cerdo        DY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK 176
GSTresistente    DY LKELPTTLKMWSDFLGDRHYLTGSTVSHVDFM VYEALDCIRYLAPQCLED FPKLKEFK 180
                  *****

GSTsensible      SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA- 211
GST bovino       SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA- 211
GST ovino        SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA- 211
GST cerdo        SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDA- 211
GSTresistente    SRIEDLPKIKAYMESEKFIKWPLNSWIASFGGGDAD 216
                  *****
    
```

6. Knox DP. Parasite enzymes and the control of roundworm and fluke infestation in domestic animals. *British Veterinary Journal* 1994; 150: 319–37.

7. Scarcella S, Lamenza P, Virkel G, Solana H. Expression differential of microsomal and cytosolic glutathione-S-transferases in *Fasciola hepatica* resistant at triclabendazole. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2012; 181(1): 37–9.

8. Olaechea F. Red de helmintología de FAO para América Latina y el Caribe. Conferencia electrónica. 2004. En: [www.pdfio.net/k-988641.html](http://www.pdfio.net/k-988641.html), consultado en mayo 2014.

## Detección de *Rickettsia amblyommii* en la garrapata *Amblyomma tonelliae* n. sp. Nava, Beati y Labruna (Acari: Ixodidae) en Jujuy, Argentina

Detection of *Rickettsia amblyommii* in the ticks *Amblyomma tonelliae* n. sp. Nava, Beati and Labruna (Acari: Ixodidae) in Jujuy, Argentina.

Evelina L. Tarragona<sup>1,2</sup>, Gabriel L. Cicuttin<sup>3</sup>, Atilio J. Mangold<sup>2</sup>, Mariano Mastropaolo<sup>4</sup>, María N. De Salvo<sup>3</sup>, Santiago Nava<sup>2</sup>

Las rickettsias pertenecen al grupo de las Alphaproteobacterias, que son bacterias intracelulares obligadas. Son patógenos del hombre, siendo su vector principal las garrapatas. En la actualidad las rickettsias se clasifican en cinco grupos: fiebres manchadas (SPF), fiebres tíficas (TG), grupo *Rickettsia bellii*, grupo *R. canadensis* y un grupo de rickettsias ancestrales. El grupo SPF contiene el mayor número de especies del género.

En Argentina se registran 24 especies de garrapatas del género *Amblyomma*. Históricamente, se conoce que el taxón *Amblyomma cajennense* se distribuye desde el sur de los Estados Unidos al norte de la Argentina. Estudios recientes demostraron que el taxón *A. cajennense* está representado por un complejo de 6 especies, dos de las cuales se encuentran presentes en Argentina, *Amblyomma sculptum* y *Amblyomma tonelliae*<sup>3</sup>. La primera habita la provincia fitogeográfica de las Yungas y el distrito chaqueño oriental, y la segunda, la provincia fitogeográfica del Chaco. Las garrapatas del complejo *A. cajennense* son parásitos frecuentes de mamíferos silvestres, y domésticos, incluyendo al hombre. Este taxón es además el principal vector de *R. rickettsii*, uno de los agentes de la fiebre manchada en Argentina. El reordenamiento taxonómico de *A. cajennense* s.l., pone en evidencia la necesidad de estudios que determinen el papel como vector de cada una de las especies del complejo, incluyendo las dos presentes en Argentina.

El objetivo de este trabajo fue detectar la infección con rickettsias en garrapatas *A. tonelliae* colectadas en su fase de vida libre en la provincia de Jujuy.

### Materiales y métodos

Durante el mes de enero del 2012 se colectaron garrapatas adultas de la vegetación en la localidad de La Estrella, provincia de Jujuy (23° 49'S, 64° 13'O) en el distrito chaqueño occidental. Las garrapatas se preservaron en alcohol 96% y fueron determinadas de acuerdo con las claves taxonómicas actuales.

Se realizó extracción de ADN de todas las garrapatas. La detección de rickettsias se realizó mediante PCR utilizando los cebadores específicos que amplifican un fragmento del gen 23S-5S. Las muestras positivas fueron testeadas por dos PCRs complementarias, utilizando cebadores que amplifican un fragmento de los genes *gltA* y *ompA*. Los productos obtenidos fueron secuenciados. El análisis filogenético se realizó utilizando el método Maximum Likelihood (ML), calculando la distancia evolutiva por el modelo de GTR (G+I).

### Resultados

Se colectaron un total de 36 garrapatas adultas de la especie *A. tonelliae*. Se detectó ADN de *Candidatus 'R. amblyommii'* (Jujuy, Argentina) en una de las garrapatas testeadas (2.8%). Las secuencias obtenidas se distribuyeron en el mismo clado correspon-

diente a *R. amblyommii* strain An13 detectada en *Amblyomma neumannii* de Argentina (100% identidad, DQ517290) para el gen *gltA*, no así para el gen *ompA* (99% identidad, DQ517292).

### Discusión

En este estudio se presenta el primer registro de *Candidatus 'R. amblyommii'* en garrapatas *A. tonelliae* de vida libre colectadas en la provincia de Jujuy.

*R. amblyommii* es actualmente considerada como de patogenicidad desconocida para el hombre, sin embargo existen evidencias sujetas a confirmación que sugieren que podría ser el agente causal de algunos casos de fiebre manchada en humanos reportados en Estados Unidos.

Existen estudios previos que indican la presencia de *R. amblyommii* en poblaciones de *A. cajennense* s.l. de Panamá, noreste de Brasil y Colombia, pero es probable que estas garrapatas sean, en realidad, tres especies diferentes dentro del complejo *A. cajennense*. En Argentina, *R. amblyommii* fue citada previamente infectando *A. neumannii* en la provincia de Córdoba.

Estudios complementarios son necesarios para determinar la relevancia epidemiológica de los resul-

tados obtenidos en este estudio, considerando que las garrapatas pertenecientes al taxón *A. cajennense* parasitan frecuentemente humanos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Labruna M. B., Pacheco R. C., Nava S., Brandao P. E., Richtzenhain I. J., A.A. Guglielmone. 2007. Infection by *Rickettsia bellii* and Candidatus "*Rickettsia amblyomii*" in *Amblyomma neumanni* Ticks from Argentina. *Microb. Ecol.* 54, 126–133.
2. Merhej V., Raoult D. 2011. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biol. Rev* 86: 379- 405.
3. Nava S., Beati L., Labruna M. B., Cáceres A. G., Mangold A. J., Guglielmone A. A. 2014. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks, Tick borne Dis* 5, 252-276.
4. Paddock C.D., Fernández S., Echenique G.A., Sumner J.W., Reeves W.K., Zaki S.R., Remondegui C.E. 2008. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 78: 687-692.

**Palabras clave:** *Rickettsia*, *Amblyomma tonelliae*, Jujuy, Argentina.

- (1) Cátedra de Salud en Animales Silvestres, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.  
 (2) Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Rafaela. Santa Fe. Argentina.  
 (3) Instituto de Zoonosis Luis Pasteur- Ministerio de Salud- Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. (4) Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.  
 Tarragona.evelina@inta.gob.ar

## Dinámica estacional de *Lutzomyia longipalpis*, vector de leishmaniasis visceral, en dos localidades del Norte Argentino.

**Seasonal dynamics of *Lutzomyia longipalpis*, vector of visceral leishmaniasis, in two locations in northern Argentina.**

Andrea Gómez Bravo<sup>1</sup>, Ignacio Gould<sup>2,5</sup>, María Gabriela Quintana<sup>3,4,5</sup>, Oscar Daniel Salomón<sup>3,5</sup>, Marcelo Abril<sup>1</sup>

La leishmaniasis visceral es una zoonosis emergente/re-emergente en Argentina. Producida en América por el Trypanosomatidae *Leishmania infantum*, los vectores responsables de su transmisión son insectos Phlebotominae y el principal reservorio urbano es el perro. *Lutzomyia longipalpis*, principal vector para las Américas, fue registrado por primera vez en un escenario urbano de Argentina en el año 2004 en Clorinda, provincia de Formosa. A partir de ese momento, esta especie fue registrada en distintas provincias del noreste argentino, Misiones (2006), Corrientes (2008), Entre Ríos y Chaco (2010). En el 2013 se registró la presencia de *Lu. longipalpis* en Tartagal, provincia de Salta, siendo éste, el primer registro en el Noroeste Argentino. Por otra parte, fueron notificados/publicados casos de leishmaniasis visceral canina de transmisión autóctona en las provincias de Formosa, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Salta y Santiago del Estero.

### Objetivo

En el marco de la Red de Investigación de Leishmaniasis en Argentina (REDILA), Mundo Sano realiza la vigilancia y monitoreo entomológico de flebotomos presentes en áreas urbanas de localidades del interior del país con antecedentes epidemiológicos de leishmaniasis en colaboración con otros actores de la Red.

### Materiales y métodos

El monitoreo entomológico se llevó a cabo los meses de enero, abril, julio y diciembre de 2013, con trampas de luz tipo CDC y un esfuerzo de muestreo de al menos dos noches por cada punto, en la ciudad de Tartagal (10 puntos) y en Clorinda (20 puntos). La elección de los lugares se hizo a partir de los criterios de distribución y selección de sitios estandarizados

en REDILA, adaptados a las condiciones locales. Los Phlebotominae presentes en las muestras colectadas fueron separados en el laboratorio de la respectiva sede de Mundo Sano e identificados luego en un laboratorio de referencia de la Red.

### Resultados

En este trabajo se presentan los datos de distribución y abundancia de *Lu. longipalpis* a partir de la vigilancia estacional realizada durante el 2013 en Clorinda (Formosa) y Tartagal (Salta). En Clorinda las especies reportadas fueron *Lutzomyia longipalpis*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia whitmani*, *Nyssomyia neivai*, *Evandromyia cortelezzii-sallesi* y *Lu. shannoni*, siendo *Lu. longipalpis* la especie más abundante con un porcentaje del 88% (1015/1155) del total de flebótomos colectados en los 4 muestreos. Para Tartagal se registraron las siguientes especies: *Lu. longipalpis*, *Mg. migonei*, *Ny. Neivai* y *Ev. cortelezzii-sallesi* siendo también la especie más abundante *Lu. longipalpis* con 60% (209/350) del total de flebótomos colectados y la única especie presente en los 4 muestreos. A su vez en Clorinda el 75% de los puntos (15/20) resultaron positivos para *Lu. longipalpis*, mientras que en Tartagal el 90% de los puntos (9/10) fueron positivos para la misma especie.

### Conclusiones

Los resultados de los muestreos estacionales indican que tanto en Clorinda como en Tartagal la presencia de flebótomos es constante a lo largo de todo el año, con valores de abundancia que difieren de acuerdo a la especie y época del año, siendo *Lu. longipalpis* la especie de flebótomos predominante en ambas localidades. De acuerdo con estos resultados concluimos que tanto la población de Clorinda como la de Tartagal se encuentran bajo riesgo de transmisión de leishmaniasis visceral puesto que ambas localidades presentan características ambientales que permiten la presencia del vector de esta enfermedad de manera permanente.

### Bibliografía

- Salomón OD, Orellano PW. *Lutzomyia longipalpis* in Clorinda, Formosa province, an area of potential visceral leishmaniasis transmission in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 2005 August; 100(5): 475-476.
- Gómez Bravo A, Quintana MA, Abril M, Salomón OD. The first record of *Lutzomyia longipalpis* in the Argentine northwest. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 2013 December; 108(8): 1071-1073.
- Gould IT, Perner MS, Santini MS, Saavedra SB, Bezzi G, Maglianese MI, Antman JG, Gutiérrez JA, Salomón OD. Leishmaniasis Visceral en la Argentina. Notificación y Situación Vectorial (2006-2012). *Medicina*, Buenos Aires 2013, 73: 104-110.

**Palabras clave:** Leishmaniasis visceral, vector, reservorio.

(1) Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina. (2) Centro Nacional de Diagnóstico e Investigaciones Endemo-epidémicas, Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto Nacional de Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina. (4) Instituto Superior de Entomología Dr. Abraham Willink, Universidad Nacional de Tucumán San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. (5) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET Argentina. Red de Investigación de Leishmaniasis en Argentina, REDILA. [agomez@mundosano.org](mailto:agomez@mundosano.org)

## La presencia de *Amblyomma coelebs* Neumann, 1899 y *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946 (Acari: Ixodidae) en la provincia de Misiones, Argentina

The presence of *Amblyomma coelebs* Neumann, 1899 and *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946 (Acari: Ixodidae) in Misiones Province, Argentina

Daniela Lamattina<sup>1</sup>, Evelina Luisa Tarragona<sup>2</sup>, Sebastián Andrés Costa<sup>1</sup>, Santiago Nava<sup>2,3</sup>

Las garrapatas se encuentran entre los más importantes artrópodos vectores de microorganismos patógenos que afectan a los humanos y animales domésticos. Asimismo, las garrapatas pueden causar parálisis, toxicosis, irritación y alergia, y son capaces de producir grandes pérdidas económicas debido al efecto deletéreo sobre el ganado. En la provincia de Misiones, la información sobre las especies de garrapatas es escasa. El objetivo de este trabajo es reportar por primera vez la presencia de *Amblyomma coelebs* y *Haemaphysalis juxtakochi* en la provincia de Misiones, y discutir las implicancias epidemiológicas de dichos hallazgos.

## Materiales y métodos

En este estudio se identificaron garrapatas colectadas sobre 18 coatíes (*Nasua nasua*), un puma (*Puma concolor*) y un yagouaré (*Panthera onca*) capturados en el año 2012 en el Parque Nacional Iguazú (PNI) y el Parque Provincial Puerto Península, y sobre tres zorros de monte (*Cerdocyon thous*) y un yaguarundí (*Puma yagouaroundi*) atropellados en el mismo año en la Ruta Nacional 12 que atraviesa dichas zonas. A estas muestras se agregaron especímenes de vida libre colectados de la vegetación en el PNI, garrapatas fijadas a humanos que trabajaban en el lugar y una larva colectada sobre un humano en la reserva privada Surucuá, noreste de Misiones.

Las muestras se conservaron en alcohol 96° y se determinaron taxonómicamente de acuerdo a las claves y descripciones presentadas por Barros-Battesti *et al.* (2006) y Martins *et al.* (2010). Los diagnósticos realizados por medio de caracteres morfológicos fueron confirmados con el análisis de secuencias de un fragmento de 420 pares de bases del gen mitocondrial 16S. Las secuencias obtenidas se alinearon con el programa CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994) y se compararon entre sí y con secuencias del gen 16S depositadas en GenBank utilizando el programa MEGA versión 5 (Tamura *et al.*, 2011).

## Resultados

Se hallaron 39 ninfas y una larva de *A. coelebs*, de las cuales 20 ninfas y una larva se encontraron parasitando humanos. Cinco ninfas de *A. coelebs* se colectaron de la vegetación en el PNI. Por otro lado, se encontró una hembra de *H. juxtakochi* sobre *P. concolor* en el PNI (Tabla 1).

## Discusión

Se confirmó la presencia de *A. coelebs* en Argentina y se presentó el primer registro de esta especie

en humanos en la provincia de Misiones, Argentina, lo cual evidencia el rol potencial de esta especie como vector de agentes patógenos con importancia en salud pública. En este sentido, existen trabajos previos donde se encontraron garrapatas de esta especie con rickettsias. De esto surge la necesidad de realizar nuevos estudios para determinar la relevancia de *A. coelebs* en la epidemiología de las rickettsiosis humanas.

El hallazgo de *H. juxtakochi* constituye el primer registro de esta garrapata en la provincia de Misiones. Debido a que individuos de *H. juxtakochi* fueron colectados sobre humanos en otros sitios de Sudamérica, y a que existen aislamientos de rickettsias pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas en esta especie de garrapata, se considera importante realizar investigaciones adicionales sobre su rol epidemiológico en la transmisión de estas enfermedades.

## Bibliografía

1. Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. ICTTD-3/Butantan; 2006.
2. Martins TF, Onofrio VC, Barros-Battesti DM, Labruna MB. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks Tick-borne Dis* 2010; 1: 75-99.
3. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28(10): 2731-2739.
4. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl Acids Res* 1994; 22(22): 4673-4680.

**Tabla 1.** Garrapatas colectadas sobre humanos, animales y vegetación en la provincia de Misiones

Sitio	Hospedador/ ambiente	Especie	Larvas	Ninfas	Hembra
Ruta Nacional 12	Cerdocyon thous	<i>A. coelebs</i>		1	
	Puma yagouaroundi	<i>A. coelebs</i>		1	
Apepú, PNI (25°33'S, 54°17'O)	Humano	<i>A. coelebs</i>		20	
	Vegetación	<i>A. coelebs</i>		5	
Área Cataratas, PNI (25°40'S, 54°26'O)	Nasua nasua	<i>A. coelebs</i>		9	
PNI	Puma concolor	<i>H. juxtakochi</i>			1
Surucuá (25°32'S, 54°08'O)	Humano	<i>A. coelebs</i>	1		
PP Puerto Península	Panthera onca	<i>A. coelebs</i>		3	

**Palabras clave:** *Amblyomma coelebs*, *Haemaphysalis juxtakochi*, Rickettsia, Misiones.

(1) Instituto Nacional de Medicina Tropical. Ministerio de Salud de la Nación. Puerto Iguazú. Misiones. Argentina. daniela.lamattina@gmail.com. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

(3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Rafaela, Santa Fe, Argentina. nava.santiago@inta.gob.ar

## Persistencia de la infestación de *Lutzomyia longipalpis*, vector de Leishmaniasis Visceral, en la ciudad de Bella Unión, Uruguay

**Persistence of *Lutzomyia longipalpis*, vector of Visceral Leishmaniasis, in the city of Bella Unión, Uruguay**

Yester Basmadjian<sup>1</sup>, Alejandra Lozano<sup>2</sup>, Lorenzo Verger<sup>2</sup>, Bruno Canneva<sup>1</sup>, Dinora Satragno<sup>1</sup>, Cirino Sequeira<sup>3</sup>, Selva Romero<sup>1</sup>, Ana Viera<sup>1</sup>, Cecilia Tort<sup>1</sup>, Cristina Ríos<sup>4</sup>, Patricia Lagarmilla<sup>4</sup> y Edgardo Vitale<sup>2</sup>

La Leishmaniasis, integrante del grupo de Enfermedades Desatendidas de la OMS, ha emergido en el Cono Sur de América, en su presentación visceral humana, en el año 2000, en la frontera entre Brasil y Paraguay. Desde ese año, la rápida expansión de su vector, *Lutzomyia longipalpis* hacia el sur, ha determinado en pocos años la aparición de casos humanos en Argentina (2006), encontrándose caninos infectados en la frontera norte de nuestro país (ciudad de Monte Caseros, provincia de Corrientes) en el año 2009. Con esos antecedentes, en febrero del 2010 se investigó la presencia de este vector en dos ciudades del litoral norte de nuestro país: Salto (capital del Departamento homónimo) y Bella Unión (Departamento de Artigas) hallándose un ejemplar en cada una de esas ciudades. Desde ese momento se catalogó de "vulnerables" a ambos Departamentos, de acuerdo a las recomendaciones de los expertos en el tema (presencia del vector, sin transmisión parasitaria pero con transmisión en localidades fronterizas).

Luego de ese hallazgo puntual, no se continuó con la búsqueda de ejemplares, hasta que, en el año 2013, se retomó el tema desde la Universidad de la República.

El objetivo de este trabajo es demostrar la persistencia de la infestación por *L. longipalpis* en la ciudad de Bella Unión, Departamento de Artigas, Uruguay.

### Materiales y métodos

Se estudió la ciudad de Bella Unión durante los meses de octubre a diciembre del año 2013. El área de muestreo fue dividida en sectores de igual superficie, en los cuales se determinaron zonas a realizar capturas entomológicas, utilizando el concepto de "peor escenario". Para las capturas se utilizaron trampas de luz CDC durante toda la noche, en condiciones adecuadas. Las muestras se realizaron dos noches consecutivas durante los tres meses de estudio. Los insectos capturados fueron identificados bajo lupa binocular y los flebótomos encontrados se aclararon y montaron en bálsamo de Canadá para identificación de especie.

### Resultado

Se capturaron flebótomos en los tres meses muestreados. En octubre 4 ejemplares, en noviembre 10 y 21 en diciembre, provenientes de dos ecotopos distintos: el sitio que dio positivo en el año 2010 y otro que dista unos 800 metros del mismo.

Los flebótomos colectados fueron identificados como *L. longipalpis*.

### Discusión

El muestreo realizado en la ciudad de Bella Unión permitió capturar varios ejemplares de *L. longipalpis*. Con esto se reafirma que la presencia del vector en el Uruguay no es un evento ocasional y puede asumirse que hubo una presencia continuada del flebótomo por lo menos desde el año 2010. Esto confirma la situación del país como vulnerable para el ingreso y diseminación del agente causante de la Leishmaniasis Visceral.

### Bibliografía

1. Salomón OD, Basmadjian Y, Fernández MS, Santini MS. *Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, May 2011, Vol. 106 (3): 381-382.
2. Young DG & Duncan MA. Guide to the identification

- and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera, Psychodidae). *Memoires of the American Entomological Institute*. 1994, N° 54, 881 pp.
3. OPS (2005) Consulta de expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis visceral en las Américas. Brasilia, Brasil - 23 al 25 de noviembre de 2005-2006. Disponible en [http://new.paho.org/panaftosa/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=80](http://new.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=80). (Accedido el 29 de abril de 2014)
4. OPS - OMS: Encuentro sobre vigilancia, prevención y control de leishmaniasis visceral (LV) en el Cono Sur de Sudamérica. Foz do Iguazú, Brasil, 23 de septiembre de 2009. Disponible en [http://new.paho.org/panaftosa/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=79](http://new.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=79) (Accedido el 29 de abril de 2014)

**Palabras clave:** *Phlebotominae*, *Leishmaniasis* visceral, Uruguay.

- (1) Departamento de Parasitología y Micología Médica. Instituto de Higiene-Facultad de Medicina-UdelaR. Montevideo. Uruguay. (2) Área de Medicina Preventiva y Epidemiología, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Montevideo. Uruguay. (3) Veterinario de ejercicio libre, Bella Unión, Departamento de Artigas, Uruguay. (4) Área de Salud Pública Veterinaria, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Montevideo. Uruguay. [yester@higiene.edu.uy](mailto:yester@higiene.edu.uy)

## Reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* en el Chaco Argentino. 2002-2011

**Sylvatic reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in the Argentinean Chaco. 2002-2011**

M. Marcela Orozco<sup>1,2</sup>, Gustavo F. Enriquez<sup>1,2</sup>, Leonardo A. Ceballos<sup>1</sup>, M. Victoria Cardinal<sup>1,2</sup>, Ricardo E. Gürtler<sup>1,2</sup>

Una amplia variedad de mamíferos silvestres se encuentran involucrados en el ciclo silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi*, y funcionan como reservorios del parásito. Clásicamente, los ciclos de transmisión silvestre y doméstico pueden ocurrir simultánea e independientemente involucrando distintos vectores y reservorios, o pueden ocurrir en simpatria con diferentes grados de solapamiento e interrelación. En la región del Gran Chaco Argentino, donde los ecosistemas naturales se ven fuertemente afectados por la deforestación, los reservorios silvestres podrían tener una gran importancia epidemiológica al incrementarse las posibilidades de contacto con el ciclo doméstico. El objetivo de este estudio fue identificar y comparar los hospedadores silvestres de *T. cruzi* en el Chaco seco y el Chaco húmedo en Argentina, y establecer la competencia de los diferentes hospedadores silvestres como reservorios del parásito.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio longitudinal entre 2002 y 2011 en el Chaco seco y el Chaco húmedo en Argentina. Las capturas de mamíferos silvestres se llevaron a cabo utilizando trampas tipo National, Sherman, trampas de caída y redes de niebla. Los animales capturados fueron inmovilizados con anestesia parenteral y/o inhalatoria, sexados y pesados. A cada animal se le realizó un xenodiagnóstico, se le tomó una muestra de sangre y se lo liberó en el sitio de captura luego de su recuperación anestésica. Se analizó la infección por *T. cruzi* en los triatomos expuestos a los animales mediante microscopía óptica. Las heces de los insectos que resultaron positivos fueron cultivadas y las muestras fueron criopreser-

vadas. Los mamíferos silvestres del Chaco húmedo también fueron estudiados a través de PCR dirigida al ADN del kinetoplasto parasitario (kADN-PCR) a partir de ADN extraído de las muestras de sangreguanidina. Los animales kDNA-PCR positivos fueron confirmados por Sat-DNA-PCR mediante amplificación del ADN nuclear del parásito, o por kDNA-PCR de los contenidos rectales de los triatomos de xenodiagnóstico. La infectividad de los mamíferos al vector fue calculada como el número de *T. infestans* positivas para *T. cruzi* por microscopía óptica, divididas por el total de insectos expuestos sobre un hospedador y examinados al menos una vez, mientras que para los mamíferos que resultaron negativos por xenodiagnóstico pero positivos por kDNA-PCR,

se calculó la infectividad subpatente como el número de *T. infestans* positivas por kDNA-PCR divididas por el total de insectos examinados por kDNA-PCR.

## Resultados

En el Chaco húmedo se examinaron 468 animales de al menos 35 especies utilizando xenodiagnóstico y/o kDNA-PCR mientras que en el Chaco seco se examinaron solo por xenodiagnóstico 605 mamíferos silvestres pertenecientes a 19 especies identificadas. Las zarigüeyas *Didelphis albiventris* y los armadillos *Dasyus novemcinctus* resultaron los principales hospedadores silvestres de *T. cruzi*. Entre 2008 y 2011 en el Chaco húmedo *Di. albiventris* presentó elevadas prevalencias de infección (21%), en comparación con las halladas en el Chaco seco (9%) entre 2002 y 2007, área donde se habían registrado prevalencias mayores a 30% en los años 80. Respecto a los armadillos, en el Chaco húmedo confirmamos la infección con *T. cruzi* en *Da. novemcinctus* con elevadas prevalencias (48%) y también en *Euphractus sexcinctus*, *Chaetophractus vellerosus* y *Tolypeutes matacus* con prevalencias inferiores al 12%. Los zorrinos *Conepatus chinga* se hallaron infectados en ambas regiones, aunque en el Chaco seco la especie resultó más frecuente. *Thylamys pusilla* fue capturada en ambas regiones pero solo fue encontrada infectada en el Chaco húmedo. Tanto en el Chaco seco como en el Chaco húmedo se estudiaron las especies de roedores, detectándose una mayor diversidad en el Chaco húmedo, donde se confirmó la infección por *T. cruzi* en 8 especies de roedores sigmodontinos: *Akodon montensis*, *Akodon toba*, *Graomys chacoensis*, *Oligoryzomys chacoensis*, *Oligoryzomys nigripes*, *Calomys callosus*, *Necomys lasiurus* y *Oecomys* sp. En el Chaco húmedo también se detectó la presencia de *T. cruzi* en un murciélago vampiro *Desmodus rotundus* y en una especie insectívora *Myotis* sp. *Di. albiventris* mostró una infectividad cercana al 50% en el Chaco seco y en el Chaco húmedo, y los dos zorrinos positivos presentaron una infectividad del 88% y 100%, respectivamente. En el Chaco húmedo *Da. novemcinctus* presentó una infectividad de 70% y *T. matacus* presentó una infectividad promedio de 8%, mientras que *C. velle-*

*rosus* mostró una infectividad del 35%. Los roedores sigmodontinos mostraron una baja competencia como reservorios, evidenciada mediante el hallazgo de roedores kDNA-PCR positivos que habían resultado negativos xenodiagnóstico clásico (i.e., infectividad subpatente).

## Discusión

Este estudio documenta un importante incremento en el rango de hospedadores de *T. cruzi* en el Chaco Argentino, asociado a una alta prevalencia de infección en el Chaco húmedo. *Di. albiventris*, *C. chinga* y *Da. novemcinctus* resultaron altamente infecciosas para *T. infestans*, mientras que las otras especies de armadillos y marsupiales fueron cuantitativamente menos infecciosas. En el Chaco húmedo, los roedores sigmodontinos fueron hallados infectados con frecuencia pero la intensidad de la infección resultó inferior al límite de detección del xenodiagnóstico mostrando una infectividad subpatente al vector y una baja competencia como reservorios de *T. cruzi*. Posiblemente estas especies cumplan un papel secundario en la transmisión vectorial en comparación con armadillos y zarigüeyas.

## Bibliografía

- Burgos JM, Altcheh J, Bisio M, Duffy T, Valadares HM, Seidenstein ME, Piccinali R, Freitas JM, Levin MJ, Macchi L, Macedo AM, Freilij H, Schijman AG. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *Int. J. Parasitol.* 2007; 37:1319–1327.
- Gürtler RE, Cecere MC, Lauricella MA, Cardinal MV, Kitron U, Cohen JE. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology* 2007; 134: 69-82.
- Miles MA, Povoaa MM, de Souza AA, Lainson R, Shaw JJ, Ketteridge DS. Chagas's disease in the Amazon Basin: The distribution of *Trypanosoma cruzi* zymodemes 1 and 3 in Para State, north Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981; 75: 667-674.
- Wisnivesky-Colli C, Schweigmann NJ, Alberti A, Pietrovsky SM, Conti O, Montoya S, Riarte A, Rivas C. Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 38-41.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, reservorio, ciclo silvestre, infectividad.

(1) Laboratorio de Eco-epidemiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina. [marcelaorozco.vet@gmail.com](mailto:marcelaorozco.vet@gmail.com)  
 (2) Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB), CONICET.

# Rol de roedores sigmodontinos en la ecoepidemiología de *Rickettsia parkeri* en el Delta del Paraná: resultados preliminares

## Role of sigmodontin rodents on the eco-epidemiology of *Rickettsia parkeri* in the Paraná Delta: Preliminary results

Valeria C. Colombo<sup>1</sup>, Lucas D. Monje<sup>1</sup>, Carolina S. Thompson<sup>2</sup>, Santiago Nava<sup>2</sup>, Leandro R. Antoniazzi<sup>1</sup>, Alberto Guglielmone<sup>2</sup>, Pablo M. Beldomenico<sup>1</sup>

Ante el creciente número de enfermedades zoonóticas que tienen como reservorio animales silvestres, es fundamental para la salud pública ampliar el conocimiento sobre las dinámicas de patógenos en poblaciones silvestres. Desde el año 2005 en Argentina se han confirmado y/o considerado sospechosos al menos 10 casos de Rickettsiosis en humanos producidos por *Rickettsia parkeri*, en pacientes que provenían del delta del Paraná (dos de los cuales fueron confirmados por PCR) así como también de áreas rurales de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos y Chaco. Este patógeno ha sido hallado en la garrapata nativa *Amblyomma triste* en la región del delta del Paraná, Uruguay y Brasil. Estudios previos han demostrado la presencia de estadios inmaduros de esta garrapata en roedores sigmodontinos y de adultos en grandes mamíferos, incluido el hombre. Estudios que permitan develar la distribución y dinámica de estos patógenos y que investiguen sus determinantes, serían de mucha utilidad para valorar el riesgo para la salud pública y sanidad animal. El objetivo del presente trabajo es evaluar el papel de los roedores sigmodontinos en la ecoepidemiología de *R. parkeri* en el delta del Paraná. Se presentan aquí resultados preliminares.

### Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en la Estación Experimental Delta del Paraná del INTA (34° 11' S, 58° 50' O), partido de Campana, provincia de Buenos Aires, Argentina. Se capturaron roedores sigmodontinos por tres días consecutivos cada cinco semanas desde septiembre de 2010 hasta octubre de 2012. En cada ocasión se dispusieron 224 trampas de captura viva tipo Sherman y Ugglan. Los roedores capturados fueron anestesiados mediante la inhalación de isofluorano y sacrificados por dislocación cervical. Las muestras de tejidos fueron conservadas a -20° y las carcasas en bolsas individuales en etanol 96° para luego ser procesadas en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades (Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, CONICET-UNL). Para el diagnóstico de *R. parkeri* se realizaron técnicas de PCR en tiempo real a partir de muestras de pulmón mediante la amplificación de los genes *OmpA* y *gltA*, para la detección de anticuerpos sanguíneos se utilizó inmunofluorescencia indirecta y con lupa binocular se detectaron y determinaron ectoparásitos. El estudio realizado fue observacional; longitudinal para variables que ejercen su efecto simultáneamente sobre toda la comunidad y transversal para variables medidas a nivel del hospedero. Los resultados fueron preliminarmente analizados empleando el test  $\chi^2$ .

### Resultados

Se capturaron 795 roedores sigmodontinos de los cuales las especies dominantes, y a las cuales se estu-

dió la presencia de *R. parkeri* hasta el día de la fecha, fueron: *Akodon azarae*, *Oxymycterus rufus* y *Oligoryzomys nigripes*. Se realizaron hasta el momento 236 serologías de las cuales el 29% fueron positivas a *R. parkeri*. Se encontró que *O. rufus* presentó los valores más elevados de seroprevalencia (37.5%,  $p < 0.01$ ), así como de prevalencia y abundancia media de *A. triste* (58 % y 19 respectivamente,  $p < 0.01$ ), vector de *R. parkeri*. *A. azarae* y *O. nigripes* presentaron los mismos valores de seroprevalencia (20%), siendo de 28% y 39% los valores de prevalencia de *A. triste*, respectivamente, y de 2 el de abundancia media ( $p < 0.01$ ). Se analizaron por PCR 251 muestras de pulmón de las cuales el 93% fueron negativas, mientras que a partir del 7% de las muestras se obtuvo un producto de amplificación similar al conseguido en el control positivo, por lo que se los consideró como "sospechosos" a *R. parkeri*.

### Discusión

Los resultados de serología obtenidos nos demuestran que los roedores estudiados estuvieron expuestos a *R. parkeri*, sin embargo, hasta el momento no hemos podido demostrar, mediante PCR en tiempo real, la presencia de este patógeno en tejidos de roedores sigmodontinos. Estudios más exhaustivos, como el cultivo en células vero de muestras de hígado conservadas a -80 C°, de aquellos roedores que arrojaron resultados sospechosos a *R. parkeri*, así como el análisis mediante PCR en tiempo real de larvas y ninfas colectadas a partir de los roedores captura-

dos, nos permitirán continuar investigando con el fin de comprender si, los roedores sigmodontinos del Delta del Paraná, participan como amplificadores de esta rickettsiosis o si su papel se centra en mantener en el ambiente a su vector, *A. triste*, siendo hospedadores de sus estadios inmaduros: larvas y ninfas.

### Bibliografía

1. Nava S, Elshenawy Y, Ereemeeva ME, Sumner JW, Mastropaolo M & Paddock. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg.Infect.Dis.* 2008 Dec; 14 (12):1894-7.
2. Nava S, Mangold AJ, Mastropaolo M, Venzal JM, Fracassi N & Guglielmone AA. Seasonal dynamics and hosts of *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) in Argentina. *Vet. Parasitol*, 2011 Apr ; 181 (2), 301-8.
3. Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RR & Paddock CD. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis, Argentina. *Emerg.Infect.Dis.* 2011 Jul; 17 (7), 1169-3.

**Palabras clave:** *Rickettsia parkeri*, roedores, Argentina.

- (1) Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, CONICET-UNL. Esperanza, Santa Fe, Argentina. [valecc1983@yahoo.com.ar](mailto:valecc1983@yahoo.com.ar)  
 (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Santa Fe, Argentina.

## *Microcavia australis* (Caviidae, Rodentia), un nuevo reservorio de *Trypanosoma cruzi*

*Microcavia australis* (Caviidae, Rodentia), a new reservoir of *Trypanosoma cruzi*

M. Carla Cecere<sup>1,2\*</sup>, Marta V. Cardinal<sup>1,2</sup>, Juan P. Arrabal<sup>1,3</sup>, Claudio Moreno<sup>4</sup>, Ricardo E. Gürtler<sup>1,2</sup>

Diferentes especies de mamíferos actúan como hospedadores reservorios de *Trypanosoma cruzi*, el parásito flagelado agente causal de la Enfermedad de Chagas. Entre los roedores, el papel epidemiológico de los caviomorphos ha sido escasamente evaluado considerando la extensión de sus áreas de distribución geográfica y el papel significativo de *Cavia porcellus* (cuis doméstico). En este estudio se evaluó la presencia de *T. cruzi* en *Microcavia australis* ("cuis chico") y su competencia como reservorio en cuatro comunidades rurales en Tafí del Valle, Tucumán, el noroeste argentino.

### Materiales y métodos

La detección del parásito fue realizada mediante xenodiagnóstico y/o reacción amplificada de la reacción en cadena de la polimerasa de la región hipervariable del ADN del cinetoplasto de *T. cruzi* (kDNA-PCR) a partir de muestras de sangre. Un total de 51 cuises fue capturado con trampas tipo Tomahawk instaladas próximas a las viviendas.

### Resultados

La infección por *T. cruzi* fue registrada por primera vez en *M. australis*. Los cuises presentaron muy altas prevalencias de infección por *T. cruzi* (46.3%; 95% intervalo de confianza, CI = 33.0-59.6%) (Tabla 1). Solamente uno (4%) de 23 cuises negativos por xenodiagnóstico fue hallado infectado por kD-

NA-PCR. Solamente TcI fue identificado entre 12 cuises con xenodiagnóstico positivo. La infectividad a *T. infestans* de los cuises positivos por cualquiera de los métodos fue 55.8% (95% CI= 48.4-63.1) y excedió el 80% en el 44% de los hospedadores. La frecuencia de cuises con baja ( $\leq 60\%$ ) o alta ( $\geq 80\%$ ) infectividad al vector no se asoció de forma significativa con el índice de masa corporal ( $\chi^2= 0,47$ ,  $df= 1$ ,  $P= 0,5$ ) o el sexo ( $\chi^2= 0,83$ ,  $df= 1$ ,  $P= 0,4$ ) (Tabla 2). EL análisis de regresión logística agrupando por individuo no detectó diferencias estadísticamente significativas de la infectividad por sexo (odds ratio, OR= 0,65, IC 95%= 0,18-2,27), la longitud del cuerpo (OR= 0,55, IC 95%= 0,29-1,05), y el peso (OR= 1,0, IC 95%= 0,99-1,0) (Wald  $\chi^2= 4,66$ ,  $df= 3$ ,  $p> 0.198$ ).

**Tabla 1.** Prevalencia de infección por *T. cruzi* en *M. australis* determinada por xenodiagnóstico y por kDNA-PCR en cada vivienda y comunidad

Comunidad	% prevalencia infección (N° examinado) por			
	Casa	Xenodiagnóstico	kDNA-PCR <sup>a</sup>	Cualquiera de los métodos
Quilmes	1	70 (10)	0 (4)	63 (11)
de Abajo	2	43 (7)	25 (8)	42 (12)
	3	42 (12)	14 (7)	50 (12)
Quilmes	6	50 (2)	0 (1)	50 (2)
Centro	7	0 (1)	0 (2)	0 (2)
Anjuana	9	100 (1)	100 (1)	100 (2)
El Bañado	11	50 (2)	0 (1)	50 (2)
	12	14 (7)	0 (6)	14 (7)
Total		45 (42)	19 (30)	46 (50)

a. Solo cuises negativos o no testeados por xenodiagnóstico fueron examinados por kDNA-PCR.

## Discusión

Los cuises son importantes hospedadores reservorios de *T. cruzi* en ambientes peridomésticos y semi-selváticos cercanos a las viviendas en el noroeste de Argentina.

## Bibliografía

- Jansen, A.M., Roque, A.L.R. 2010. Domestic and wild mammalian reservoirs, in: American Trypanosomiasis Chagas Disease. One Hundred Years of Research. Telleria, J., Tibayrenc, M. (Eds.). Elsevier, pp. 249-276.
- Zingales, B., Miles, M.A., Campbell, D.A., Tibayrenc, M., Macedo, A.M., Teixeira, M.M.G., Schijman, A.G., Llewellyn, M.S., Lages-Silva, E., Machado, C.R., Andrade, S.G., Sturm, N.R. 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Inf. Genet. Evol.* 12, 240-253.

**Tabla 2.** Prevalencia de infección con *T. cruzi* e infectividad a *T. infestans* de *M. australis* según sexo e índice de masa corporal.

Atributos	Infección por								
	cualquiera de los dos métodos <sup>a</sup>			sólo por xenodiagnóstico			Infectividad al vector		
	N° examinado	Media (%)	95% IC	N° examinado	Media (%)	95% IC	N° examinado	Media (%)	95% IC
<b>Sexo</b>									
Hembra	25	48.3	30.0-66.5	22	46.1	26.9-65.4	10	60.7	50.3-71.2
Macho	25	44.8	26.7-62.9	20	45.8	25.8-65.8	10	51.3	41.0-61.2
<b>Índice de masa corporal (g/cm)</b>									
5-12.6	19	21.0	27.6-54.7	18	27.1	8.5-45.7	4	51.3	35.6-67.0
13.1-17.5	30	61.8	45.5-78.2	24	60.8	42.6-78.9	16	56.8	48.6-65.1

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, reservorio, caviomorfos.

(1) Laboratorio de Eco-Epidemiología, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

(2) Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB), CONICET.

(3) Instituto Nacional de Medicina Tropical-Ministerio de Salud (INMeT), Puerto Iguazú, Misiones, Argentina.

(4) Coordinación Nacional de Control de Vectores (CNCV). San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

carla@ege.fcen.uba.ar

## Detección del serotipo 4 de virus dengue (DEN-4), genotipo II, en Argentina, 2013

Detection of dengue virus serotype 4 (DEN-4), genotype II, Argentina, 2013

Cintia Fabbri<sup>1</sup>, María A. Morales<sup>1</sup>, Victoria Luppo<sup>1</sup>, Delia Enria<sup>1</sup>, Silvana Levis<sup>1</sup>

Desde su introducción en América en 1981, el virus DEN-4 ha circulado continuamente en la región del Caribe y en el norte de América de Sur, con escasa diseminación en el resto de Sudamérica durante los siguientes 25 años. Se ha reconocido la existencia de 3 genotipos para este serotipo y hasta el momento sólo los genotipos I y II han sido detectados en América.

En Argentina, luego de la primera detección de DEN-4 realizada en 2010 en la provincia de Santa Fe, el virus volvió a ser detectado en el 2013. Entre las semanas epidemiológicas 1 a 52 de 2013, fueron notificados 9294 casos sospechosos de dengue, con 2921 casos confirmados entre autóctonos e importados. Este trabajo presenta el aislamiento del virus DEN-4 en Argentina durante el 2013 y las características genéticas de las cepas circulantes en las provincias de Salta y Córdoba.

### Materiales y métodos

En el Centro Nacional de Referencia (INEVH "Dr. Julio I. Maiztegui", ANLIS) se procesaron muestras de suero de 66 casos de dengue ocurridos en 2013, que habían tenido resultado positivo en laboratorios provinciales por técnicas moleculares y/o detección de antígeno NS1 para dengue. Se utilizaron las técnicas de RT-PCR, qRT-PCR y aislamiento viral para la corroboración del serotipo. Se realizó secuenciación genómica de un fragmento de 2000 pb, amplificándose el gen completo que codifica para la proteína de la envoltura (E) y un fragmento del gen que codifica para la proteína precursora de la membrana (prM). Las secuencias obtenidas se compararon con la cepa aislada en Argentina durante el año 2010 y con otras cepas de virus DEN-4 de diferentes genotipos y áreas geográficas disponibles en el GenBank. El alineamiento fue realizado empleando el método de Clustal W implementado en el programa BioEdit. Se realizó análisis filogenético por el método de Neighbour Joining y análisis Bayesiano para la caracterización del genotipo.

### Resultados

De 66 muestras estudiadas, se identificaron por RT-PCR y/o qRT-PCR 11 cepas de virus DEN4 (Córdoba 4, Salta 5, Tucumán 1, Buenos Aires 1) 6 de las cuales fueron además aisladas en cultivos de células. Las 48 cepas restantes estudiadas correspondieron a los serotipos DEN-1 y DEN-2. Para la genotipificación se amplificaron 8 cepas, obteniéndose amplicones en 3 de ellas (Salta 2, Córdoba 1). El análisis filogenético realizado sobre 978 nucleótidos mostró que las cepas de DEN-4 con circulación autóctona durante 2013 correspondieron al genotipo II, resultando idénticas entre ellas, y con menos del 1% de

diferenciación de nucleótidos con respecto a la circulante en 2010.

### Conclusiones

Se ha detectado el genotipo II de DEN-4 en las cepas estudiadas procedentes de las provincias de Córdoba y Salta, evidenciando una expansión de la circulación de este serotipo en nuestro territorio en 2013. El genotipo II ha circulado mayoritariamente en el continente con cepas aisladas en Venezuela, Puerto Rico, Ecuador, Méjico, Brasil, Surinam y Tahití. La introducción del genotipo I del virus DEN-4 ha sido documentada recientemente en Brasil. El serotipo 4 de virus DEN es uno de los que menor circulación ha tenido en el Cono Sur y en Argentina, por lo que su diseminación geográfica y la alta disponibilidad de población susceptible alerta sobre la posibilidad de emergencia de futuras epidemias en la región.

### Bibliografía

1. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992 Mar;30(3):545-51.
2. Johnson BW, Russell BJ, Lanciotti RS. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol* 2005 Oct; 43(10):4977-83.
3. Nunes MR, Faria NR, Vasconcelos HB, Medeiros DB, Silva de Lima CP, Carvalho VL, Pinto da Silva EV, Cardoso JF, Sousa EC Jr, Nunes KN, Rodrigues SG, Abecasis AB, Suchard MA, Lemey P, Vasconcelos PF. Phylogeography of dengue virus serotype 4, Brazil, 2010-2011. *Emerg Infect Dis* 2012 Nov;18(11):1858-64.
4. Jerome E Foster, Shannon Bennett, Helen Vaughan, Vance Vorndam, W. Owen McMillan and Christine V.F. Carrington. Molecular evolution and phylogeny of dengue type 4 virus in the Caribbean. *Virology* 2003; 306: 126-134.

**Palabras clave:** virus dengue, genotipo, Argentina.

(1) Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui"- ANLIS. Pergamino. Buenos Aires. Argentina.  
inevhmaiztegui@anlis.gov.ar

## Enfermedad de Chagas en el sistema nervioso central en paciente con infección por HIV/SIDA: a propósito de un caso con dificultades diagnósticas y terapéuticas

**Chagas disease in central nervous system in patient with human immunodeficiency virus infection: report of a case with diagnostic and therapeutic challenges**

Federico Simioli<sup>1</sup>, Milagro Sanchez Cunto<sup>1</sup>, Esteban Couto<sup>1</sup>,  
Susana Lloveras<sup>1</sup>, Jorge Wallach<sup>1</sup>, Tomas Orduna<sup>1</sup>

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una antropozoonosis endémica en Latinoamérica causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Se presenta un cuadro de reactivación chagásica con compromiso en sistema nervioso central (SNC), que presentó dificultades en el manejo terapéutico a raíz de la toxicidad de los fármacos disponibles para ésta patología.

### Caso clínico

Paciente de sexo femenino, de 36 años, oriunda de Los Ralos, Tucumán, con antecedentes de infección por HIV desde 2002, sin tratamiento antirretroviral, ni controles por su enfermedad, y de infección por *T. cruzi* y toxoplasmosis. Recuento actual de LT CD4+: 79 cél/ul (8%). Ingresó por síndrome convulsivo. Al examen físico presentaba paresia braquiocrural izquierda y facial central derecha, ataxia, disimetría y nistagmus. En la RNM de cerebro con contraste se observaba extensa área de señal patológica hiperintensa en FLAIR, T2 y difusión con discreto efecto de masa y algunos sectores de refuerzo heterogéneo luego de inyectado el contraste en proyección córtico-subcortical ingresando a los pedúnculos cerebelosos del lado derecho y con extensión al tronco cerebral e imágenes de similar comportamiento de señal aunque sin efecto de masa ni refuerzo con el contraste en la proyección córtico-subcortical frontal lateral a predominio izquierdo. Se inició tratamiento empírico para toxoplasmosis cerebral con pirimetamina y sulfadiazina. Se realizó punción lumbar, obteniéndose líquido cefalorraquídeo límpido, incoloro, proteínas: 0.47 mg/dl, glucosa: 78 mg/dl, células 11/mm<sup>3</sup> (mononucleares: 100%) con directo y cultivo bacteriológico, micológico y para micobacterias: negativos, no se observaron parásitos, PCR para HSV 1 y 2, VZV, CMV, HV6 y EBV: negativas. Se realizó microhematocrito de Strout en dos oportunidades, no observándose parásitos.

Exámenes de laboratorio al ingreso: ERS: 40 mm, Hto: 40.2% Hb: 13.5 g/dl, glóbulos blancos: 3200/uL, plaquetas 155.000/uL, tiempo de protrombina 85%, Aptt 41.9", glucemia 102 mg/dl, urea 28 mg/dl, creatinina 0.6 mg/dl, Na<sup>+</sup> 140 mmol/L, K<sup>+</sup> 3.5 mmol/L, TGO 187 U/l, TGP 97 U/l, LDH 266 U/l, proteínas totales 8.3 g/dL, albúmina 3.6 g/dL, VDRL, HBsAg, antiHBc no reactivos, HCV: CV 14.279.000 copias (7.16log). Radiografía de tórax, ECG y ecocardiograma normales.

Luego de dos semanas de instituido el tratamiento, el síndrome cerebeloso progresó, agregándose disartria y bradipsiquia. Se decidió adicionar benznidazol al esquema terapéutico, ante la presunción de que el cuadro fuese una reactivación de la infección chagásica. Se realizó PCR para Chagas en plasma que fue positiva. La paciente evolucionó con mejoría del cuadro clínico y de las imágenes, otorgándose alta hospitalaria.

Durante la terapéutica antichagásica con benznidazol presentó efectos adversos: plaquetopenia y aumento de transaminasas a los 15 días, por lo que se decidió cambiar a nifurtimox; con éste último presentó neuropatía periférica (día 11) por lo cual se reinstauró el benznidazol, ante la falta de otra alternativa. La paciente no cumple los controles pautados ambulatorios, concurriendo al servicio de guardia con cuadro febril y pancitopenia a la semana de reiniciar benznidazol, complicándose con cuadro de falla multiorgánica de presunta etiología séptica. La paciente fallece a las 24 horas.

## Discusión

Las formas graves de la tripanosomiasis americana que se observan en pacientes con sida son generalmente el resultado de la reactivación de una infección crónica previa, hasta ese momento oligosintomática o asintomática. Las formas de presentación más frecuentes son aquellas con compromiso neurológico como masas cerebrales o meningoencefalitis difusa aguda y también miocarditis, presentando elevada mortalidad. Ante la sospecha de una reactivación chagásica el método diagnóstico es la observación directa del parásito, tanto en sangre, LCR o tejidos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta que permite amplificar secuencias de ADN del parásito con alta especificidad y sensibilidad. Aunque no es una prueba de rutina, puede ser útil en casos en los cuales la serología es dudosa y la parasitemia o parasitorraquia son negativas.

Desde el punto de vista terapéutico sólo se cuenta con dos drogas antiparasitarias, nifurtimox y benznidazol, ambas con potenciales efectos colaterales y adversos graves, por lo cual los pacientes deben tener un estricto seguimiento médico, para el reconocimiento temprano de los mismos y la suspensión del fármaco en uso. En ocasiones puede ser necesario re-exponer al paciente a una droga que ya ha generado efectos adversos, en función de la gravedad del cuadro clínico, lo que puede aparecer mayor probabilidad de incidencia de nuevas toxicidades.

## Conclusión

Si bien la presencia de una lesión expansiva cerebral en pacientes HIV/Sida obliga a pensar como pri-

mer diagnóstico en toxoplasmosis cerebral, existen otros diagnósticos a tener en cuenta como leucoencefalopatía multifocal progresiva, tuberculomas, criptocomas, nocardiosis, abscesos piógenos y linfoma primario del SNC.

En Latinoamérica y en países con migrantes provenientes de áreas endémicas para enfermedad de Chagas, ésta patología debería ser considerada dentro de los diagnósticos diferenciales de masa ocupante cerebral, asociada o no a otros focos de reactivación, en pacientes con HIV/Sida.

El diagnóstico de la reactivación de la enfermedad de Chagas en pacientes con HIV/Sida debe ser efectuado lo más precozmente posible, ya que un tratamiento adecuado mejora el pronóstico y la supervivencia de estos pacientes. A pesar que el tratamiento etiológico para Chagas puede ocasionar efectos adversos, es importante instituirlo lo antes posible y realizar un control médico estricto para la detección de los mismos y una rápida suspensión de la droga en uso.

## Bibliografía

1. Guías para la atención al paciente infectado con *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de Chagas). Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación, 2012.
2. Corti M. Enfermedad de Chagas y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. *Rev Esp Enferm Emerg* 2003;5:13-7.
3. E.A. Almeida, A. N. Ramos Jr, D. Correia, and M. A. Shikanai-Yasuda, "Co-infection *Trypanosoma cruzi*/HIV: systematic review (1980–2010)," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 44, no. 6, pp. 762–770, 2009.
4. I. Martínez, A. Cervantes-Landín y B. Espinoza. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Médica de México*. 2013;149:363-5.

**Palabras clave:** HIV, Chagas, reactivación, PCR.

(1) Hospital de enfermedades infecciosas F.J. Muñiz. CABA. Argentina.  
cempramt@intramed.net

## Evaluation of immune responses and protection induced by the *Leishmania antigen* LOxy with MPLA or CpG adjuvants against *Visceral Leishmaniasis*

Leopoldo Ferreira Marques Machado<sup>1</sup>, Adriana Monte Cassiano Canavaci<sup>1</sup>, Vivian T. Martins<sup>2</sup>, Frederico Crepaldi Nascimento<sup>1</sup>, Angela Vieira Serufo<sup>1</sup>, Eduardo Antonio Coelho<sup>2</sup>, Carolina Junqueira Giusta<sup>3</sup>, Ricardo Tostes Gazzinelli<sup>3</sup>, Ana Paula Fernandes<sup>1</sup>

Visceral Leishmaniasis is a neglected, however severe disease caused by protozoa parasites *Leishmania infantum* and *Leishmania donovani*, that leads to approximately 500,000 new cases and 50,000 deaths annually in the world. The LOxy antigen is a leishmania hypothetical protein, member of the super-oxygenase family, identified in a *L. infantum* immunoproteomic study. The LOxy antigen was previously tested with saponin adjuvant showing good results of immunogenicity and protection against visceral leishmaniasis. The TLR-4 agonist monophosphoryl Lipid-A (MPLA) and the TLR-9 agonist CpG are strong Th1 adjuvants. Aiming confirm the LOxy immunogenic properties and obtain a better vaccine alternative for VL, we conducted an immunization scheme with these two adjuvants. Recombinant LOxy protein was expressed in *Escherichia coli* and purified. BALB/c mice were vaccinated subcutaneously with rLOxy plus MPLA or rLOxy plus CpG+Alum or Saline. Three doses were administered with 2-week intervals. Humoral response and IFN- $\gamma$  production were checked by ELISA. Mice were then challenged subcutaneously with  $10^7$  *L. infantum* stationary-phase promastigotes through their right hind footpad and the parasite burden of liver and spleen was evaluated after 45 days by qPCR. Both groups, rLOxy+MPLA and rLOxy+CpG+Alum vaccinated mice, showed significant specific anti-

bodies and IFN- $\gamma$  production compared with the Saline group. The parasite burden was also reduced in the vaccinated groups as compared with Saline. Significant difference between the two adjuvant immunized groups was not seen however. The LOxy antigen when combined with Th1-type adjuvants presented good immunogenicity, inducing protection, and may be a good candidate to develop vaccines against VL. Financial support: INCTV, CNPq, CAPES.

### References

1. Martins VT, Chávez-Fumagalli MA, Costa LE, Canavaci AMC, Lage PS, et al. Antigenicity and protective efficacy of a *Leishmania* amastigote-specific protein, member of the super-oxygenase family, against visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7(3): e2148.
2. Raman VS, Duthie MS, Fox CB, Matlashewski G, Reed SG. Adjuvants for *Leishmania* vaccines: from models to clinical application. *Front Immunol* 2012, 3:144.
3. Coelho VTS, Oliveira JS, Valadares DG, Chávez-Fumagalli MA, Duarte MC, Lage PS, et al. Identification of proteins in promastigote and amastigote-like *Leishmania* using an immunoproteomic approach. *PLoS Negl Trop Dis* 2012, 6(1): e1430.
4. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, Den Boer M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012, 7(5): e35671.

**Palabras clave:** Leishmania, adjuvant, vaccine.

(1) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

(2) Setor de Patologia Clínica, Colegio Técnico, Universidade Federal de Minas Gerais.

(3) Laboratório de Imunopatologia, Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ.

dricanavaci@hotmail.com

# Producción recombinante de antígenos en el desarrollo de un método serológico para la detección de encefalitis flavivirales de importancia local

## Production of recombinant antigens in the development of a serological method for the detection of viral encephalitis with local significance

Matías Lorch<sup>1</sup>, Sandra Goñi<sup>1</sup>, Betina Stephan<sup>1</sup>, Lorena Spinsanti<sup>2</sup>, Priscila Pubul<sup>1</sup>, Ivana Varchavsky<sup>1</sup>, Marta Contigiani<sup>2</sup>, Mario Lozano<sup>1</sup>

El género *Flavivirus* está compuesto por un alto número de integrantes que se agrupan antigénicamente en complejos bien definidos. El virus de la encefalitis de *St. Louis* (SLEV) integra el complejo de la encefalitis Japonesa, y se ha constituido como una zoonosis emergente de importancia sanitaria en nuestro país desde el año 2002. En el año 2005 se produce, en la provincia de Córdoba, el primer brote fuera de Estados Unidos. Se han registrado casos de encefalitis por SLEV en 11 provincias, especialmente en zonas subtropicales y templadas<sup>1</sup>. Por otro lado, nuestro país enfrenta la emergencia del flavivirus *West Nile* (WNV), el cual ha provocado brotes importantes en Norteamérica luego de su introducción en el año 1999<sup>2</sup>.

Los ciclos de transmisión que mantienen activo a SLEV y WNV en América poseen como vector a mosquitos del género *Culex*. La amplificación viral ocurre en aves tales como palomas y gorriones, mientras que el hombre y los caballos actúan como hospedadores finales, ya que los títulos de viremia son insuficientes para infectar mosquitos vectores<sup>3</sup>.

El diagnóstico definitivo de una infección con flavivirus depende casi exclusivamente de la serología. Para su identificación se debe realizar el hallazgo de anticuerpos tipo inmunoglobulina M por la técnica de enzimoimmunoensayo de captura en suero o LCR. Sin embargo esta técnica no es capaz de diferenciar flavivirus antigénicamente relacionados como SLEV y WNV, tal que un resultado positivo debe ser confirmado por técnicas más específicas como el ensayo de Neutralización. Es necesario destacar que para este ensayo se emplean como antígenos los virus enteros obtenidos en cultivo celular, lo cual pone en evidencia la dificultad de manipular virus nocivos para los humanos y la imposibilidad de producir antígenos para otras cepas virales que aún no se han detectado en la región pero que circulan en países limítrofes.

Esta situación plantea la necesidad de desarrollar métodos de diagnóstico sencillos que permitan diferenciar una infección producida por estos agentes virales. El objetivo de este trabajo se centra en la expresión de la proteína recombinante NS1 de SLEV y WNV para generar antígenos que permitan establecer un ensayo serológico claro y preciso para determinar la identidad del agente etiológico que da lugar a un cuadro de infección relacionado con flavivirus.

### Materiales y métodos

En este trabajo se utilizaron las cepas CbaAr-4005 de SLEV y ArEq001 de WNV para el desarrollo de las siguientes actividades: diseño de *primers*, obtención de ARN viral, síntesis de ADNc, amplificación de los fragmentos de interés, clonado de los productos de amplificación, transferencia de los marcos abiertos de lectura a vectores de expresión, ensayos de expresión, purificación y estudio antigénico de las proteínas mediante Western Blotting.

### Resultados

Se amplificaron las regiones codificantes propuestas, clonándose luego en vectores comerciales y transfiriéndose al vector de expresión pET-22b. Este vector permite obtener la secuencia de NS1 unida a una cola de seis histidinas, generándose la proteína

recombinante NS1-HT. Se optimizaron las condiciones de expresión, obteniéndose buenos niveles de NS1-HT de cada virus. Se logró confirmar su identidad a través de Western Blotting con sueros específicos y con sueros comerciales que reconocen a la cola de histidinas fusionada en el extremo carboxilo.

### Discusión

Estos resultados marcan el comienzo del desarrollo de un nuevo método de diagnóstico que facilitaría tanto la detección y diferenciación de los agentes etiológicos SLEV y WNV en una infección en humanos, como el seguimiento epidemiológico de estos virus en animales.

Como perspectiva se plantea la alternativa, de clonar y expresar construcciones que contengan diferentes epítopes de la proteína NS1. Esta posibilidad

permitiría analizar la inmunogenicidad de distintas combinaciones de epítopes y así seleccionar los diferenciales para cada virus.

### Bibliografía

1. Spinsanti et al. St. Louis Encephalitis in Argentina: the

First Case Reported in the Last Seventeen Years. *Emerg Infect Dis* 2005; 9(2):271–273.

2. Diaz et al. West Nile Virus in birds, Argentina. *Emerging Infectious Diseases* 2008; 14(4):689-691.

3. Spinsanti et al. Eco epidemiology overview of St. Louis encephalitis in Córdoba, Argentina. *Revista Facultad de Ciencias Médicas* 2009; 66(1):52-59.

**Palabras clave:** Flavivirus, proteína no estructural<sup>1</sup>, diagnóstico.

(1) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular (LIGBCM), Área de Virosis Emergentes y Zoonóticas (AVEZ), DtoCyT, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina. [dcyt@unq.edu.ar](mailto:dcyt@unq.edu.ar). (2) Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología "Dr. Carlos Vanella" (InViV), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. [inviv@fcm.unc.edu.ar](mailto:inviv@fcm.unc.edu.ar)

## Participación doméstica en estrategias ambientales para el manejo sostenible en presencia de *Lutzomyia longipalpis* en Posadas, Misiones

Participation in domestic environmental strategies for sustainable management in the presence of *Lutzomyia longipalpis* in Posadas, Misiones

Karen López<sup>1,2</sup>, Ingrid Steinhorst<sup>1</sup>, José Busse<sup>1</sup>, Omar Yawny<sup>1</sup>, Fabricio Tejerina<sup>1</sup>, Lilian Tartaglino<sup>1</sup>, Soledad Santini<sup>3</sup>

Posadas, Misiones es área endémica de transmisión de Leishmaniasis Visceral (LV). Desde 2008 la Municipalidad de Posadas realiza tareas de promoción de la salud y prevención a nivel domiciliario y comunitario de la transmisión de enfermedades vectoriales. Ante la necesidad de transferir a la población metodologías de control del vector con el fin de horizontalizar las medidas de prevención locales efectivas, se llevó a cabo un ensayo de manejo ambiental con control sostenible de *Lu. longipalpis* en domicilios particulares de la ciudad. El objetivo del presente trabajo es describir las características y la participación del hogar familiar en el ensayo de manejo ambiental.

### MATERIAL Y METODOS

Diseño cuasi experimental, longitudinal, de caso/control y metodología cuanti-cualitativa. El estudio se realizó entre el 6/11 al 10/12 de 2013. Se seleccionaron 12 domicilios con gallineros y árboles en un radio de 10 m cercanos al gallinero, con abundancia de flebótomos (>30 individuos/trampa). En cada domicilio, se realizaron encuestas socioambientales, observación no participante, entrevistas semiestructuradas y 14 trapeos de flebótomos. Las variables observadas fueron: a) poda del árbol más cercano que generase sombra sobre el gallinero y b) eliminación de materia orgánica dentro y alrededor del gallinero. Se constituyeron aleatoriamente dos grupos de estudio con 6 domicilios cada uno. Los del grupo control solo recibieron intervención química (IQ) en el peridomicilio y los del grupo tratamiento además de la IQ realizaron actividades de manejo ambiental (MA).

### Resultados

De los 12 hogares relevados en los domicilios, el 66% es de tipo monoparental. En el 75% de los hogares que tenían gallinero, su manejo está a cargo de una mujer; en casi la mitad (5/12) la edad de la mujer es superior a 50 años; en 7 de 12 hogares, su cuidador/a se encuentra jubilado/pensionado. En el total de hogares, predomina (10/12) el estrato socioeconómico bajo. La antigüedad de los gallineros promedia los 15 años. Participación: los hogares según su rol asignado en el ensayo, facilitaron parcialmente la realización de las distintas actividades programadas: eliminación de materia orgánica de gallineros y poda de árboles. Las actividades pudieron estar determinadas por la representación que sobre la cría de gallinas y el manejo de gallineros tienen sus integrantes además del hecho de que una parte de ello es población adulta (jubilados y

pensionados, hogares incompletos, etc.) con disminuidas condiciones de trabajo para la realización de actividades como poda o la misma limpieza cotidiana del gallinero; a lo que debe sumarse su *status* en relación a las aves: propietario/cuidador (rentado/no rentado) que condicionaría la toma de decisión respecto de qué hacer con las aves en situación de crisis de salud; y la función que la cría de gallinas en el domicilio tiene para el hogar: "alimento" (huevo y carne) o pasatiempo (mascota). Se encontraron 2/12 casos donde la tenencia de gallinas era considerada una continuidad del rol de parientes fallecidos y esperaban que con el tiempo la muerte (sin sacrificio) de las aves los librara de este rol.

### Discusión

El análisis realizado hasta el momento, sustenta la hipótesis que en actividades domiciliarias para el desarrollo de estrategias de vigilancia y control vectorial para leishmaniasis se deben considerar variables socioculturales como el género y la condición socio-ocupacional de la población destinataria, especialmente, aquella con capacidad de decidir cómo, cuánto, dónde y por qué realizar tales o cuales

acciones dentro de las prácticas cotidianas que vinculan: preocupación por la salud de sus integrantes, recomendaciones y solicitudes de las agencias de salud y demás actividades reproductivas del grupo familiar como el manejo de gallineros y el usos de árboles implantados o no como recurso para la sombra.

### Bibliografía

1. Alexander B, de Carvalho R.L., McCallum H, Pereira M.H. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis* Dec 2002; 8(12): 1480–1485.
2. Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis. 2012. Ginebra, 22 a 26 de marzo de 2010. OMS. Serie de informes técnicos; 949) 137-143.
3. Cronick, Karen. Facilitación social del control del vector de leishmaniasis en una comunidad. *PSICOLOGÍA/Segunda época/* 2011; 30(1): 37-62.
4. Calvez, Marcel. La construction culturelle des risques de santé, In: Bonah C, Haxaire C, Mouillié JM, Penchaud AL, Visier L (dir.), *Médecine, santé et sciences humaines. Collection Médecine & sciences humaines*, Paris, les Belles Lettres, 2011:513-518.

(1) Instituto Municipal de Vigilancia y Control de vectores. Municipalidad de Posadas, Misiones. (2) Universidad Nacional de Misiones. (3) Programa Nacional de Leishmaniasis. [laboratoriodevectores@gmail.com](mailto:laboratoriodevectores@gmail.com)

## Identificación molecular de *Rickettsia massiliae* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* colectadas en el barrio Los Piletones, Villa Soldati

### Molecular identification of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected from Los Piletones suburb, Villa Soldati

Eliana Guillemi<sup>1</sup>, Marcela Martinez Vivot<sup>2</sup>, Ludmila Lopez Arias<sup>1</sup>, Diego Alvarez<sup>2</sup>, Marisa Farber<sup>1</sup>

Las bacterias del género *Rickettsia* son patógenos intracelulares obligados, cocobacilares Gram negativos, pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae*, orden *Rickettsiales*, subdivisión  $\alpha$ - Proteobacteria. Este género de bacterias ha sido clasificado a su vez en cinco grupos: grupo Tifus (TG), grupo de la fiebre manchada (SFG), grupo tradicional (TRG), grupo *bellii* (BG) y grupo canadensis (CG). En las últimas décadas se ha incrementado el hallazgo de *Rickettsias* con patogenicidad desconocida, muchas de ellas aisladas de garrapatas. Algunas de estas bacterias anteriormente no eran consideradas de riesgo, sin embargo, recientemente han demostrado ser patógenas para humanos, tal es el caso de las *Rickettsias* pertenecientes al SFG *R. slovacae*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae* y *R. monacensis* en Europa. En varios países de América del Sur han sido recientemente descubiertas nuevas enfermedades transmitidas por garrapatas causadas por rickettsiales del grupo SFG. Incluso, se han reportado brotes familiares con un alto porcentaje de casos fatales, especialmente en áreas con condiciones sanitarias deficientes dado que en general, la probabilidad de emergencia de casos de rickettsiosis está asociada a factores ambientales y ecológicos y a situaciones de vulnerabilidad socio-económica. El objetivo del presente trabajo fue la identificación de bacterias del género *Rickettsia*, potencialmente patógenas, presentes en garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus*, recolectadas de perros del barrio Los Piletones de Villa Soldati, Ciudad de Buenos Aires.

## Materiales y métodos

En el marco del proyecto “Un Mundo una Salud, Prácticas Pre-Profesionales Solidarias en áreas de riesgo sanitario de Villa Soldati”, se llevaron adelante durante el año 2013 actividades de diagnóstico, prevención y control de enfermedades zoonóticas. El barrio Los Piletones de Villa Soldati, se encuentra ubicado en la Región Sur de la Ciudad de Buenos Aires, dentro de la comuna 8. Este barrio ha sido declarado en “riesgo sanitario” desde el año 2006 por el gobierno de la ciudad. Ente las actividades que se desarrollaron, se recolectaron muestras de garrapatas *R. sanguineus* (garrapata común del perro) de los caninos que acudieron al servicio veterinario durante los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre del año 2013. Las garrapatas provenientes de un mismo animal fueron clasificadas en 2 grupos discriminando únicamente entre machos y hembras. Para realizar la extracción de ADN a partir de las garrapatas, se procedió a pulverizarlas con nitrógeno líquido en mortero, luego se agregó 1 ml de Buffer de lisis y Proteínasa K a una concentración final de 100 µg/ml. Esta solución se incubó a 56 °C durante 12 hs. Pasado este tiempo se procedió a realizar la extracción del ADN por el método de fenol-cloroformo. Para realizar la identificación y correcta clasificación de las bacterias del género *Rickettsia* se procedió a amplificar el fragmento de cuatro genes que permiten distinguir las distintas especies del género. En primer término y a fin de identificar a las muestras de garrapatas positivas a *Rickettsias*, se amplificó un fragmento del gen que codifica para la enzima citrato sintasa (*gltA*). A continuación, sobre las muestras positivas, se efectuó una segunda reacción de PCR que permite distinguir al grupo de la fiebre manchada (SFG) a través de la detección de una región del gen *ompA*, que codifica para la proteína de membrana externa de 190 KDa, específica de este grupo. A fin profundizar la caracterización de la especie de *Rickettsia*, a las muestras positivas, se les realizaron dos ensayos de PCR adicionales, una de ellas haciendo blanco en el gen *htrA* (gen de la proteína antigénica de membrana externa de 17kDa) y la otra en el gen *ompB* (proteína de membrana externa B). Las reacciones se realizaron en un volumen final de 50 µl utilizando la ADN Polimerasa GoTaq (Promega). Los productos amplificados de los cuatro genes fueron visualizados mediante la técnica de electroforesis en un gel de agarosa al 1% sembrando 5 µl del producto de PCR. Los 45 µl restantes de las reacciones positivas fueron enviados a secuenciación a fin de efectuar los estudios de similitud que permitieron la identificación inequívoca de la especie de *Rickettsia*. Para el análisis de las secuencias se utilizó el pro-

grama Vector NTI Advanced 9 para el ensamblado y BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) para la comparación contra la base de datos GenBank.

## Resultados

Con el criterio propuesto para agrupar las garrapatas, se conformaron 15 pooles. Tres de los 15 pooles resultaron positivos a las reacciones de PCR para los genes *gltA*, *htrA*, *ompA* y *ompB*. De estos tres pooles, dos correspondían a hembras adultas Teleoginas y uno a machos. Las muestras positivas de los genes *ompA*, *ompB* y *htrA* fueron enviadas a secuenciar. Los archivos conteniendo los electroferogramas provenientes del Servicio de Secuenciación se recibieron en formato .ab1. Se construyeron los contigs y se verificó manualmente la calidad de los electroferogramas. Posteriormente y utilizando la herramienta BLAST, se compararon los archivos en formato FASTA contra las bases de datos GenBank del NCBI (National Center for Biotechnology Information) y se obtuvo para los tres genes analizados un 100% de identidad con las secuencias correspondientes a los mismos genes de *R. massiliae* en las muestras de los tres pooles.

## Discusión

En el presente trabajo se reporta la identificación molecular de *R. massiliae* en garrapatas de la especie *R. sanguineus* que se encontraban parasitando caninos en el barrio en “riesgo sanitario” Los Piletones de Villa Soldati. Esta especie de *Rickettsia* es considerada patógena para humanos. Si bien *R. sanguineus* tiene preferencia por alimentarse de caninos, y los reportes de picaduras a humanos por parte de esta especie de garrapata son raros, se ha verificado que todos los estadios de *R. sanguineus* parasitan humanos. Por lo antedicho, los resultados de este trabajo ponen en evidencia el potencial riesgo sanitario para la comunidad ante la exposición a la garrapata común del perro. El análisis a futuro del comportamiento alimenticio de las garrapatas, a través del análisis de las *blood meals*, permitirá determinar la diversidad de hospedadores mamíferos a fin de contribuir a programas de vigilancia epidemiológica para la prevención de ocurrencia de casos de rickettsiosis humana.

## Bibliografía

1. Jones KE, Patel NG, Levy MA. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 2008. 451: 990-993.
2. Gillespie JJ, Beier MS, Rahman MS, Ammerman NC, Shallom JM, Purkayastha A. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. *PLoS ONE* 2007; 2:e266.

3. Parola P, Davoust B, Raoult D. Tick and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet Res* 2005; 36:469-492
4. Dantas-Torres F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet. Parasitol* 2008; 152:131-138

**Palabras clave:** *Rickettsia massiliae*, *Rhipicephalus sanguineus*.

(1) Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones de Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA, Castelar, Buenos Aires, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Argentina. [eguillemi@cni.inta.gov.ar](mailto:eguillemi@cni.inta.gov.ar)

## Evaluación de desempeño de la técnica de ELISA NS1 de virus Dengue (DEN) en la Red Nacional, 2013

**Field evaluation of an NS1 dengue virus (DEN) antigen ELISA: Dengue and other Arboviruses Laboratory Network experience during 2013**

MA. Morales<sup>1</sup>, G. Castro<sup>2</sup>, M. Figueredo<sup>2</sup>, S. Lejona<sup>2</sup>, R. Fontana<sup>2</sup>, ME. Garay<sup>2</sup>, G. Barbas<sup>1</sup>, M. Borda<sup>2</sup>, C. Ubeid<sup>2</sup>, AD. Fridman<sup>2</sup>, G. Gregory<sup>2</sup>, CM. Fabbri<sup>1</sup>, VC. Luppo<sup>1</sup>, G. Poustis<sup>1</sup>, S. Catalayud, S. Giamperetti<sup>1</sup>, M. Ovejero<sup>2</sup>, MD Foussal<sup>2</sup>, D. Costas<sup>2</sup>, D. Carrizo<sup>2</sup>, N. Filomarino<sup>2</sup>, G. Bravo<sup>2</sup>, V. Minervin<sup>2</sup>, G. Cabral<sup>2</sup>, MB. Robles<sup>2</sup>, G. Achkar<sup>2</sup>, G. Rompató<sup>2</sup>, DM. Enría<sup>1</sup> y S. Levis<sup>1</sup>

El dengue es un problema creciente de Salud Pública en Argentina. Desde su reemergencia en 1997, los cuatro serotipos virales fueron detectados en diferentes años y provincias. Si bien la situación de Argentina en relación a los países limítrofes muestra que, el número de casos es, en general, significativamente menor a los países vecinos, se está registrando un crecimiento proporcional mayor en nuestro país. Durante las semanas epidemiológicas 1-52 del 2013 fueron registrados brotes de dengue en 17 localidades de 7 provincias con circulación de los serotipos DEN1, DEN2 y DEN4, con 9294 casos sospechosos de dengue y 2921 casos estudiados por laboratorio entre autóctonos e importados. La técnica de enzimoimmunoensayo (ELISA) para la detección de NS1 fue introducida en el algoritmo diagnóstico de dengue que emplea la red nacional de laboratorios a finales de 2009. El objetivo de su utilización fue para el procesamiento de muestras de 5 o menos días de evolución, conjuntamente a los métodos existentes para detección molecular del genoma viral y al aislamiento viral en cultivos celulares. La evaluación en terreno realizada en la red nacional durante el 2010 procesando en paralelo 376 muestras de suero por detección de genoma por RT-PCR convencional para los cuatro serotipos y la detección del antígeno NS1 determinó un índice Kappa (K) de 0.82, con predominio de circulación del DEN-1 en esa temporada. Durante el 2011 se produjo un incremento de la circulación del serotipo 2 y al analizar los resultados obtenidos en 376 muestras, se obtuvo un K= 0.89, con una sensibilidad y especificidad general de 93% y 96% respectivamente. Esa sensibilidad varió al analizar por serotipos, determinando 89% para DEN-2 y 98% para DEN-1. Esta situación alertó sobre dificultades que el reactivo comercial pudiera tener para la detección de algunos serotipos en particular y se intensificó el control de desempeño de la metodología. El objetivo del trabajo realizado en el marco de la Red Nacional de Laboratorios para diagnóstico de Dengue y otros Arbovirus fue comparar el desempeño en terreno de la técnica de ELISA Ag NS1 vs la RT-PCR para los serotipos DEN-1, 2, 3 y 4 aplicadas al estudio de muestras agudas de pacientes con sospecha clínica de dengue.

### Materiales y métodos

Se estudiaron 1562 muestras de casos notificados durante el 2013, obtenidas en la fase aguda de la enfermedad y procedentes de 11 provincias argentinas. Los sueros se procesaron empleando un reactivo comercial para detectar el Ag NS1 DEN (Laboratorios

Bio-Rad) de acuerdo a las instrucciones del fabricante y por RT-PCR<sup>1</sup>. Para estimar el nivel de concordancia entre los resultados de ambas técnicas se calculó el índice Kappa (K)<sup>2</sup>. Cuando se obtuvieron resultados discordantes, se sumaron datos de resultados de aislamiento viral en células C6/36 y/o se investigó la

presencia de anticuerpos IgM en la misma muestra o en una muestra con más días de evolución.

### Resultados

Los resultados preliminares obtenidos hasta el momento, muestran un índice de concordancia entre las técnicas de 0.83, con datos generales de sensibilidad y especificidad de 85.7% y 96,4 % respectivamente. Se detectaron 62 pacientes RT-PCR positivos y 938 pacientes RT-PCR negativos. Entre las muestras RT-PCR positivas, 85/624 (13,6%) resultaron NS1 negativas (21, 1% DEN-4, 76,5 % DEN-2 y 2.4 % DEN-1). En un grupo de muestras RT-PCR positivas (100% DEN-2), se detectaron 15 con resultados indeterminados para NS1 (6 de ellos con IgM en la misma muestra u en otra, 2 con resultados negativos de IgM), Los resultados preliminares en esas muestras no detectadas por NS1 son: presencia de anticuerpos IgM en la misma muestra o en una con más días de evolución en un 34% (30/89) y aislamiento viral en 7/11 muestras disponibles para el estudio (6/ 11 para DEN-2, 1/11 DEN-4, 1/11 negativo y 3/11 muestras contaminadas) lo que agrega un 8% (7/89) a la corroboración de lo detectado por RT-PCR.

El 3,5 % (33/ 938) de las muestras RT-PCR negativo, dieron positivo al antígeno NS1 y de ellas el 46% (15/33) poseían IgM (+) en la misma muestra. Una

muestra RT-PCR negativo, mostró resultado indeterminado en el test NS1 y no presentó anticuerpos IgM en un par serológico analizado.

### Conclusiones

Este trabajo evidencia una buena correlación entre las técnicas, pero una menor sensibilidad en la detección de los serotipos DEN-2 y DEN-4 comparado con DEN-1 y evidencia la posibilidad de detectar antígeno NS1 aún en presencia de anticuerpos IgM. La detección de antígeno NS1 es una herramienta útil que puede aplicarse en laboratorios de baja complejidad para el estudio de muestras tempranas, aunque se remarca la necesidad de complementar su uso con el empleo de las técnicas moleculares y la detección de anticuerpos para descartar un caso sospechoso de dengue.

### Bibliografía

1. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vornadam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992 Mar;30(3):545-51.
2. Fleiss, J. L. (1981) Statistical methods for rates and proportions. 2nd ed. (New York: John Wiley) pp. 38-46.

**Palabras clave:** dengue, diagnóstico, antígeno.

(1) INEVH "Dr. Julio I. Maiztegui", ANLIS, Pergamino, Argentina. (2) Laboratorios provinciales integrantes de la Red Nacional para diagnóstico de Dengue y otros Arbovirus de Argentina.

## Aislamiento *in vitro* e intensidad de infección de *Rickettsia parkeri* en garrapatas *Amblyomma triste* de la región del Delta del Río Paraná, Argentina

*In vitro* isolation and infection intensity of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* ticks from the Paraná River Delta region, Argentina

Lucas Monje<sup>1</sup>, Santiago Nava<sup>2</sup>, Leandro Antoniazzi<sup>1</sup>, Valeria Colombo<sup>1</sup>, Pablo Beldomenico<sup>1</sup>

*Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) is a tick distributed in the Neotropical and Nearctic regions, but most records are from South America. In Argentina, *A. triste* became a tick of public health relevance because of the finding of specimens infected with *Rickettsia parkeri* and the recently reported clinical cases of rickettsiosis in humans with a history of tick bites in localities where *A. triste* prevails. Romer et al. (2011) identified *R. parkeri* DNA in cutaneous lesions in two of the clinical cases documented in the Paraná River Delta region. *Rickettsia parkeri* was previously isolated from *A. triste* in Uruguay and Brazil. In Uruguay, human disease allegedly caused by *R. parkeri* has been recurrently reported since 1990 but it was not until recently

that a case of *R. parkeri* infection in a human was confirmed. In Brazil, surprisingly, not a single human case of rickettsiosis associated with *A. triste* bite has been reported so far. However and notwithstanding all the information available about the distribution of this bacterium, there are no previous reports inquiring about the infection levels of *R. parkeri* in naturally infected *A. triste* ticks.

## Material and methods

Questing adults ticks were collected from the vegetation by drag flagging in fields in the vicinity of Campana city (34°9.5'S, 58°51.8'W), Buenos Aires Province, Argentina. Collected ticks were brought alive to the laboratory, identified by using standard taxonomic keys and disinfected in iodine alcohol. One half of each tick was processed for DNA extraction and the other half was immediately frozen at -80°C for rickettsia isolation. All tick samples were screened for rickettsial infection through testing them individually by a real-time PCR assay using primers RR190.547 and RR190.701. Ticks positive for *ompA* real-time PCR were subjected to further amplification of a larger fragment of *ompA* gene by routine PCR using primers RR190.70 and RR190.701. For those samples that presented low levels of rickettsial DNA, a nested PCR using primers RR190.107 and RR190.602 was attempted. Isolation of rickettsiae was attempted on four of the *ompA* real-time PCR positive *A. triste* ticks by the shell vial technique.

## RESULTS

A total of 201 adults (74 males, 127 females) of *A. triste* were collected. Forty one ticks (20.4%) were found to contain DNA of the rickettsial gene *ompA* by real-time PCR, 26 of which presented high rickettsial concentration (from  $4.3 \times 10^5$  to  $9.6 \times 10^6$  *ompA* copies per tick), while the remaining 15 presented much lower rickettsial levels (from  $4.4 \times 10^1$  to  $1.3 \times 10^4$  *ompA* copies per tick). A larger fragment of *ompA* was amplified using DNA obtained from ticks with high (four samples) and low (two samples, nested PCR) levels of rickettsial DNA, and the resulting nucleotide sequences were 100% identical to the *ompA* sequence of *R. parkeri* (U43802) in all cases (592/592, nested: 435/435). No amplification was observed in the negative controls ( $C_t > 50$ ). Isolation assays by the shell vial technique were attempted from four of the *ompA* real-time PCR positive ticks. *Rickettsiae* were successfully isolated and established in Vero cell culture from two of the *R. parkeri*-positive ticks. These isolates were designated At97ARG and At114ARG. DNA extracted from infected cells of the third passage was subjected to PCR targeting the *gltA*, *ompA*, *ompB* and *htrA* genes. The corresponding gene sequences of the two isolates were 100% identical to each other, and the

*gltA*, *ompA*, *ompB* and *htrA* sequences were 100% (1106/1106), 100% (590/590), 100% (817/817) and 99.6% (495/497) similar to the corresponding sequences of *R. parkeri* strain Maculatum from North America (U59732, U43802, AF123717, U17008), moreover the *htrA* sequence was 100% (497/497) similar to the corresponding sequence of *R. parkeri* isolate At24 from Brazil (EF102237).

## Discussion

In the present study, we report the first in vitro isolation of *R. parkeri* from Argentina. *Rickettsia parkeri* isolates At97ARG and At114ARG obtained herein showed no genetic differences with those *R. parkeri* isolates reported in Uruguay and Brazil, both obtained from *A. triste*, and only a slight difference was observed when compared to *R. parkeri* isolated from *Amblyomma maculatum* from the United States. Furthermore, these new isolates were achieved from *A. triste* ticks collected in a region where cases of human *R. parkeri*-rickettsiosis were confirmed. Previously, Nava et al. (2008) reported *R. parkeri* infecting 8.4% of the *A. triste* ticks collected from the vegetation in the Paraná River Delta. In the present study, a higher *R. parkeri* infection rate was found in questing ticks (20.4%) in the same location. The differences observed in infection rates could be in part due inter-annual variation or to the high sensitivity reported for the real-time PCR assay used in our study, compared with the PCR approach used by Nava et al. (2008). However, we cannot rule out the possibility that infection incidence of *R. parkeri* is indeed increasing, posing a risk for public health. In this respect, further research should be aimed at elucidating whether climatic conditions, soil management, cattle presence or host abundance is affecting *R. parkeri* infection rate of *A. triste* ticks. Interestingly, the distribution of *R. parkeri* infection intensity observed in *A. triste* ticks was distinctly bimodal, with approximately 60% of the infected ticks presenting high rickettsial loads and the remainder with low rickettsial levels. Although very pertinent for our understanding of the eco-epidemiology of rickettsial pathogens, the distribution of the levels of infection in the ticks has not been previously assessed. The bimodal distribution found herein could have important epidemiological implications, as the infection intensity in the tick must be directly related

with the exposure dose after a tick bite. Elucidating the determinants of this distinct distribution is also crucial to better understand the ecology of this disease (e.g. circumstances that cause a predominance of high infection intensities in ticks would consequently increase the risk of infection in humans). In addition, this bimodality in *R. parkeri* infection intensity in ticks could determine not only differences in the severity of the disease, but also differential mechanisms of transmission. Finally, the isolates of *R. parkeri* obtained herein will also provide us with

a valuable tool to develop diagnostic tests which will allow to assess the serological status of livestock and wildlife populations and to confirm human cases suspicious of rickettsiosis in our region.

#### References

1. Nava S, Elshenawy Y, Ereemeeva ME, Sumner JW, Mastro-paolo M, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis* 2008 14, 1894-97.
2. Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RR, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2011 17, 1169-73.

**Keywords:** *Rickettsia parkeri*; *Amblyomma triste*; infection intensity.

(1) Laboratorio de Ecología de Enfermedades. Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET). Esperanza. Argentina. [leceen@fcv.unl.edu.ar](mailto:leceen@fcv.unl.edu.ar). (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Rafaela. Argentina. [rafaela@correo.inta.gov.ar](mailto:rafaela@correo.inta.gov.ar)

## Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de *Leishmania* spp. en áreas endémicas de Chaco, Argentina: a propósito de un caso

**Application of molecular tools for diagnosis and characterization of *Leishmania* spp. in endemic areas of Chaco, Argentina: case report**

Marcelo Gabriel Medina<sup>1</sup>, Horacio Lucero<sup>1</sup>

Las leishmaniosis constituyen un grupo de enfermedades parasitarias zoonóticas causadas por protozoarios flagelados del género *Leishmania*, presentes en el citoplasma de los macrófagos de humanos y otros vertebrados en la forma de amastigotes, y como promastigotes en el intestino de los dípteros vectores. Se calcula que existen 12 millones de personas infectadas en el mundo y 2 millones de casos nuevos por año. El ciclo biológico de *Leishmania* sp. ocurre en dos hospederos: uno vertebrado (el ser humano y otros mamíferos) y en vectores como los artrópodos de los géneros *Lutzomyia* (Nuevo Mundo) o *Phlebotominae* (Viejo Mundo). Las manifestaciones clínicas son variables y dependen de una compleja interacción entre la estructura antigénica, las características patogénicas del parásito y el sistema inmune del huésped. En América, esta antroponosis, abarca desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina, y la especie más frecuente en Argentina y agente etiológico de la leishmaniosis cutánea o mucocutánea, es la *Leishmania braziliensis*. En el diagnóstico de certeza se consideran tres criterios que deben ser abordados en el siguiente orden: 1) antecedentes epidemiológicos; 2) cuadro clínico sugestivo de leishmaniosis; y 3) exámenes de laboratorio métodos directos parasitológicos e indirectos o inmunológicos. La PCR y sus variantes, en combinación con otras técnicas moleculares, ofrece una plataforma ideal para el desarrollo de una gran variedad de pruebas moleculares para la identificación y cuantificación de los agentes infecciosos de interés clínico, como la leishmaniosis. Debido a sus indudables ventajas, como la facilidad de empleo, la mayor rapidez o el menor riesgo de contaminación, aunado a la alta especificidad y sensibilidad, están siendo aplicadas a una gran cantidad de patologías. El objetivo de la presentación es valorar la importancia de la detección y tipificación de *Leishmania* a través de biología molecular la cual proporciona un método de mayor sensibilidad y especificidad, sobre todo en áreas endémicas.

### Descripción del caso clínico

Hombre de 74 años de edad, de Quitilipi, Chaco, Argentina, sin antecedentes personales de interés que acude a la consulta al área de Dermatoinfectología, del Instituto de Medicina Regional, Chaco, por la aparición tres lesiones cutáneas vegetantes-verrugosas, asintomáticas localizadas en miembro superior izquierdo y en ambos flancos abdominales, de seis centímetro de diámetro, bordes y límites bien definidos, inflamatorias de ocho meses de evolución. El paciente no lo relacionaba con nada en concreto. No presentó fiebre ni ninguna otra manifestación clínica. Refiere antecedentes de picaduras de mosquitos. Su médico le había indicado tratamiento antibiótico sistémico y curaciones planas locales, sin observarse mejoría, por lo que es derivado, para diagnóstico y tratamiento.

A la exploración física presentaba una úlcera en región anterolateral de brazo izquierdo y dos úlceras en ambos flancos abdominales de bordes elevados y eritematosos con centro vegetante-verrugoso, limpio. No se constataron adenopatías ni otras lesiones.

Se realizaron estudios microbiológicos e histopatológicos de muestras del borde y fondo de una de las lesiones. Confirmándose con tinciones especiales, Giemsa, la presencia de amastigotes de *Leishmania*. El cultivo para hongos y bacterias resultó negativo. Se solicita estudio de tipificación por PCR para *Leishmania*, tomando muestra por cepillado de lesión, confirmando diagnóstico de *Leishmania brasiliensis*, según técnicas específicas, antes reportadas. Los estudios de laboratorio (hemograma, hepatograma, amilasemia, uremia y creatininemia) y el electrocardiograma estuvieron dentro de límites normales. Se instauró tratamiento con antimonio de meglumina, a dosis de 1,5 g/día en ampollas intramuscular, durante diez días consecutivos. En dos semanas se observó la resolución completa de las lesiones dejando cicatriz residual. No se evidenciaron efectos adversos.

### Discusión

La leishmaniosis es una de las siete enfermedades tropicales más importantes, según la Organización Mundial de la Salud, y representa un verdadero problema de salud pública en todo el mundo. En Argentina, se registran entre 150 a 370 casos anuales de leishmaniosis cutánea. La dispersión geográfica de la leishmaniosis se debe entre otros factores, a la deforestación y la adaptación de vectores selváticos al ambiente modificado, las migraciones humanas y la urbanización desordenada. El área endémica de esta antroponosis, abarca desde el sur de los Estados

Unidos hasta el norte de Argentina, una de la Provincias endémica de la leishmaniosis tegumentaria (cutánea y mucocutánea), es Chaco. La *leishmania brasiliensis* es la especie más frecuente en Argentina y agente etiológico de la leishmaniosis cutánea o mucocutánea.

Las manifestaciones clínicas son variables y dependen de una compleja interacción entre la estructura antigénica, las características patogénicas del parásito y el sistema inmune del huésped. Las lesiones cutáneas de la leishmaniosis pueden ser únicas o múltiples y se presentan, en general, como úlceras de bordes elevados, indoloras, de fondo granuloso que pueden o no estar cubiertas por un exudado. Pueden cicatrizar espontáneamente en el término de semanas o meses, o persistir durante un año o más. También se pueden presentar formas vegetantes, verrugosas, o en placas.

El paciente descrito, refirió antecedentes de picadura de mosquitos, luego presentó lesiones papulosas, eritematosas, que se ulceraron, con fondo granuloso y verrugoso, localizadas en áreas expuestas. Las cuales siguieron un curso crónico y persistente sin mejoría a pesar de múltiples tratamientos antibióticos. La historia y la evolución de este cuadro clínico y la falta de respuesta a los tratamientos convencionales, hizo consultar a nuestro servicio, donde se realiza la evaluación del caso y estudios complementarios.

El diagnóstico de sospecha de leishmaniosis se logra con el antecedente epidemiológico del paciente y el cuadro clínico característico. Se debe corroborar mediante exámenes de laboratorio, métodos directos parasitológicos e indirectos o inmunológicos.

Otros métodos diagnósticos, ELISA, fijación de complemento, inmunofluorescencia directa y la PCR, con una sensibilidad y especificidad mucho más elevada para la tipificación de los parásitos y el enfoque del tratamiento.

Los resultados de los estudios de laboratorio y serología que se le realizaron al paciente fueron negativos. En el caso que se describió, fue mediante el estudio histopatológico que se llegó al diagnóstico, al observar los granulomas y los amastigotes de *Leishmania*, aunque el estudio de biología molecular, permitió dar al diagnóstico definitivo *Leishmania* y su especie, *brasiliensis*.

La forma cutánea, puede curar en forma espontánea. Los principales tratamientos son antimoniales trivalentes o pentavalentes por vía parenteral o intralesional. Nuestro paciente realizó, tratamiento con antimonio de meglumina, a dosis de 1,5 g/día en ampollas intramuscular, durante diez días consecutivos. En dos semanas se observó la resolución

completa de las lesiones dejando cicatriz residual. No se evidenciaron efectos adversos.

El diagnóstico certero del parásito *Leishmania* es crucial para el tratamiento oportuno de la leishmaniasis. El examen directo es de bajo costo y no requiere de equipamiento sofisticado, es la segunda prueba más sensible para detectar el parásito en las lesiones, la sensibilidad de la prueba depende de la calidad de la muestra extraída de las lesiones y el raspado simple no es el apropiado para la detección del parásito. En cambio, la detección de Leishmaniasis, por PCR constituye una técnica, altamente sensible y específica, que permite identificar diferentes especies de *Leishmania* a partir de muestras de pacientes, reservorios y vectores. Otra ventaja de la técnica es la reducción de tiempo y esfuerzo cuando se compara con otras técnicas, pues, no requiere del cultivo de parásitos y puede ser empleada directamente en muestras clínicas. Por ese motivo la técnica de PCR, adquiere importancia en la detección de leishmaniasis, en áreas endémicas.

### Conclusión

El interés de la presentación fue la presunción clínica del cuadro de leishmaniasis cutánea, la cual

constituye una patología regional endémica de extensas regiones de Argentina, entre ellas la Provincia del Chaco. Además mostrar la importancia de la aplicación de la biología molecular en la detección y caracterización de *Leishmania*, un método de mayor sensibilidad y especificidad, constituyendo una valiosa herramienta diagnóstica para el diseño de estrategias de vigilancia y control de la enfermedad en sus diversas formas en todas las áreas consideradas como endémicas.

### Referencias

1. Lorenz A, Molina S, Liatto de Nógalo A, Garlatti M, et ál. Consenso sobre leishmaniasis, Sociedad Argentina de Dermatología, 2008.
2. Salomón D, Mocarbel N, Pedroni E, Colombo J, et ál. *Phlebotominae*: vectores de leishmaniasis en las provincias de Santa Fe y Entre Ríos, Argentina. *Medicina*, Buenos Aires, 2006, 66: 220-224.
3. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012;7:e35671.
4. Marfurt J, Niederwieser I, Makia ND, Beck H, Felger I. Diagnostic genotyping of Old and New World *Leishmania* species by PCR-RFLP. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 46(2): 115-24.

**Palabras clave:** *Leishmania brasiliensis*, biología molecular, Argentina.

(1) Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste. Resistencia, Chaco, Argentina.  
drmarcelomedina@gmail.com

## Estudio de foco ante el primer caso humano de leishmaniasis visceral en Paso de los Libres, provincia de Corrientes. Diciembre de 2013

**Study focus to the first human case of visceral leishmaniasis in Paso de los Libres, province of Corrientes. December 2013**

Josefina Blanco<sup>1,3</sup>, Natalia Ferro<sup>1,3</sup>, Ignacio Gould<sup>2,4</sup>, Natalia Casas<sup>1,3</sup>, Oscar Salomón<sup>2,3</sup>

La Leishmaniasis Visceral (LV) es una zoonosis causada por parásitos del género *Leishmania*. Es una enfermedad de distribución mundial, endémica en 98 países, con una incidencia anual estimada de 500.000 casos. En América, la prevalencia es mayor en Brasil, Argentina y Venezuela. En Argentina la LV es una endemia, siendo el principal reservorio el perro infectado que puede presentar manifestaciones clínicas o ser asintomático. En la actualidad son 4 las provincias afectadas con casos humanos autóctonos: Misiones, Corrientes, Santiago del Estero y Salta. El Programa Nacional de Leishmaniasis (PNL) tiene como objetivo eliminar o mitigar las condiciones que permiten la producción y reproducción de la leishmaniasis visceral humana (LVh).

En la semana epidemiológica N° 45 de 2013 se notificó el primer caso humano de LV en la localidad correntina de Paso de los Libres. Se trató de un joven de 19 años residente en zona de chacras. Paso de los

Libres es frontera con Brasil y cuenta con 43.805 habitantes (Censo 2010).

El objetivo del presente trabajo fue definir riesgo de transmisión en el lugar de residencia del caso para intervención focal, estudiando la presencia de vectores transmisores y de reservorios parasitados alrededor de la vivienda.

### Materiales y métodos

se definió el área de foco abarcando a la vivienda del caso más todas aquellas ubicadas en un radio de 150 metros. Para estudiar la presencia de reservorios parasitados se realizó una censo serológica de los caninos ubicados en el área de foco. Las muestras se procesaron el mismo día de la extracción y se realizó la técnica inmunocromatográfica Rk39.

Para comprobar la presencia del vector de LV, *Lutzomyia longipalpis*, se realizó un estudio vectorial, seleccionando dentro del área definida 5 lugares donde colocar las trampas de luz tipo CDC para captura, según el criterio de "peor escenario". Fueron relevados datos ambientales a escala microfocal tales como máximas y mínimas de temperatura y humedad relativa. Los insectos recolectados fueron muertos en seco, y remitidos al laboratorio de taxonomía del Instituto Nacional de Medicina Tropical, para la identificación de especies.

### Resultados

Se tomaron muestras de sangre a 69 caninos, que representan el 95,8% de los perros existentes en el área de foco. Se hallaron 7 animales positivos (10,14%). El estudio entomológico resultó negativo para la presencia del vector *Lu. longipalpis* en el área estudiada. El rango de temperaturas durante las capturas fue de 18.3°C y 39.3°C, y el de humedad relativa fue de 16-87%.

### Discusión

El reporte de un caso confirmado autóctono de LVh y la presencia de LV canina en el área de estu-

dio confirman que en la zona hay transmisión de leishmaniasis visceral. Si bien los resultados entomológicos dieron negativos a *Lu. longipalpis*, la ciudad está dentro del área de distribución del vector que en Argentina llega hasta el norte de Entre Ríos, por lo que igualmente se recomienda repetir el estudio a los 30 y 60 días.

Estos resultados de infección canina implican un riesgo para la salud pública, por lo cual se sugiere un estudio que abarque a toda la localidad, más allá del área del foco, donde sean reconocidos los distintos tipos de escenarios de transmisión en función de las abundancias de *Lu. longipalpis* y los índices de seroprevalencia canina.

Se deben difundir las medidas de prevención para LV a la comunidad.

### Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud: Lucha contra la leishmaniasis. Serie de informes técnicos 1990; No 793. Ginebra p 28-110.
2. Correa Antonialli SA, Torres TG, Paranhos Filho AC, Tolezano JE. Spatial analysis of American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *J Infect* 2007; 54: 509-14.
3. Salomón OD, Sinagra A, Nevot MC, et al. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008; 103: 109-11.
4. Guía para el equipo de Salud de Leishmaniasis visceral [Internet] Ministerio de Salud de la Nación; 2010 [consulta el 23 de marzo de 2014] Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/zoonosis/index.php/informacion-para-equipos-de-salud/leishmaniasis-visceral-guia>.

**Palabras clave:** leishmaniasis visceral, foco, intervención.

(1) Programa Nacional de Control de Enfermedades Zoonóticas. Ministerio de Salud de la Nación. CABA. Argentina. [zoonosis@msal.gov.ar](mailto:zoonosis@msal.gov.ar). (2) Instituto Nacional de Medicina Tropical. Ministerio de Salud de la Nación. Puerto Iguazú, Misiones. Argentina [inmet@msal.gov.ar](mailto:inmet@msal.gov.ar). (3) Programa Nacional de Leishmaniasis. Ministerio de Salud de la Nación. CABA. Argentina. (4) Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemoepidemias. CABA, Argentina. [cendie@anlis.gov.ar](mailto:cendie@anlis.gov.ar)

## Novel spotted fever group rickettsiae infecting *Amblyomma dubitatum* in northeastern Argentina

Lucas Monje<sup>1</sup>, Santiago Nava<sup>2</sup>, Ayelen Eberhardt<sup>1</sup>, Ana Correa<sup>1</sup>, Alberto Guglielmo<sup>2</sup>, Pablo Beldomenico<sup>1</sup>

Cases of rickettsioses produced by the genus *Rickettsia* have been described in several countries of South America in the last 20 years. In Argentina, seven *Rickettsia* species have been reported: *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia massiliae*, *Rickettsia bellii*, 'Candidatus *Rickettsia amblyommii*', and 'Candidatus *Rickettsia andeanae*', all associated with ticks, and *Rickettsia felis* associated with fleas. Of these, *R. rickettsii* and *R. parkeri* are the etiological agents of Rocky Mountain spotted fever and eschar-associated spotted fever, respectively; which are transmitted in Argentina by the ticks *Amblyomma cajennense* sensu lato and *Amblyomma triste*. In the past few years, new strains of *Rickettsia*, some of them closely related to *R. parkeri*, were described in Brazil infecting *Amblyomma nodosum* (strain NOD), *Amblyomma ovale* (strain Atlantic rainforest) and *Amblyomma dubitatum* (strains COOPERI and Pampulha) ticks. Of these new strains, only *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest has been reported as a human pathogen.

*Amblyomma dubitatum* feeds typically on capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), which are present at high densities in northeastern Argentina. In this region *A. cajennense* does not occur, and capybaras are found infested mainly by *A. dubitatum*. Herein we report for the first time in Argentina the presence of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest and describe *A. dubitatum* as a new vector of this pathogen. In addition, we report the presence of *Rickettsia* sp. strain COOPERI in northeastern Argentina.

### Material and methods

Ticks were collected both questing from five areas of Corrientes province (28°01'S 58°01'W, 28°39'S 57°26'W, 29°09'S 58°04'W, 28°50'S 57°34'W, 28°36'S 58°24'W) and feeding from two populations of free-ranging capybaras; one in Esteros del Iberá, Corrientes province (28°39'S 57°26'W) and the other one in the surroundings of Paraná River, Santa Fe province (29°30'S 59°44'W). Questing ticks were collected from the vegetation using flannel cloth flags. Engorged ticks (nymphs) were left in an incubator for molting to adults. Non-engorged and questing ticks were stored in 70% ethanol and brought to the laboratory for identification. Larvae were divided in 22 pools of 2-5 ticks each according to collection site. All ticks were processed for DNA extraction by a boiling technique. Samples were screened for rickettsial infection by real-time PCR using primers CS-5/CS-6, targeting a 147-bp fragment of the gene *gltA*. Samples yielding a Ct ≤ 30 by this PCR were further tested with primers targeting genes *gltA* (larger fragment), and *ompA*. PCR products were purified and sequenced.

### Results

Most of the ticks were identified as *A. dubitatum* (156 adults {97 males, 59 females}, 268 nymphs and 91 larvae). One nymph and two larvae were identified as *A. triste* and one nymph was identified as *Hae-maphysalis juxtakochi* (all questing). Using real-time PCR, high levels of rickettsial DNA were detected in

12 adult ticks (from 3.5×10<sup>5</sup> to 1.7×10<sup>7</sup> *gltA* copies/tick), 9 nymphs (from 7.0×10<sup>4</sup> to 5.0×10<sup>5</sup> *gltA* copies/nymph) and 12 larvae pools (from 1.0×10<sup>4</sup> to 2.0×10<sup>5</sup> *gltA* copies/pool). The few *A. triste* and *H. juxtakochi* samples were PCR negative. Ticks that presented high levels of rickettsial DNA were screened for the presence of a larger fragment of *gltA* and *ompA* genes. PCR products of the expected sizes were obtained for both genes studied in three samples (Ad106, Ad144, Ad170). Moreover, only *gltA* PCR products were obtained for five samples which in all cases were 100% identical to the corresponding sequence of *R. bellii* (CP000087). Sequences generated from sample Ad106 were identified as *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, since its *gltA* (787 bp) and *ompA* (592 bp) gene fragments were 100% equal to corresponding sequences (GQ855235, GQ855237, respectively). Sequences generated from samples Ad144 and Ad170 were identified as *Rickettsia* sp. strain COOPERI. Sequences from these ticks were 100% identical to each other for the rickettsial gene *ompA*. BLAST analysis showed that the *ompA* sequence generated from ticks Ad144 and Ad170 (592 bp) was 99.8% (490/491) identical to *Rickettsia* sp. strain COOPERI (AY362706). The *gltA* sequence (758 bp) generated from tick Ad170 was 99.9% (757/758) identical to *Rickettsia* sp. strain COOPERI (AY362704). Surprisingly, sample Ad144 was shown to be co-infected with *R. bellii* since the *gltA* fragment obtained from this sample was 100% identical to the corresponding sequence of *R. bellii* (CP000087).

## Discussion

Herein we report the presence of the human pathogen *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest for the first time in Argentina. Moreover, we describe *A. dubitatum* as a potential vector for *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest which was previously reported infecting *A. ovale* ticks in southeastern Brazil. Our results showed rather low infection rates of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest (1.0%) and *Rickettsia* sp. strain COOPERI (4.0%), and variable infection rates of *R. bellii* (from 3.8% to 84.6%) among the *A. dubitatum* populations studied. Interestingly, previous studies failed to detect *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in different populations of *A. dubitatum* in Brazil, although thousands of adult ticks were tested. In those studies, *A. dubitatum* ticks were shown to be infected chiefly by *R. bellii*, *Rickettsia* sp. strain COOPERI and *Rickettsia* sp. strain Pampulha. Altogether, these results suggest that different populations of *A. dubitatum* throughout Argentina and Brazil are capable of maintaining a variety of rickettsiae, conferring to *A. dubitatum* ticks a potential role in the ecology of

*Rickettsia* in South America. Finally, further studies are necessary to determine the potential pathogenicity and clinical significance of *Rickettsia* sp. strain COOPERI. Moreover, the facts that strain Atlantic rainforest is pathogenic and *A. dubitatum* can parasitize humans in all its feeding stages indicates that human cases of spotted fever may be occurring in northeastern Argentina.

## References

1. Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A, Popov V, Gennari SM, Walker DH. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol* 2004 42, 90-98.
2. Nava S, Venzal JM, Labruna MB, Mastropaolo M, Gonzalez EM, Mangold AJ, Guglielmone AA. Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol* 2010 51, 335-351.
3. Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandao PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2010 16, 521-523.

**Keywords:** *Rickettsia*, spotted fever group; *Amblyomma dubitatum*; Argentina.

(1) Laboratorio de Ecología de Enfermedades. Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET). Esperanza. Argentina. [lece@fcv.unl.edu.ar](mailto:lece@fcv.unl.edu.ar). (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Rafaela. Argentina. [rafaela@correo.inta.gov.ar](mailto:rafaela@correo.inta.gov.ar)

## Detección de *Ehrlichiosis* en caninos atendidos en diversas clínicas veterinarias en 2 ciudades de Chile

### Detection of canine *Ehrlichiosis* in dogs treated in different veterinary clinics in 2 cities of Chile.

Romy Weinborn<sup>1</sup>, Ignacio Troncoso<sup>1</sup>, Álvaro Opazo<sup>1</sup>, Michel Leporati<sup>1</sup>, Francisco Carvallo<sup>1</sup>, Marisol Agurto<sup>1</sup>, Christof Fischer<sup>1</sup>

La *Ehrlichiosis*, ya sea por *E. canis* o *Anaplasma spp.*, es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico y emergente, que se relaciona a la alta población de perros sin dueños y que se transmiten por medio de garrapatas. En Chile, se ha reportado para caninos una prevalencia de un 2% de *Ehrlichia canis* (*E. canis*), por otra parte se ha indicado, en caninos sin dueño de la ciudad de Talca, una seroprevalencia de un 4% para *E. canis* y un 48% para *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*). El trabajo actual buscó determinar la seropositividad contra estas bacterias, en 50 caninos con dueños, atendidos en diferentes clínicas veterinarias de 2 ciudades de la zona centro sur de Chile.

## Materiales y métodos

El presente estudio se realizó durante los meses de octubre a diciembre del 2013, en 13 clínicas veterinarias (8 en Talca y 5 en Concepción) y se consideró un total de 50 caninos por ciudad. Los caninos fueron muestreados de forma aleatoria previa firma de consentimiento informado del propietario. Se efectuó un examen clínico donde se tomó la muestra sanguínea sin anticoagulante para realizar test ELISA (SNAP4DX®), la que detecta anticuerpos contra *E. canis* y *A. phagocytophilum*. Los resultados fueron distribuidos en grupos por sexo (machos y hembras), edad (<2 años, entre 2 y 5 años y mayores de 5 años) y por presencia o ausencia de garrapatas. El análisis de datos se realizó a través del programa Microsoft Office Excel 2010. Para determinar si existieron diferencias estadísticas significativas entre los grupos se aplicó el método estadístico exacto de Fisher y los resultados fueron expresados en tablas, gráficos y porcentajes.

## Resultados

Se determinó para *A. phagocytophilum* un 9% de seropositividad para ambas ciudades y en específico para Concepción fue de un 12% y para Talca un 6%, lo que no presentó diferencias estadísticamente significativas. Respecto a *E. canis* se obtuvo una seropositividad del 2% en ambas ciudades. Del total de 100 caninos, 52 de ellos correspondieron a hembras y 48 a machos, de los cuales para *A. phagocytophilum* se obtuvo un 13.5% de seropositividad en hembras y un 4.6% de seropositividad en machos, para *E. canis* la seropositividad fue de un 1.9% para hembras y de un 2.1% para machos, resultados que no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas. En cuanto a la edad de los caninos afectados, para *A. phagocytophilum* el 2% correspondió al grupo menor de 2 años, 3% al grupo entre 2-5 años y 4% para los mayores de 5 años, en el caso de *E. canis* sólo se encontró un 2% para los mayores de 5 años, sin evidenciarse diferencia estadística significativa entre ningún grupo.

En el caso de la presencia de garrapatas se evidenció que para el caso de los seropositivos a *A. phagocytophilum* el 6% presentaba garrapatas, en cambio el 18% de ellos no las presentaba, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P= 0.0061$ ) y para *E. canis* fue posible evidenciar un 1% para los grupos que presentaban y no presentaban garrapatas, sin evidenciarse diferencia estadística significativa.

## Discusión

Los resultados obtenidos difieren con los resultados descritos para Talca en el 2012, en donde se demostró un 4% de seroprevalencia para *E. canis* y un 48% para *A. phagocytophilum*, siendo esta diferencia explicada por los distintos tipos de caninos analizados, debido a que los caninos muestreados el año 2012 correspondían a caninos vagabundos a diferencia del trabajo actual, en donde la población correspondió a caninos con dueños, por lo que se infiere que los caninos con dueños reciben mayor atención médica veterinaria y por ende tienen menor presencia del vector y de la enfermedad. Sin embargo, es importante mencionar que en Chile la mayoría de los propietarios de mascotas, permiten que deambulen por la calle sin supervisión, lo que implica que los caninos con dueño pudiesen tomar contacto directo con la población de caninos sin dueño y parasitados, por lo que se explica la seropositividad encontrada en el presente estudio. Los datos analizados no logran establecer diferencias por sexo, edad o ciudad, datos que coinciden con diferentes investigaciones. Se logró establecer diferencias significativas entre caninos con y sin garrapatas que fueran seropositivos contra *A. phagocytophilum*, siendo mayor en aquellos caninos que no tenían el ectoparásito. Este hallazgo puede deberse a que el test aplicado puede detectar a seropositivos por más de 30 días posterior a la picada, por lo que la ausencia de la garrapata en el animal testeado no implica seronegatividad.

## Conclusión

Fue posible detectar seropositividad contra *E. canis* y *A. phagocytophilum* en caninos con dueño en ambas ciudades de Chile, por lo que existe el riesgo de zoonosis transmitidas por garrapatas, independiente de la presencia de éstos ectoparásitos al momento del examen clínico.

## Bibliografía

1. Abarca Villaseca K. Infecciones transmitidas por vectores en Chile. En: Libro de Ponencias: Jornadas de Zoonosis UST 2011. Concepción; Universidad Santo Tomás; 2011.
2. Ortiz M. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en caninos vagabundos de dos sectores urbanos de la ciudad de Talca, región del Maule, Chile. [Tesis]. Talca: Universidad Santo Tomás. Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria; 2012.
3. Nicholson WL, Allen KE, Mcquiston JH, Breitschwerdt EB, Little SE. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitol* Apr 2010; 26(4):205-2012.
4. Dumler JS. Ehrlichioses and Anaplasmosis. In: Tropical Infectious Diseases: principles, pathogens & practice. 3 ed. Londres: Saunders-Elsevier; 2011. p. 339-343.

**Palabras clave:** *E. canis*, *A. phagocytophilum*, zoonosis transmitidas por garrapatas.

(1) Universidad Santo Tomás. Talca. [rweinborn@santotomas.cl](mailto:rweinborn@santotomas.cl)

## Febre Maculosa Brasileira: surto familiar

### Brazilian Spotted Fever: Family outbreak

Fábio Miranda Junqueira<sup>1</sup>, Maria Carolina Pereira da Rocha<sup>1</sup>, Marcos Vinicius da Silva<sup>1,2</sup>, Rachel Biasi Nahima<sup>1</sup>, Bruna Heloisa Melikardi Rossi<sup>1</sup>, Patrícia<sup>1</sup>, Silvio Carvalho da Silva<sup>3</sup>, Fabiana Cristina Pereira dos Santos<sup>4</sup>

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose causada pela *Rickettsia rickettsii*, bactéria intracelular obrigatória, cujo principal vetor no Brasil é o carrapato *Amblyomma cajennense*. Os principais reservatórios do carrapato são as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e eqüinos<sup>2</sup>. As capivaras, além de reservatório, agem como amplificadores da riquetsia. A manifestação clássica da doença humana é constituída por febre, cefaléia e exantema, que está presente em 44% a 70% dos casos<sup>1</sup>. As outras manifestações clínicas são polimórficas, ficando muitas vezes sem diagnóstico. A Febre Maculosa é a mais letal das riquetsioses e passou a ser Doença de Notificação Compulsória no Brasil em 2011<sup>4</sup>.

#### Surto familiar

Mãe, idade de 37 anos, branca, do lar, apresentando febre, mialgia intensa e cefaléia há três dias. Ao exame físico estava em mal estado geral, grave, icterica, hipotensa (100x60 mmHg) responsiva a volume e com edema discreto nos membros inferiores, sem lesões de pele ou sinais meníngeos. No dia seguinte, evoluiu com exantema generalizado, piora da icterícia e hipotensão arterial não responsiva a volume, sendo necessária administração de drogas vasoativas. Apresentou crise convulsiva, rebaixamento do nível de consciência e evoluiu para o óbito no dia seguinte. Com suspeita clínica de meningococemia, não foram solicitados exames laboratoriais para FMB.

Pai, idade de 38 anos, branco, agricultor, apresentou febre, mialgia e petéquias em tronco e membros há 2 dias da internação, sintomas que se iniciaram no dia do falecimento da esposa. Foi internado e iniciado tratamento com cloranfenicol por via venosa. No segundo dia de internação foi transferido para UTI devido à instabilidade hemodinâmica e plaquetopenia importante. Manteve-se febril por 4 dias, com mialgia intensa, dor abdominal, icterícia, infiltrado pulmonar intersticial bilateral e vasculite obliterante na região distal dos pés. Evoluiu com insuficiência respiratória aguda necessitando de ventilação mecânica, foi associada doxiciclina devido ao agravamento do quadro. A partir desse momento apresentou boa evolução clínica. Na fase de convalescença necessitou de amputação da extremidade dos pés, por necrose. O diagnóstico laboratorial foi

realizado por conversão sorológica (Imunofluorescência Indireta IFI-IgG) e por método de biologia molecular (PCR)<sup>3</sup>.

Filho, idade de 5 anos, branco, apresentou febre, vômitos, mialgia intensa, dor abdominal, exantema, petéquias nos punhos e nos tornozelos, com edema nas mãos e nos pés há 3 dias da internação, que se iniciaram no dia do falecimento da mãe. Foi internado e tratado com cloranfenicol por via venosa. No segundo dia de internação houve piora clínica e apesar dos cuidados intensivos e tratamento adequado, evoluiu para o óbito no sétimo dia de internação, com plaquetopenia importante, sangramento generalizado e choque refratário. A confirmação diagnóstica laboratorial foi por conversão sorológica (IFI-IgG) e por PCR<sup>3</sup>.

Investigação epidemiológica de campo: o pai informou que foi encontrada grande quantidade de carrapato em seu corpo dias antes de adoecerem e que tinha sido auxiliado pela esposa na remoção dos mesmos, mesmo após a remoção ele ainda persistiu com alguns em seu corpo, encontrados no dia seguinte.

A SUCEN realizou coleta de carrapatos nas margens do Rio Tietê na Cidade de Porto Feliz, próximo à residência dos pacientes. Utilizou na captura dos carrapatos armadilha de gelo seco (CO<sub>2</sub>), capturando 435 larvas e 163 ninfas de carrapato do gênero *Amblyomma*. Também foram coletados carrapatos nas vestes dos funcionários da SUCEN que realizaram a pesquisa com captura de 218 larvas e 34 ninfas de carrapatos do gênero *Amblyomma* e um macho e

uma fêmea de carrapato *Amblyomma adubitatum* (carrapato de capivara). O imóvel onde os pacientes residiam foi tratado pelo Centro de Controle de Zoonose (CCZ) do município de Porto Feliz – SP com Amitraza 12,5%.

### Discussão

No nosso meio, o desequilíbrio ecológico de uma única espécie, como o da capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), hospedeiro primário da riquetsia causadora da FMB, levou a proliferação descontrolada desse animal, que em muitas regiões ribeirinhas passou a freqüentar áreas peridomiciliares como foi observado na localidade onde a família deste relato residia. Nessa situação passamos a ter a inversão do momento que o homem entra em contato com o carrapato oriundo da capivara no campo e hoje, pela proximidade, tanto a capivara como o carrapato passaram a estar presentes no peridomicílio, com risco para os membros da família. Isso difere da epidemiologia clássica dessa doença com acometimento de um único indivíduo do núcleo familiar na maioria das vezes, que durante a atividade de trabalho ou de lazer esteve em área rural ou silvestre, onde se deu a infecção.

A importância desse relato é mostrar a mudança na cadeia epidemiológica de uma doença antiga que num momento de desequilíbrio de um dos seus elos, passa a por em risco um grupo maior de pes-

soas. Além disso, mostra que a atenção e medidas de prevenção devem ser repensadas como ocorreu nesse relato, quando o reservatório silvestre e o transmissor passam a ocupar o peridomicílio em decorrência do desequilíbrio ecológico. Fundamentados nessa observação, os autores sugerem que nos casos de FMB, os habitantes do mesmo domicílio ou na vizinhança também passem a ser considerados na busca ativa de casos pelo Serviço de Vigilância Epidemiológica, em decorrência das mudanças ambientais que acarretam também mudanças na cadeia eco epidemiológica da FMB que continua sendo doença silvestre ou rural, mas agora passa a ser periurbana acometendo o núcleo familiar.

### Bibliografia

1. Angerami RN, Silva MV, Santos FCP, França AC. Febre Maculosa Brasileira: aspectos clínicos, epidemiológicos, diagnóstico e terapêuticos. In: Febre maculosa: dinâmica, hospedeiros e vetores/ organização de Ana Maria de Meira...[et al.].—Piracicaba: ESALQ, 2013 ISBN 978-85-86481-26-0.
2. Labruna MB. Ecology of Rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci* 1166:156-66, 2009.
3. SantosFCP, Nascimento EM, Katz G, Angerami RN, Colombo S, Souza ER, Souza ER, Labruna MB, Silva MV. Brazilian spotted fever: real-time PCR for diagnosis of fatal cases. *Ticks and Tick-Borne Diseases*. Philadelphia, 3 (5/6): 311-313, 2012.
4. Pinter A, França AC, Souza CE, et al. Febre maculosa no Brasil, *Bepa* 2011;V.8 Suplemento, n1.

**Palavra chave:** Febre maculosa brasileira, riquetsioses, zoonose.

- (1) Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. (2) Instituto de Infectologia Emílio Ribas  
 (3) Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) –Regional de Sorocaba.  
 (4) Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. [mvsilva@pucsp.br](mailto:mvsilva@pucsp.br)

## Caso de leishmaniosis canina no autóctono en Santa Fe, Argentina

### Case of canine leishmaniosis no native in Santa Fe, Argentina

Dana Plaza<sup>1</sup>, Juan Quinodoz<sup>1</sup>, María Florencia Bono Battistoni<sup>1</sup>, Viviana Orcellet<sup>1</sup>, Esteban Junkers<sup>1</sup>,  
 José Luis Peralta<sup>1</sup>, Alexis Burna<sup>2</sup>, Carlos Ayala<sup>3</sup>

La Leishmaniosis es una enfermedad parasitaria que se presenta en áreas tropicales y subtropicales, el agente etiológico es un protozooario del género *Leishmania*. En caninos está ampliamente difundida en América del Sur y es una de las zoonosis de mayor relevancia en la región. Esta enfermedad pertenece a un grupo de enfermedades parasitarias de distribución mundial transmitidas al hombre por la picadura de alrededor de 30 especies de flebotomos infectados por protozoos flagelados del género *Leishmania*. Existe una forma visceral (LV) y una forma cutánea (LC). La primera, llamada Kala Azar, es la forma más seve-

ra y es causada por *L. infantum*. La LC es causada por *L. braziliensis* y afecta principalmente a perros que viven en áreas rurales. Los transmisores son artrópodos flebótomos pertenecientes al género *Lutzomyia*, siendo *Lu. longipalpis* el principal vector. Se han reportado casos de Leishmaniosis en zonas donde no se ha encontrado *L. longipalpis*, esto sugiere que podrían participar otros flebótomos en la transmisión de la enfermedad. En el año 2010 *Lu. longipalpis* fue hallado en Chajarí, Entre Ríos (30° 46' 00 S 57° 59' 00 O) donde se estableció una colonia del vector en la ciudad, pudiendo ser esta localidad el origen de una nueva dispersión a futuro. En la provincia de Santa Fe, si bien no se han reportado casos de Leishmaniosis en perros, se han identificado los flebótomos *Lu. neivai*, *Lu. Migonei*, *Lu. cortelezzii*, todos potenciales vectores de la LC. El norte de la provincia de Santa Fe ya había sido reconocido como vulnerable a leishmaniosis tegumentaria en el año 2004, con presencia de *Lu. neivai* y vulnerable a la LV en diciembre del año 2008 por la aparición de focos de transmisión en Corrientes con presencia del vector y perros infectados. En el Rabón (28°12'00"S 59°17'00"O) y Tartagal (22°30'00"S 63°50'00"O), provincia de Santa Fe, también se registró la presencia de *Lu. migonei*. El objetivo de este trabajo es describir un caso clínico de leishmaniosis en un canino de la ciudad de Santa Fe.

### Materiales y métodos

En enero de 2013 llegó al consultorio un canino de raza Siberian Husky, macho de aproximadamente 10 años, que vivía en la ciudad de Santa Fe. El mismo nació y vivió durante 9 años en Cataluña, España; y luego fue trasladado a la provincia de Santa Fe, Argentina junto a sus dueños. El motivo de la consulta fue porque desde su ingreso al país, el canino disminuyó de peso notablemente manteniendo la misma ingesta. El perro presentaba epistaxis sin trauma aparente en forma recurrente, lesión sangrante a nivel del paladar, despigmentación en la punta del hocico y los ganglios de la zona cefálica se hallaban aumentados de tamaño. Volvió al consultorio sin presentar mejorías, el adelgazamiento era aún más notorio y las epistaxis más intensa. Ante los episodios recurrentes de sangrado y los resultados negativos a los tratamientos instaurados por diversos diagnósticos presuntivos, el médico veterinario realizó la consulta a nuestro Laboratorio de Estudios Parasitológicos. Se procedió tomar una muestra de médula ósea por medio de una punción con aguja fina a nivel de la unión costocondral, con el material obtenido se realizaron extendidos que fueron teñidos con Giemsa. Parte de los extendidos fueron enviados al laboratorio de referencia del Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben para la confirmación del diagnóstico. Además se extrajo sangre para realizar serología mediante el método Inmunocromatográfico rápido para detección de anticuerpos de Leishmaniosis visceral, el Kalazar Detect test.

### Resultados y conclusión

En el Laboratorio de Estudios Parasitológicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, se analizaron los extendidos de médula ósea en los que se observó la

presencia de microorganismos redondos a ovales, con núcleo y kinetoplasto basófilos, compatibles con amastigotes de *Leishmania* spp. Esto coincide con lo observado en el Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben, confirmando el diagnóstico. El análisis serológico resultó reactivo. Ante estos resultados se realizó la denuncia correspondiente al Sistema Nacional de Vigilancia de Salud (SNVS). Se comenzó con un tratamiento sintomático y se informó a los propietarios la importancia de la enfermedad desde punto de vista de la salud pública. En el transcurso de un mes el canino presentó un estado de consunción extrema anorexia, abatimiento y posterior postración, hemorragias nasales, atrofia de los músculos temporales y marcada onicogriposis. Sin haber obtenido respuesta al tratamiento paliativo y ante el notable deterioro del paciente, se decidió realizar la eutanasia. Es importante destacar que en los casos donde los diagnósticos parasitológicos y serológicos resultan negativos pero la sintomatología y la epidemiología hacen pensar en un posible caso de leishmaniosis, estaría indicado realizar la técnica de PCR, que no solo permite confirmar el diagnóstico sino además identificar la especie de *Leishmania* actuante. Teniendo en cuenta que la infección ocurrió durante el período en el que el canino vivió en España, zona endémica con una alta prevalencia, que en nuestro país existen regiones donde no se han reportado casos autóctonos y teniendo en cuenta la grave enfermedad que puede ocasionar en la población humana, es que consideramos importantísima la vigilancia y el control de los perros que ingresan al país y del movimiento de canes entre las provincias de la República Argentina, para evitar la propagación de esta enfermedad a zonas donde aún no se ha reportado la presencia del flebótomo.

## Bibliografía

1. Danta-Torres, F. 2009. Canine leishmaniosis in South America. *Parasites & Vectors* 2(Suppl 1):S1. <http://www.parasitesandvectors.com/content/2/S1/S1>
2. OPS/OMS, Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las Américas Brasilia, Brasil - 23 al 25 de noviembre de 2005
3. Salomon, O.; Mocarbel, N.; Pedroni, E.; Colombo, J.; Sandillu, M. *PHLEBOTOMINAE: Vectores de Leishmaniasis* en las provincias de Santa Fe y Entre Rios, Argentina. *Medicina* (Buenos Aires) 2006; 66: 220-224.
4. Cuba Cuba, C.A.; Torno, C.O.; Ledesma, O.; Visciarelli, E.; García, S.; Prat, M.I.; Costamagna, R.; Barbieri, L.; Evans, D.A. 1996. Human cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viña) braziliensis* in Santiago del Estero, Argentina: identification of parasites by monoclonal antibodies and isoenzymes. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 38 (6): 413-421.

**Palabras clave:** *Leishmaniosis*; caninos; zoonosis.

(1) Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. R.P. Esperanza, Santa Fe. [ejunkers@fcv.unl.edu.ar](mailto:ejunkers@fcv.unl.edu.ar). (2) Laboratorio de Histopatología. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNNE. (3) Actividad Privada, Santa Fe.

## Estudio de la prevalencia de infección chagásica en escolares de la ciudad de Salta, localidades de La Unión, San Carlos provincia de Salta y Taco Pozo, provincia de Chaco

**Study of the prevalence of Chagas infection in schoolchildren in the city of Salta, towns of La Unión, San Carlos, province of Salta and Taco Pozo, province of Chaco**

Héctor Freilij<sup>1</sup>, Olga Sánchez Negrette<sup>2,3,4</sup>, Mario Zaidenberg<sup>5</sup>,  
María Concepción Monteros<sup>6</sup>, Víctor Linares<sup>4</sup>, Analía Acevedo<sup>4</sup>

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. A pesar de los avances de las iniciativas de control en varios países de América, siguen existiendo aproximadamente 40 millones de personas en riesgo. Uno de los ejes de la estrategia de control en países con bajo nivel de transmisión es la detección de infección chagásica en niños y adolescentes de áreas endémicas, siendo los métodos más usados para el diagnóstico las pruebas serológicas. En la Argentina se deben realizar al menos dos test para el diagnóstico de la infección. Constituyen el par serológico la Hemaglutinación (HAI) y el Enzoinmunoensayo (ELISA). Diversos estudios han demostrado la efectividad del tratamiento en niños así como en adolescentes y adultos jóvenes. Por esto, asegurar el diagnóstico así como el tratamiento oportuno en estos grupos etarios jóvenes debe formar parte de la estrategia operativa de los programas de control en áreas endémicas o con bajo nivel de transmisión. El objetivo de este trabajo fue identificar la seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en niños en edad escolar en localidades de las provincias de Salta y de Chaco.

## Materiales y métodos

El estudio se desarrolló en localidades de la provincia de Salta: Ciudad de Salta, departamento San Carlos y La Unión y en Taco Pozo en la provincia del Chaco. Se realizó durante los años 2006 al 2008. Se utilizaron formularios de consentimiento informado. Se trabajó en 46 escuelas de la ciudad de Salta, en parajes de San Carlos; en 10 escuelas y/o centros de salud de los parajes de La Unión y en 7 escuelas de Taco Pozo. Diseño de corte transversal. Toma de muestra: se realizó por punción capilar con equipos portátiles Serokit, (Polichaco Biotica). Confirmación

de los casos seropositivos o dudosos en las muestras tomadas por punción capilar: se procedía a realizar una nueva toma de muestra por punción venosa, y obtención de suero, para realizar nuevamente: HAI y ELISA. Se definió como infectado al paciente que poseía dos pruebas serológicas reactivas. Casos seropositivos confirmados: Se realizó un examen físico a cada niño, toma de electrocardiograma y análisis de laboratorio; estos se repitieron a los 30 y 60 días de iniciado el tratamiento. Se trataron con Benznidazol® durante 60 días en dosis de 5-7mg/kg/día. También se citaron a los hermanos del caso positivo.

Se informó a los padres las características del tratamiento, su seguimiento y el manejo de eventuales efectos adversos. Consideraciones éticas. El protocolo de investigación incluyendo el consentimiento informado fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Salta. Análisis Estadístico: Se elaboraron tablas con frecuencias absolutas y relativas.

## Resultados

### Discusión

Fue previsible detectar una mayor prevalencia de infección chagásica en áreas rurales como San Carlos, La Unión y Taco Pozo comparadas con Salta capital. Se destaca la alta prevalencia de infección en los hermanos de los niños reactivos de Salta, lo que

**Tabla 1.** Prevalencia de escolares estudiados en las diferentes localidades

Localidad	Escolares (n)	Escolares (+) n	Escolares (% +)
Salta	15293	96	0.63
San Carlos	243	6	2.47
La Unión	948	34	3.59
Total Provincia de Salta	16488	136	0.83
Taco Pozo	1400	23	1.64
Total General	17884	159	0.89

**Tabla 2.** Seroprevalencia de escolares (n= 15293) y hermanos estudiados (n= 141) en la ciudad de Salta, distribuidos por edad (n= Total: 15434)

Población estudiada/ grupos etáreos	1 - 4		5 - 9		10 - 14		> 14	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Escolares estudiados	53	0,35	8051	52,6	6812	44,5	377	2,5
Escolares (+)	0	0	29	0,4	63	0,6	4	1,1
Hermanos estudiados	19	13,5	35	24,8	29	20,6	58	41,1
Hermanos (+)	7	36,8	6	17,1	7	24,1	14	24,1
(*)Total estudiados	72		8086		6841		435	

\* No se incluyen en el total de estudiados los hermanos (+).

Se trataron 93 niños, (58.49%); 5 no completaron el tratamiento. Los efectos adversos más frecuentes fueron rash dérmico (n= 7), dolor abdominal(n= 3), cefaleas(n= 3).

destaca la importancia del necesario relevamiento epidemiológico familiar en cada caso detectado de los niños escolares. La faz más dificultosa del estudio fue el tratamiento y seguimiento de los niños reactivos intratratamiento y posterior al mismo.

### Bibliografía

1. Freilij H, Altchech J. Congenital Chagas disease' diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 551-555;
2. Schmunis Gabriel A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Río de Janeiro, Vol. 102 (Supl. I): 75-85, 2007.

**Palabras clave:** Chagas, escolares, serología.

- (1) Programa Federal de Chagas. Buenos Aires. Argentina. [hectorfreilij@yahoo.com.ar](mailto:hectorfreilij@yahoo.com.ar). (2) Cátedra de Inmunología. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias UCASAL. Campus Castañares S/N. (3) Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas UNSa Salta. Argentina. [olgasanette@yahoo.com.ar](mailto:olgasanette@yahoo.com.ar). (4) Primer Nivel de Atención. Salta. Argentina. (5) Programa Nacional de Control de Vectores, NOA. Salta. Argentina. [mozaidenberg@gmail.com](mailto:mozaidenberg@gmail.com). (6) Hospital San Bernardo. Salta. Argentina. [maribio7@hotmail.com](mailto:maribio7@hotmail.com)

## Estudio de la situación seroepidemiológica de la infección por *Trypanosoma cruzi* en jornaleros migrantes en Ensenada, Baja California, Méjico.

Seroepidemiological study of the situation of *Trypanosoma cruzi* infection among migrant laborers in Ensenada, Baja California, Mexico.

Elisa Pallarés-Broche<sup>1</sup>, Liliana Carrizo<sup>2</sup>, Raquel Muñoz-Salazar<sup>1</sup>, María Cristina Salomón<sup>2</sup>

La Enfermedad de Chagas es endémica en la mayoría de los países de Latinoamérica, constituyendo un problema de salud pública. El agente causal, *Trypanosoma cruzi*, es transmitido principalmente por triatomíneos conocidos como vinchucas, chipos, chinche de compostela, hocicona, voladora o besucona, según

las diferentes regiones. Mientras que es menos frecuente la transmisión a través de la sangre o los tejidos (transmisión por transfusiones, vertical y por trasplante de órganos). Las zonas sur y centro de Méjico (Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán y D.F.), son endémicas para la enfermedad; se reportan allí más del 69% de los casos seropositivos.

En marzo de 2014, el estado de Oaxaca se convierte en el primer estado en aplicar un programa piloto para la atención integral de la enfermedad de Chagas. Si bien, Baja California no es endémica para esta enfermedad, es una zona de atracción de migrantes provenientes principalmente de zonas endémicas. Esta migración constituye un factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad en esta región. El objetivo del trabajo es determinar la situación epidemiológica y serológica de la infección por *T. cruzi* en jornaleros migrantes en la zona rural de Maneadero, Ensenada, Baja California.

### Materiales y métodos

Estudio de tipo descriptivo, cuantitativo, transversal. Se trabajó en terreno con 30 individuos, de los cuales 19 eran de género femenino y 11 masculino, con edades comprendidas entre los 4 y los 72 años; durante los meses de junio y julio de 2013. Se les informó sobre la enfermedad de Chagas y se les pidió la firma de un consentimiento informado. Completaron una encuesta de riesgo epidemiológico y se les realizó la toma de muestra de 5 mL de sangre. Se realizó el análisis serológico, utilizando Hemaglutinación Indirecta (HAI) y Enzimoimmunoanálisis (ELISA) para Chagas. Los casos discordantes fueron resueltos por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

### Resultados

A partir de los datos epidemiológicos recabados se determinó que el 50% de los individuos analizados provenían de áreas endémicas para la enfermedad y el 30% manifestó conocer al vector. Se diagnosticó un caso positivo para la infección por *T. cruzi* en una mujer de 66 años oriunda de Oaxaca y madre de 10 hijos, lo que representa 3.3% (1/30) de los casos estudiados.

### Conclusiones

El hallazgo de casos positivos con información epidemiológica de riesgo, determinan la importancia de continuar la búsqueda activa de la infección en poblaciones tradicionalmente consideradas no endémicas para la enfermedad.

### Bibliografía

- Velasco-Castrejón, O., et al. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. Sal. Públ. Méx. 1992, 34, 186-196.
- Guhl, F. & Lazdins-Helds, J.K. Reporte del grupo de trabajo científico sobre la enfermedad de Chagas. [Internet]. Argentina: UNICEF/PNUD/Banco Mundial/OMS, Buenos Aires, Argentina. 2005. [Consulta junio 2013]. Disponible en: [http://www.who.int/tdroid/publications/publications/swg\\_chagas.htm](http://www.who.int/tdroid/publications/publications/swg_chagas.htm)
- Rubio, M., Millan, S. & Gutierrez, J. La migración indígena en México, Estado del Desarrollo Económico y Social de los pueblos indígenas de México, (Instituto Nacional Indigenista, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, México, 2000.

**Palabras Clave:** *Trypanosoma cruzi*, Baja California, Méjico, seroprevalencia.

- (1) Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California. México. [salud@uabc.edu.mx](mailto:salud@uabc.edu.mx). (2) Área de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo. Centro Universitario, Ciudad de Mendoza. Provincia de Mendoza, Argentina. [carrizolilianac@gmail.com](mailto:carrizolilianac@gmail.com)

## Infection dynamics of *Rickettsia parkeri* in cattle in the Paraná River Delta, Argentina

Lucas Monje<sup>1</sup>, Valeria Colombo<sup>1</sup>, Marcelo Labruna<sup>2</sup>, Leandro Antoniazzi<sup>1</sup>, Ignacio Gamietea<sup>3</sup>, Santiago Nava<sup>4</sup>, Pablo Beldomenico<sup>1</sup>

The alpha-proteobacterium *Rickettsia parkeri* was first reported as pathogenic in the United States in 2004. In Argentina, cases of human rickettsiosis caused by *R. parkeri* were documented in the provinces of Buenos Aires, Entre Rios and Chaco. The cases of *R. parkeri* infection reported in Argentina were predo-

minantly concentrated around the Paraná River Delta, where the tick implicated in its transmission is *Amblyomma triste*. Previous studies conducted in the same region reported a prevalence of *R. parkeri* in *A. triste* ranging from 8% to 20%. Adults of *A. triste* can use cattle as hosts. Moreover, it has been reported that cattle are susceptible of infection with several members of SFG rickettsiae. Additionally, it has been demonstrated that *R. parkeri*-infected *Amblyomma maculatum* ticks are capable of transmitting this SFG rickettsiae to cattle. The Paraná River Delta constitutes a vast human-domestic-wildlife interface where the risk of pathogen transmission across species is substantial. In this region, farming beef cattle is on the rise, gradually displaced from the Pampas by agriculture. As cows suffer frequent *A. triste* infestations, they are at risk of becoming infected with *R. parkeri* and could act as amplifier hosts of the disease. To contribute to our knowledge on the ecology of this pathogen in the region, we investigated the dynamics of *R. parkeri* and its vector in a herd of beef cattle that was followed for eighteen months.

### Materials and Methods

The study was conducted in fields of an Experimental Station belonging to INTA Delta, Campana (34°9.5' S, 58°51.8' W) in Buenos Aires Province, Argentina. A herd of beef cattle consisting of 21 Aberdeen Angus cows grazing in a mixed system consisting of natural pasture and Salicaceae plantations in INTA Delta were repeatedly bled from the tail vein every five weeks from December 2010 to May 2012. In parallel to blood collection, the left ear of each cow was thoroughly examined in search of ticks. Simultaneously, questing adult ticks were collected from the vegetation by drag-sampling. Presence of *R. parkeri* antibodies was determined by an indirect immunofluorescence assay using crude antigens derived from *R. parkeri* strain At24. The presence of rickettsial DNA was assessed in all cows showing an event of seroconversion. For this purpose, both, the sample that seroconverted and the sample previously obtained from the same cow (seronegative) were analyzed. Blood DNA samples were analyzed by real-time PCR targeting the rickettsial gene *gltA*. The integrity of the DNA extracted from the blood was assessed using a real-time PCR that amplifies bovine 18sRNA gene.

### Results

Ticks (*A. triste* adults) in the environment were found only from August to February, with a peak in August. The count of female ticks (FF) on the left ear largely reflected the seasonal pattern observed for questing ticks. Both counts were highly correlated (Spearman's Rho correlation coefficient= 0.813,  $p=0.0002$ ). The temporal pattern of seroprevalence for *R. parkeri* matched that of tick exposure, showing a peak in August. Seroprevalence was positively correlated with total count of questing ticks (Spearman's Rho coefficient= 0.612;  $p=0.015$ ) and mean count of FF on the left ear (Spearman's Rho coefficient= 0.546;  $p=0.0353$ ). At the individual level, a gene-

ralized linear mixed model with a binary response (seropositivity) using 'cow ID' and 'trapping session' as random effects showed that every female tick attached on the left ear increased the odds of seropositivity in 37.7% (Odds Ratio=1.377). During the entire study, 2 of 21 bovines were never seroreactive to the *R. parkeri* antigen, one cow presented *R. parkeri*-reactive antibodies in all the samples and the rest of the herd presented at least one episode of seroconversion, which in most cases was only transient. Serum endpoint titers against *R. parkeri* antigen varied from 1:64 to 1:512. No presence of rickettsial DNA was detected by *gltA* real-time PCR in the blood of cows showing events of seroconversion. All bovine blood DNA samples were positive for 18sRNA gene real-time PCR.

### Discussion

*Rickettsia parkeri* has previously been reported infecting *A. triste* ticks in Argentina, Brazil and Uruguay. As it has been shown in the present study, *A. triste* parasitizes cattle. A large proportion of the ticks at the study site (8-20%) are infected by *R. parkeri* and the seasonality observed in adult *A. triste* ticks was from late winter to mid-spring. We found no evidence of rickettsemia by PCR, but the high *R. parkeri*-infection rate in *A. triste* in the study area, the common occurrence of this tick parasitizing this herd and the identification of antibodies against *R. parkeri* antigen in 90% of the animals (19 out of 21) are evidence that infection is taking place. Of the 19 seropositive cows, 8 (42%) presented repeated periods of seropositivity, lasting more than three months, and up to 18 consecutive sampling sessions. The rest of the seropositive animals of the herd presented short periods of seropositivity, which in some cases were recurrent. These intermittent periods of seropositivity could be due to the low titers of *R. parkeri*-reactive antibodies that are generated in cattle, but we cannot rule out the possibility of

new episodes of *R. parkeri*-infection produced by *A. triste* ticks feeding on these cows. The time of the year with more animals presenting *R. parkeri*-reactive antibodies (from late winter to mid-spring) was coincident with the peak in the abundance of adult *A. triste* ticks, which is evidence of new infections following infestation by ticks. In this respect, an important statistical relationship was observed between cattle seropositivity and the number of female ticks attached to it, which indicated that each additional tick attached on the left ear of a cow incremented in almost 40% the odds of seropositivity for this animal. Our data suggest that *A. triste* ticks are capable of naturally transmitting *R. parkeri* to cattle. Nonetheless, the negative PCR results indicate that either the length of the rickettsemic period

may not be long, which suggests that cattle might not be very important for the amplification of *R. parkeri* or the rickettsemic levels in cattle blood may not be high enough to allow real-time PCR detection, suggesting that *R. parkeri* replication in cattle might not be efficient. Notwithstanding, a feasible role for cattle in the ecology of *R. parkeri* could be providing a blood meal to a large number of *A. triste* adult ticks which could increase tick population.

### References

- Nava S, Elshenawy Y, Ereemeeva ME, Sumner JW, Mastro-paolo M, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis* 2008 14, 1894-1897.
- Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RR, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2011 17, 1169-1173.

**Keywords:** *Rickettsia parkeri*; *Amblyomma triste*; cattle.

(1) Laboratorio de Ecología de Enfermedades. Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET). Esperanza. Argentina. [lece@fcv.unl.edu.ar](mailto:lece@fcv.unl.edu.ar). (2) Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo. Brazil. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro. San Pedro. Argentina. (4) INTA. EEA Rafaela. Rafaela. Argentina. [rafaela@correo.inta.gov.ar](mailto:rafaela@correo.inta.gov.ar)

## Leishmaniosis visceral canina en el Paraguay

### Canine visceral leishmaniosis in Paraguay

Jorge Miret<sup>1</sup>, Ramón Martínez<sup>1</sup>, Jorge Ojeda<sup>1</sup>, Edgar Galeano<sup>1</sup>, Haidée Ocampos<sup>1</sup>, Luis Sosa<sup>1</sup>, Ricardo Durand<sup>1</sup>, Aurelio Fiori<sup>1</sup>

La leishmaniosis visceral canina (LVC), es una enfermedad parasitaria zoonótica causada por la *Leishmania infantum* y transmitida por la picadura de flebótomos infectados de la especie *Lutzomyia longipalpis*; con una amplia prevalencia de la infección en el hemisferio norte y sur tanto del Viejo como del Nuevo Mundo. El objetivo del trabajo fue determinar la seroprevalencia de la infección por LVC a partir de muestras sanguíneas, solicitadas por propietarios de caninos y/o veterinarios, búsqueda activa de casos en áreas de transmisión silenciosa e intervenciones de focos de casos humanos de leishmaniosis visceral (LV) analizados por el PNCZyCAN en el año 2013.

### Materiales y métodos

El diseño del estudio fue observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal. Se utilizó la prueba serológica inmunocromatográfica con el antígeno recombinante K39 de la marca comercial Cypress Diagnostics®, Bélgica y Tellmefast Biocan®, Canadá, siguiendo el protocolo descrito por los fabricantes.

### Resultados

Se analizaron un total de 12115 sueros caninos. Se observaron resultados serológicos positivos en: 3182 (48,6%) de las 6537 muestras procedentes de rutina (pedidos de propietarios y/o veterinarios); en 301 (20%) de las 1505 muestras procedentes de búsqueda activa y en 811 (19,9%) de las 4073 muestras caninas procedentes de las 50 intervenciones

de focos humanos de LV procedentes de Asunción, del Dpto Central, Cordillera, Caazapá y Paraguarí. Se sacrificaron un total de 165 caninos positivos (54,8%) procedentes de búsqueda activa de casos y 366 caninos positivos (45,1%) procedentes de focos de casos humanos de LV.

### Conclusiones

La leishmaniosis visceral canina es una enfermedad endémica en el Paraguay, la alta prevalencia de caninos seropositivos en el área metropolitana de Asunción y en diversos departamentos del país, indican la clara necesidad de continuar con las medidas de manejo integrado de vigilancia epidemiológica y de educación sanitaria para el control de esta enfermedad.

### Bibliografía

- Miret J, Medina M, Velázquez AL, Sosa L, Castagnino M. Leishmaniosis visceral en caninos errantes en la ciudad de Asunción, Paraguay. *Rev Parag Epidemiol* 2011; 2(2): 13-22.
- Sosa L, Castagnino M, Miret J, Páez M. Prevalencia de leishmaniosis visceral canina a partir de intervenciones de focos de leishmaniosis visceral humana en la ciudad de San Lorenzo (Paraguay), año 2009. *Rev Parag Epidemiol* 2011; 2(2): 23-32.
- Miret J, Sosa L, Galeano E, Ocampos H, Martínez R, Ojeda J, Castagnino M. Situación epidemiológica de la leishmaniosis canina en el Paraguay (años 2005-2010). *Rev Parag Epidemiol* 2010; 1(S1): 74-75.
- Segovia V, Benítez S, Echeverría L. Prevalencia de leishmaniosis visceral canina en el área de influencia de la Unidad de Salud de la Familia Marín Ka'aguy Luque. *Rev Salud Pública Parag* 2011; 1(2): 11-18.

**Palabras clave:** leishmaniosis visceral canina, seroprevalencia, rK39, Paraguay.

(1) Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional (PNCZyCAN). Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS). Campus UNA. San Lorenzo. Paraguay. [jorgemiret@gmail.com](mailto:jorgemiret@gmail.com)

## *Rickettsia felis* en pulgas *Ctenocephalides felis* de barrios carenciados de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Resultados preliminares

***Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* fleas from poor neighborhoods of Buenos Aires city. Preliminary results.**

M. Laura Isturiz<sup>1</sup>, M. Cielo Linares<sup>1</sup>, M. Nazarena De Salvo<sup>2</sup>, Federico E. Gury Dohmen<sup>3</sup>, Gabriel L. Cicuttin<sup>2</sup>

Las pulgas están distribuidas mundialmente y son vectores de numerosas enfermedades, muchas de ellas zoonóticas. Entre las pulgas que parasitan a perros y gatos se encuentran *Ctenocephalides canis* y *C. felis*, siendo esta última la especie hallada con mayor frecuencia. *C. felis* presenta distribución mundial, no tiene especificidad de huésped, pudiendo parasitar a distintos animales, incluso al hombre.

Las rickettsias son bacterias Gram negativas cocobacilares adaptadas a vivir en forma intracelular estricta. Afectan las células endoteliales del hospedador, siendo característica la vasculitis como hallazgo anatomopatológico común a todas las enfermedades rickettsiales. Las manifestaciones clínicas en humanos varían desde formas asintomáticas hasta fiebres hemorrágicas y fallas multisistémicas. Estas enfermedades zoonóticas constituyen un complejo clínico epidemiológico con una amplia gama de reservorios y vectores.

Las pulgas son vectores de *Rickettsia typhi* y *R. felis*. La infección en el hombre puede ocurrir por auto inoculación de materia fecal de pulgas al rascarse en el sitio de picadura, por transmisión directa durante la picadura y por inhalación de heces desecadas de pulga.

El ciclo biológico de *R. typhi* se mantiene en la naturaleza entre hospedadores mamíferos (rata y humanos) y vectores (pulga *Xenopsylla cheopis*). También se han descrito en Estados Unidos nuevos patrones de transmisión para esta rickettsiosis, con *C. felis* como vector y nuevos reservorios (perros, gatos y zarigüeyas).

*R. felis* ha sido hallada en ectoparásitos de diversos animales (perros, gatos, roedores, zarigüeyas) desconociéndose aún el rol que cumplen los mamíferos en su ciclo biológico. *C. felis* es el vector más frecuen-

te, con transmisión vertical y horizontal. En el hombre la infección por *R. felis*, presenta un cuadro similar al producido por *R. typhi*, con lesión endotelial como elemento clave en la fisiopatología de la enfermedad. Los signos clínicos son inespecíficos, comúnmente fiebre, eritema, cefalea, vómitos y dolor abdominal.

El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de *Rickettsia* spp. en pulgas de perros y gatos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) e identificar molecularmente las especies de rickettsias halladas.

## Materiales y métodos

Las pulgas se recolectaron en forma manual durante la atención médica y/o esterilización quirúrgica de los perros y gatos de barrios carenciados de las áreas de cobertura de los Centros de Salud y Acción Comunitaria N°18 y 24 en CABA. Se conservaron en alcohol 70% y la identificación de las mismas se realizó con lupa estereoscópica según las claves taxonómicas descriptas. Una vez observadas e identificadas, las muestras se conservaron secas en microtubos a -70°C.

La extracción de ADN se realizó a partir de grupos de 3 a 5 individuos con el método del tiocianato de guanidina. Para la detección de *Rickettsia* spp. se utilizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, según sus siglas en inglés) simple para amplificar un fragmento del espacio intergénico 23S-5S. A las muestras positivas se les realizó una segunda PCR para un fragmento de la proteína de membrana externa (*ompA*). *R. parkeri* fue utilizada como control positivo y agua libre de nucleasas como control negativo.

Los productos amplificados fueron purificados con Zymoclean Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research, Irvine, EEUU) y secuenciados en un secuenciador 3500 Genetic Analyzer sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU) en el Servicio de Neurovirosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Argentina). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con secuencias disponibles en GenBank, mediante la utilización del software BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/blast](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast)).

## Resultados

En total se colectaron 115 pulgas de 62 animales (35 perros y 27 gatos), las cuales fueron todas identificadas como *C. felis*, y se confeccionaron 24 grupos de 3-5 pulgas cada uno para la extracción de ADN.

Todas las muestras resultaron positivas para ambas PCRs para *Rickettsia* spp., con un nivel mínimo de infección de 20.9% [nivel mínimo de infección = (número de grupos positivos / total de especímenes estudiados) x 100].

De los productos de PCR positivos al fragmento del espacio intergénico 23S-5S se seleccionó uno al

azar para su secuenciación. La secuencia obtenida tuvo un 100% de identidad con respecto a distintos hallazgos de *R. felis* en diversas regiones del mundo.

## Discusión

Nuestro estudio demuestra por primera vez la circulación de *R. felis* en CABA. Actualmente estamos caracterizando molecularmente los hallazgos realizados para poder develar la relación filogenética de *R. felis* circulante en nuestro medio con respecto a los otros hallazgos de Argentina y de otras regiones mundiales.

En Sudamérica, *R. felis* ha sido detectada en pulgas *Ctenocephalides* spp. en Uruguay, Chile y Brasil, con desarrollo de enfermedad clínica humana en este último país. En Argentina, se halló en pulgas *C. felis* de Santa Fe y Corrientes, sin notificarse hasta la actualidad casos humanos.

Este estudio constituye un aporte relevante para la epidemiología regional de las rickettsiosis. Los perros y gatos comparten un estrecho vínculo con el ser humano. En barrios carenciados este hecho puede representar un considerable riesgo para la salud pública, ya que la convivencia se da en condiciones sanitarias desfavorables y con una sobreabundancia de ectoparásitos que redundan en frecuentes picaduras de los mismos a las personas. En conclusión, esta patología deberá ser considerada por el primer nivel de atención médica especialmente en poblaciones vulnerables como las aquí estudiadas.

## Bibliografía

1. Venzal JM, Nava S. El género *Rickettsia* como agente de zoonosis en el Cono Sur de Sudamérica. *Rev. Med. Urug.* 2011;27(2):98-106.
2. Pérez Osorio CE, Zavala Velázquez JE, Arias León JJ, Zavala JE. *Rickettsia felis* as Emergent Global Threat for Humans. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1019-23.
3. Nava S, Pérez Martínez L, Venzal JM, Portillo A, Santibáñez S, Oteo JA. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* from Argentina. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008;8(4):465-6.
4. Lareschi M, González A, De Villalobos C. Siphonaptera. Pulgas. En: Salomón O. Artrópodos de interés médico en Argentina. Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación monográfica N° 6. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano; 2005. p. 85-9.

**Palabras clave:** *Rickettsia felis*, pulgas, Buenos Aires.

(1) Residencia de Veterinaria en Salud Pública. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (IZLP). (2) Área Zoonosis Bacterianas y Parasitarias Transmitidas por Vectores - Sección Serología e Inmunodiagnóstico. IZLP. (3) División Diagnóstico e Inmunología. IZLP. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. [residenciavetpasteur@gmail.com](mailto:residenciavetpasteur@gmail.com) / [gicuttin@gmail.com](mailto:gicuttin@gmail.com)

## Enfermedad de Chagas en un municipio del conurbano bonaerense

**Chagas disease in one township of Buenos Aires**

Juan Pablo Stagnaro<sup>1,2</sup>, Judith Celina Bernstein<sup>2</sup>, Regina Albarez<sup>1</sup>

La enfermedad de Chagas (CM) es la antropozoonosis endémica más importante de la Argentina, con una prevalencia del 4%. El vector más frecuente es *Triatoma infestans*, aunque no el único. Según la Iniciativa del Cono Sur para controlar e eliminar la enfermedad de Chagas en el 2001 Jujuy, Entre Ríos, Neuquén, La Pampa y Río Negro fueron categorizadas como provincias libres del vector (PLV), reafirmado en 2012.

El objetivo de este trabajo fue determinar características clínicas y socio-epidemiológicas de las personas que concurren a atenderse por CM en nuestro Hospital.

### Material y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, analizándose las historias clínicas de 145 pacientes que se atendieron en el Servicio de Cardiología del HZGA Mi Pueblo de Florencio Varela, Buenos Aires, desde enero de 2011 a marzo de 2014. Se analizaron: edad, género, nacionalidad, lugar de procedencia, nivel de escolaridad, nivel de ocupación, tenencia de obra social, ocupación, edad al diagnóstico, formas de transmisión, tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta la consulta cardiológica (TD) y enfermedad crónica asociada al Chagas. Se confeccionó una base de datos utilizando el programa SPSS 19,0<sup>®</sup> para Windows<sup>®</sup> en la cual se cargaron los datos. Las técnicas estadísticas utilizadas incluyeron resumen en proporciones, Odds Ratio (OR) con determinación del Intervalo de confianza del 95% (IC) y regresión logística. En nivel de significancia estadística (p) se estableció en 0.05.

### Resultados

La media de edad es de 50 años (2-80 años). La distribución etaria de la muestra es normal. 99 son mujeres (68.3%). 120 pacientes (82.8 %) tienen su domicilio en Florencio Varela, los 15 restantes viven en: Berazategui, Quilmes y CABA. Nacionalidad: 118 argentinos (81,4%), 18 bolivianos (12.4 %) y 10 paraguayos (6.9 %). La procedencia: Chaco 34 (23.4 %), Santiago del Estero 25 (17.2 %), Tucumán 12 (8.3 %), Buenos Aires 11 (7.6 %), Paraguay 10 (6.9 %), Salta 8 (5.5 %), Corrientes 7 (4.8 %), Formosa 5 (3.4 %) y

otros (Santa Fe, Córdoba, San Juan, Mendoza, Jujuy, Catamarca, Córdoba y Misiones) 16 (11.0 %). De estos, 4 pacientes provienen de PLV. 104 pacientes (71.7 %) manifiestan conocer a la vinchuca. Nivel de escolaridad: 24 (16.7 %) analfabetos, 31 (21.5 %) poseen primaria incompleta, 71 (49.3 %) primaria completa, 11 (7.6 %) secundario completo y 6 (4.1 %) secundario incompleto. 108 (74.5 %) no realizan actividad laboral y solo 18 (12.4 %) posee obra social.

Las formas de transmisión son: 127 (87.6 %) por transmisión vectorial; 12 (8.3 %) por transmisión vertical, 6 (4.1 %) transfusional. La edad media de realización del diagnóstico fue de 35.5 años (mediana 34), con un rango de 0 a 68 años.

El TD medio hasta la consulta cardiológica es 15 años (0-50 años). 14 pacientes (9.7 %) se diagnosticaron antes de los 18 años de edad. 53 personas (36.6 %) tiene más de 20 años de diagnóstico de la enfermedad. El 100 % de los diagnósticos se ha realizado por serología.

Globalmente, 57 (39.3%) de los pacientes poseen Chagas crónico con patología demostrable, 23 pacientes (15.9%) tienen bloqueo de rama (BR) derecha, 13 (9%) extrasístoles ventriculares o taquicardia ventricular, 9 (6.2%) BR izquierda, 9 (6.2%) BR derecha con hemibloqueo anterior izquierdo. 7 (4.8%) tienen dispositivos intracardiácos relacionados al control de la frecuencia cardíaca secundaria a trastornos de la conducción por Chagas. 72 (49.7%) tienen ECG normal y 4 pacientes tienen cardiomegalia evidenciable en la radiografía de tórax. Sólo

30 poseen estudio ecocardiográfico realizado, normal en 24 (16.6%), dos con miocardiopatía dilatada y uno con aneurisma de punta. Un paciente presenta megacolon.

Del análisis estadístico, se observa que las personas con menos de 20 años de TD tienen 3.55 veces menos probabilidad de sufrir daño cardíológico por Chagas (OR: 3.55, IC: 1.75-7.27  $p < 0.05$ ). Las personas que se contagiaron por mecanismo vectorial en PLV no conocían al vector; se infiere que el interrogar a las personas acerca del conocimiento no es una forma adecuada de evaluar la presencia vectorial en PLV (OR: 3, IC: 0.6-14.18  $p > 0.05$ ). Pero conocer el vector en las otras provincias tiene más probabilidad que la transmisión haya sido vectorial (OR: 9.13, IC: 3.4-27.99  $p < 0.05$ ).

Las personas con diagnósticos antes de los 18 años tienen más probabilidad de tener Chagas congénito (OR: 9.81, IC: 2.95-37.29  $p < 0.05$ ).

En análisis de regresión logística, usando como variable dependiente transmisión no vectorial, (S: 44.4%, E 96.9%) se encontró que recibir transfusiones (OR: 9.15 IC: 1,61 – 51.91  $p < 0.05$ ) y tener madre chagásica conocida (OR: 5.60, IC: 1.57 – 19.54  $p < 0,05$ ) se relacionó directamente con mecanismo de transmisión no vectorial. El conocer la vinchuca tiene un

30% más de probabilidad que el contagio de la enfermedad se deba a mecanismo vectorial (OR de 0.7 IC: 0.01 – 0.30  $p < 0.05$ ).

### Conclusiones

Muchos de los diagnósticos son tardíos; hay desconocimiento poblacional de daños a largo plazo. Las corrientes migratorias desde el norte hacia el conurbano bonaerense nos deben alentar a testear a los menores de 18 años provenientes de zonas endémicas o con circulación vectorial, testear a toda mujer embarazada y los hijos de madres con diagnóstico positivo y retomar la búsqueda activa del vector en localidades con condiciones socioeconómicas desfavorables. De esta forma, se puede aumentar la cantidad de personas con diagnóstico positivo y poder establecer correctas políticas de salud.

### Bibliografía

1. Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010;375:1388-402.
2. Gürther RE, Segura EL, Cohen JE. Congenital Transmission of Trypanosoma cruzi Infection in Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003;9(1):29-32.
3. Gajate P, Pietrokovsky S, Abramo Orrego L, et al. Triatoma infestans in Greater Buenos Aires, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96(4):473-477.

**Palabras clave:** Chagas, miocardiopatía, Tripanosoma.

(1) Hospital Zonal General Agudos "Mi Pueblo", Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.  
*infectologia@hospitalmipueblo.org*

(2) Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

## Leishmaniasis visceral en caninos de Mendoza provenientes de zona endémica de la República Argentina

Visceral Leishmaniasis in Mendoza in dogs introduced from endemic regions of Argentina

Roberto Mera y Sierra<sup>1</sup>, Ricardo Lo Bello<sup>2</sup>, Sergio Biglieri<sup>1</sup>, Gisela Neira<sup>1</sup>

*Leishmania infantum* (syn. *chagasi*) es el agente causal de leishmaniasis visceral en humanos del continente americano, siendo el perro (*Canis familiaris*), su hospedador doméstico y reservorio más importante. Este protozoo, cumple parte de su ciclo vital en dípteros del género *Lutzomyia*, que actúan como vectores de esta parasitosis. En el año 2006 fue reportado el primer caso de leishmaniasis visceral humana en la ciudad de Posadas, Misiones, con la presencia concomitante de *Lutzomyia longipalpis* y caninos infectados con *L. infantum*. En el periodo correspondiente a 2006-2012, 103 casos humanos de leishmaniasis visceral fueron notificados en Argentina. Las provincias con pacientes afectados en este periodo fueron Misiones (80), Corrientes (8), Salta (3) y Santiago del Estero (6). Existen 6 casos humanos reportados en la provincia

de Buenos Aires, cuyo lugar de contagio no ha sido aún identificado. Estudios realizados en Posadas, Misiones, arrojaron un 45.4% de caninos positivos a serología para *Leishmania infantum*. Se ha encontrado perros con leishmaniasis visceral en cada provincia de Argentina con casos autóctonos humanos. Existe *L. longipalpis* en la Mesopotamia argentina, Formosa y Salta. En Santiago del Estero a la fecha, solo fue capturado el vector putativo *Mygonomia migonei*. Además existen vectores competentes en Santa Fé, Córdoba y Catamarca. A la expansión vectorial se agrega la distribución de caninos, trasladados de zonas de endemia, donde el número llega a más de 7000 animales afectados, a otras partes del país. El objetivo de este trabajo es el reporte de casos de leishmaniasis visceral en caninos radicados en la provincia de Mendoza provenientes de zona endémica del Noreste argentino.

### Materiales y métodos

En Diciembre del 2012 y Febrero de 2013 se realizó un estudio descriptivo observacional de dos caninos radicados en la provincia de Mendoza, arribados recientemente de la provincia de Corrientes y Misiones respectivamente. Ambos caninos fueron examinados clínicamente. Análisis hematológicos fueron llevados a cabo en el canino proveniente de la provincia de Corrientes. Se realizaron sendas pruebas serológicas en ambos animales. La técnica realizada fue inmunocromatografía para la detección anticuerpos circulantes específicos frente a kinasinas de *Leishmania infantum* (Speed Leish K). Ambos perros fueron sometidos a necropsia y se llevaron a cabo estudios histopatológicos.

### Resultados

El paciente proveniente de la provincia de Corrientes era un canino macho, mestizo, de 1 año de edad. A la examinación clínica presentaba alteraciones dermatológicas y linfadenomegalia en linfonódulos submaxilares y poplíteos. En el aparato digestivo se palpó una masa en mesogastrio ventral. Los otros sistemas no presentaron particularidades. Se realizaron estudios hematológicos cuyos valores estaban dentro de los rangos normales para la especie. El canino originario de Posadas, Misiones era una hembra, raza Golden retriever, 4 meses de edad, que llevaba 2 meses radicada en la provincia de Mendoza. El mismo no presentaba sintomatología alguna. No se realizaron estudios hematológicos. Se investigó leishmaniasis mediante inmunodiagnóstico, debido a que el animal provenía de zona endémica. Las pruebas de inmunocromatografía resultaron positivas para ambos pacientes. Se repitió la prueba para el canino proveniente de Misiones a los 30 días, debido a su corta edad. El resultado nuevamente fue positivo. A la necropsia en el animal de Corrientes se observó esplenomegalia y hepatomegalia. En el estudio histopatológico se hallaron amastigotes fagocitados en macrófagos y células plasmáticas de linfonódulos. En el estudio histopatológico del perro de Misiones se hallaron amastigotes

fagocitados por macrófagos en hígado, linfonódulos ilíacos, lengua y bazo. El diagnóstico para ambos casos fue lesión inflamatoria multisistémica con microorganismos de *Leishmania spp.*

### Discusión

Los caninos representan el principal reservorio doméstico de la leishmaniasis visceral zoonótica. El perro es considerado un importante sustentador de la enfermedad debido al largo periodo de prepatencia, alta concentración de amastigotes en piel, gran porcentaje de recaídas, junto con ausencia de un tratamiento que logre la total erradicación del parásito en el animal. Además se ha demostrado hasta un 90% de animales asintomáticos, con la misma capacidad de mantener el ciclo. La transmisión de la parasitosis de forma sexual y vertical en esta especie también se ha estudiado, manteniendo el ciclo entre los caninos, incluso en ausencia del flebótomo vector. Por otra parte existen estudios que demuestran que otras especies de artrópodos podrían actuar como vectores de la enfermedad, como el caso de *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata marrón del perro) en los cuales se realizó extracción de ADN en hembras, sus huevos y sus larvas. Luego el ADN fue amplificado por medio de TaqMan RT-PCR y se demostró la presencia de ADN del kinetoplasto de *L. infantum* en los tres estadios de los ácaros analizados. En la provincia de Mendoza no existen reportes de *Lutzomyia longipalpis* a la fecha, pero el monitoreo para la búsqueda del mismo debería intensificarse, debido a que este se encuentra en franca expansión hacia el oeste y sur de las zonas de endemia. Por todo lo expuesto la presencia de casos de leishmaniasis visceral en caninos de Mendoza alertaría sobre un potencial riesgo de instalación del ciclo entre los caninos de la región y un serio problema de salud pública.

### Bibliografía

- Gould I, Perner M, Santini M, Saavedra S, Bezzi G, Maglianese M, Antman J, Gutierrez J, Salomon O. Leishmaniasis visceral en la Argentina, Notificación y Si-

tuación Vectorial (2006-2012). *Medicina* (B Aires). 2013; 73(2):104-10.

- Salomon OD, Quintana M, Mastrángelo A, Fernandez M. Leishmaniasis and Climate Change—Case Study: Argentina. *J Trop Med* 2012; 2012:601242.
- Dantas Torres F, Latrofa M, Otranto D. Quantification of *Leishmania infantum* DNA in females, eggs and larvae of *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors*, 2013; 13;4:56.
- Cruz I, Acosta L, Gutierrez M, Nieto J, Cañavate C, Deschutter J, Bornay-Linarer F. A canine leishmaniasis pilot survey in an emerging focus of visceral leishmaniasis: Posadas (Misiones, Argentina). *BMC Infect Dis* 2010 Dec 1;10:342.

**Palabras clave:** Leishmaniasis visceral, perros, Mendoza.

(1) Centro de Investigación en Parasitología Regional, Universidad Juan Agustín Maza. Guaymallén, Mendoza, Argentina. [cipar.umaza@gmail.com](mailto:cipar.umaza@gmail.com). (2) Lobello-Puebla Veterinaria. Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina. [ricardolobello@speedy.com.ar](mailto:ricardolobello@speedy.com.ar)

## Leishmaniasis visceral: Evaluación del riesgo de transmisión en la ciudad de Santa Ana, Misiones, Argentina

**Visceral Leishmaniasis: Evaluation of the risk of transmission in the city of Santa Ana, Misiones, Argentina**

Santini MS.<sup>1</sup>, Gould IT.<sup>1</sup>, Casas N.<sup>2</sup>, Blanco J.<sup>2</sup>, Costa de Oliveira V.<sup>2</sup>, Salomon OD.<sup>3</sup>

La Leishmaniasis Visceral (LV) urbana es producida por *Leishmania infantum*, *Lutzomyia longipalpis* es el principal vector y el perro reservorio urbano. En el 2012, a raíz de los casos humanos ocurridos en San Ignacio y con el fin de evaluar la situación de transmisión de LV en la zona, se evaluó el riesgo en la ciudad de Santa Ana.

### Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo del 17 al 23 de noviembre de 2012. La ciudad fue dividida en áreas de 400 x 400 m. En cada una de las áreas se seleccionó un domicilio bajo criterio "peor escenario" sitio más probable de encontrar vectores. En cada domicilio se evaluó la presencia de vectores y perros infectados. Para la captura de vectores se utilizaron mini trampas de luz (CDC), que funcionaron toda la noche, aproximadamente de 18 hs-9 hs, durante 3 noches consecutivas sin lluvia. Así mismo en cada área, cubriendo un radio de distancia de 25 m, se evaluó la probable infección de perros a partir de muestra de sangre, a las que se les realizó análisis serológico con la técnica de RK39.

### Resultados

En este estudio fueron evaluadas un total de 47 viviendas, con un esfuerzo de muestreo acumulado de 141 trampas-noche. De las mismas el 78.7% fueron positivas para *Lu. longipalpis*. La distribución de las abundancias fue, 21,3% nula, 40,4% baja, 12,8% moderada y 21,3% alta. De un total de 1795 flebotomos el 91,2% fueron *Lu. longipalpis*. En relación a los perros estudiados, se analizaron un total de 205 perros, un promedio de 2,15 perros por casa.

La prevalencia fue de 17,1%, de los cuales el 51,43% resultaron asintomáticos a la revisión clínica efectuada durante la extracción de muestra.

### Conclusiones

Este estudio nos confirma el riesgo de transmisión de LV humana y canina que existe en la ciudad de Santa Ana. Del mismo se desprende la inminente necesidad de toma de decisiones que deben generarse para evitar que la transmisión siga aumentando y en este sentido evitar la ocurrencia de nuevos casos humanos y caninos en la región.

### Bibliografía

- Santini MS, Fernández MS, Pérez AA, Sandoval AE, Salomón OD. *Lutzomyia longipalpis* abundance in the city of Posadas, northeastern Argentina: variations at different spatial scales. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012 Sep;107(6):767-71.
- Santini MS, Acardi SA, Sandoval EA, Tartaglino L, Salomón OD. *Lutzomyia longipalpis* behavior and control at an urban visceral leishmaniasis focus in Argentina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2010 Jul-Aug; 52(4):187-91.
- Galati EAB, 2003. Classificação de Phlebotomíneos. In EF Rangel, R Lainson, Flebotomíneos do Brasil, Editora Fio-cruz, Rio de Janeiro, p. 23-52.

**Palabras clave:** Leishmaniasis visceral, *Lutzomyia longipalpis*, Santa Ana.

(1) Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación de Endemoepidemias (CeNDIE)-ANLIS-Ministerio de Salud de la Nación.

(2) Programa Nacional de Control de Enfermedades Zoonóticas. (3) Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT)-Ministerio de Salud de la Nación. *mariaoledadsantini@gmail.com*

## Leishmaniosis tegumentaria: una serie de casos atendidos en una región no endémica de Argentina

**Tegumentary leishmaniasis: case series study in non-endemic region of Argentina**

María L. Yantorno<sup>1</sup>, María F Ferrer<sup>1</sup>, Yanina Nuccetelli<sup>1</sup>, Cecilia Pfoh<sup>1</sup>,  
Virginia Angeletti<sup>1</sup>, Amadeo Esposto<sup>1</sup>, Gloria de la Parra<sup>1</sup>

La leishmaniosis tegumentaria (LT) es una enfermedad endémica en diez provincias subtropicales de Argentina, aunque debido a migraciones internas y al incremento de viajes internacionales se puede presentar en áreas no endémicas. Es necesario conocer la situación actual de la enfermedad en estas regiones donde existen dificultades para el diagnóstico y el tratamiento oportuno. El objetivo del presente estudio es describir una serie de casos de LT en una región no endémica de Argentina.

### Materiales y métodos

Se revisaron las historias clínicas de pacientes mayores de 16 años atendidos en el Servicio de infectología de un hospital público de la provincia de Buenos Aires, en un período de 11 años (enero de 2003 y febrero de 2014). Se clasificó LT en leishmaniosis cutánea, muco-cutánea y mucosa. Se definió caso de LT por variables clínicas, epidemiológicas, histopatológicas y microbiológicas. La reacción de Montenegro se consideró positiva con > 5 mm. Se estudiaron las características epidemiológicas, clínicas y la respuesta al tratamiento específico. Se realizaron: controles con exámenes bioquímicos antes, durante y luego de finalizado el tratamiento; electrocardiograma y evaluación cardiológica a pacientes mayores de 40 años. El seguimiento fue clínico, y con exámenes de rinoscopia y laringoscopia a los 1, 3, 6 y 12 meses del tratamiento. Se definió cura y falla según persistencia de lesiones clínicas al tercer mes del tratamiento. Se procesaron los datos en programa spss.19. Se utilizaron medidas centrales y de dispersión: media y mediana junto a desvío estándar y rango respectivamente para variables cuantitativas.

### Resultados

Se estudiaron 8 pacientes con LT atendidos en un período de 11 años: 3 viajeros y 5 inmigrantes procedentes de áreas endémicas. Hombres 87.5%. Edad promedio 40 (+ 15). El 87.5% tenía ocupación de riesgo: agricultor 5, biólogo 1, geólogo 1. La totalidad de los agricultores se había dedicado al cultivo

de mandioca, caña de azúcar y maíz en zonas endémicas varios años antes de la consulta, en San Pedro (Paraguay), Sucre (Bolivia) y Chaco (Argentina). Los viajeros habían visitado Puerto Iguazú, Argentina (1), y Urubamba, Perú (2). Los pacientes habían consultado en diferentes servicios de salud sin respuestas favorables y acudieron a la consulta refiriendo cuadro clínico compatible con LT con mediana de 36 semanas (3-480) de evolución. Formas clínicas de LT: mucosa 50% (4), cutánea 37.5% (3), mucocutánea 12.5% (1). Se localizaron en miembro inferior 12.5% (1), miembro superior 25% (2), tabique nasal 37.5% (3) y tabique nasal - paladar 25% (2). Diagnóstico: PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de 37.5%, examen directo 25%, cultivo 12.5%, histología 12.5%. Reacción de Montenegro se realizó en 3 pacientes y fue positiva. Tratamiento inicial: 50% antimonio de meglumina (AM), 37.5% anfotericina B desoxicolato (ABD), 12.5% azitromicina. Se observó cura en el 12.5% (1) y pérdida del seguimiento en 25% (2). Se realizó segundo ciclo de tratamiento (5) con ABD en 1, anfotericina B liposomal en 2 pacientes y estibogluconato de sodio en 2. Eventos adversos: 37.5%: 1 farmacoma (AM) y 2 nefrotoxicidad (ABD). Evolución a los 12 meses: 37.5% cura, 37.5% pérdida de seguimiento y 25% falla.

### Conclusiones

Se destaca que la totalidad de los pacientes estudiados presentó el antecedente de haber permanecido en zonas endémicas de leishmaniosis de Argentina, Paraguay, Bolivia y Perú. Sin embargo

se realizó el diagnóstico en forma tardía, probablemente porque los pacientes no consultaron con premura y por la falta de sospecha clínica. La forma clínica prevalente fue mucosa y la mayoría de los casos se diagnosticó por PCR, siendo ésta una herramienta muy valiosa en casos de LT. La falta de homogeneidad en los tratamientos se debió a la disponibilidad irregular de drogas, debido a que es una enfermedad desatendida en nuestro país. A pesar de que algunos pacientes se perdieron en el seguimiento, se logró la cura en otros. Si bien se presentan pocos casos, se remarca la importancia de pensar en enfermedades regionales fuera de las áreas endémicas, debido a las importantes migraciones internas y externas que ocurren a lo largo de nuestro país.

### Bibliografía

- Murray H, Berman J, Davies C, Saravia N. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005; 366: 1561–77.
- Boggild AK, Valencia BM, Veland N, Pilar Ramos A, Calderon F, et al. (2011) Non-Invasive Cytology Brush PCR Diagnostic Testing in Mucosal Leishmaniasis: Superior Performance to Conventional Biopsy with Histopathology. *PLoS ONE* 6(10): e26395. doi:10.1371/journal.pone.0026395.
- Solomon M, Pavlotzky F, Barzilai A, Schwartz E. Liposomal amphotericin B in comparison to sodium Stibogluconate for Leishmania braziliensis cutaneous leishmaniasis in travelers. *American Academy of Dermatology*, August 1, 2012.1:6.
- Wortmann G, Zapor M, Ressler R, Fraser S, Hartzell J, Pierson J, Weintrob A, Magill A. Liposomal Amphotericin B for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 83(5), 2010, pp. 1028–1033.

**Palabras clave:** leishmaniosis tegumentaria, anfotericina B, antimonio de meglumina.

(1) Servicio de Infectología. Centro de Medicina del Viajero. Hospital Interzonal General de Agudos "Gral. San Martín". La Plata. Buenos Aires. Argentina. [infectohigasm@yahoo.com.ar](mailto:infectohigasm@yahoo.com.ar)

## Presencia de infección por *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii* en caninos de localidades de la provincia de Salta

### Presence of infection by *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* in canine from towns in the province of Salta

Javier Binda<sup>1</sup>, Gabriela Trova<sup>2</sup>, Marcelo Alonso<sup>3</sup>, Rodrigo Pereyra<sup>4</sup>, Olga Sánchez Negrette<sup>4,5</sup>

La convivencia tan estrecha entre caninos y humanos permitió que ambas especies, padezcan algunas enfermedades comunes como las parasitosis. De todas las posibles, nos enfocaremos en este trabajo en dos: la *Toxoplasmosis* y la *Trypanosomiasis americana*. La infección por *T. gondii* es adquirida principalmente por ingestión de agua y/o comida contaminada y mal cocida. Debido a la dificultad de determinar la prevalencia de *T. gondii* directamente en el ambiente, Chao et al, considera una buena alternativa conocer la seroprevalencia de infección por *T. gondii* en perros. La provincia de Salta es endémica para la Enfermedad de Chagas, infección producida por el protozoo, *Trypanosoma cruzi*. En el ciclo biológico intervienen mamíferos como el hombre y los animales domésticos (ciclo doméstico y peridoméstico) o silvestres como roedores y carnívoros (ciclo selvático). En el medio rural, el perro constituye un nexo entre los tres ciclos. La existencia de caninos seropositivos a *T. cruzi* indica la posibilidad de transmisión activa de la enfermedad de Chagas permitiendo monitorear la transmisión de la misma en el pasado más reciente.

Debido a esto los objetivos de este trabajo fueron: conocer la seroprevalencia de infección por *T. gondii* y *T. cruzi* en caninos en cuatro zonas rurales de la provincia de Salta.

### Materiales y métodos

**Área de estudio.** El estudio fue realizado en cuatro localidades de la provincia de Salta: a) La Unión, b) San Carlos c) Cafayate, d) Embarcación.

Tipo de diseño: observacional cuasi-experimental

Selección de individuos. Los canes fueron seleccionados de dos formas: a) por visitas domiciliarias

en las localidades de La Unión y San Carlos; b) como parte de campañas de esterilización en las localidades de, Cafayate y Embarcación.

**Datos epidemiológicos.** De cada animal se registró: nombre, edad, sexo. Del propietario, conocimiento de enfermedades parasitarias, condiciones de las viviendas.

**Toma de muestra de sangre.** Se realizó por venopunción cefálica antibraquial; el suero se conservó a -20°C hasta su utilización en el procesamiento serológico.

**Pruebas serológicas.** Hemaglutinación indirecta (hai): detección de anticuerpos contra el *t. Cruzi* y contra el *t. Gondii*. (Chagatest hai-wiener lab, toxotest hai-wiener lab). Ensayo inmunoenzimático (elisa) detección de anticuerpos contra el *t. Cruzi*. (Sigma-aldrich), y en las muestras seropositivas a *t. Cruzi* se realizó elisa (idexx) para la detección de anticuerpos anti-*leishmania* (*I. Donovanii* y *I. Infantum*).

**Análisis estadístico.** Test exacto de Fisher, (epi-info 6.0).  $P < 0.05$ .

Consideraciones éticas: la toma de muestra y posterior análisis se realizaron con previa autorización de los dueños o protectores de los canes. La extracción de sangre, se realizó en condiciones asépticas y evitando el sufrimiento del animal.

## Resultados

Los resultados serológicos que indican la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* y anti- *T. gondii* se resumen en la Tabla 1.

## Discusión

La provincia de Salta, es endémica para *Leishmania spp* y éste es un parásito relacionado con el *Trypanosoma cruzi* por lo que podríamos pensar que estas infecciones podrían dar reacciones cruzadas. Sin embargo todas las muestras de San Carlos seropositivas a *T. cruzi* fueron testeadas con ELISA anti-*Leishmania canina* y dieron seronegativas. Éste es el primer estudio que demuestra la infección de *T. cruzi* y de *T.gondii* en caninos en localidades de la provincia de Salta. Se en-

contró una alta prevalencia de infección por *T.cruzi* en caninos en la localidad de San Carlos en perros no tan jóvenes. Al igual que Graiff y col. consideramos que el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en los perros es una herramienta valiosa como screening de la enfermedad en un área geográfica determinada. La alta seroprevalencia encontrada en perros en todas las localidades estudiadas debería ser un alerta de la presencia de *T. gondii* en el ambiente, siendo éste un potencial riesgo de infección en humanos. Deberían tomarse precauciones a fin de asegurar que las comidas sean apropiadamente elaboradas. Además sería conveniente tomar acciones a nivel del cuidado responsable de las mascotas, desparasitando, vacunando y cuidando conveniente a los perros y gatos.

## Agradecimientos

Consejo de Investigaciones de la Universidad Católica de Salta

Fundación Alberto J. Roemmers Subsidio 2010-2012. Se agradece especialmente a la MV. Esp. María Celia Mora, y al Dr. Diego Marco, del IPE. CONICET.

## Referencias

- Chao Yan, Lin Lin Fu, Cai-Ling Yue, Ren-Xian Tang. Yi-Sheng Liu, et al. Stray dogs as indicators of toxoplasma gondii distributed in the environment: the first report cross urban-rural gradient in China *Parasites&Vectors* 2012 (5): 5: 1-6 <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/5>
- Graiff DS, Zurbriggen GF, Aleu G, Sequeira G, Faya M, y col. Seropositividad para *Trypanosoma cruzi* en caninos de la localidad de La Para (Córdoba, Argentina). Comunicación corta. *InVet* 2009, 11 (1): 11-14 ISSN (papel): 11514-6634, ISSN (on line) 1668-3498.

**Tabla 1.** Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* y *T. cruzi* en sueros de perros procedentes de las diferentes localidades

Departamento	Localidad	Anticuerpos contra <i>T. gondii</i>		Anticuerpos contra <i>T. cruzi</i>	
		Positividad*	%+	Positividad*	%+
Rivadavia	La Unión	4/22	8.18a	0/22	00.00b
San Carlos	San Carlos	8/39	20.50a	11/39	28.20c
Cafayate	Cafayate	11/84	.09a	0/84	00.00b
Gral. San Martín	Embarcación	15/64	23.43a	0/64	00.00b
Total		38/209		11/209	

\*Número de animales positivos/número total de animales estudiados

+ Similar letra en el superíndice indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre regiones geográficas ( $p > 0.05$ )

**Palabras clave:** Chagas, toxoplasmosis, caninos, serología.

(1) Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias UCASAL Salta. Argentina. [jbinda@ucasal.net](mailto:jbinda@ucasal.net). (2) Cátedra de Fisiología, Zootecnia. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias UCASAL Salta. Argentina. [gtrova@ucasal.net](mailto:gtrova@ucasal.net). (3) Cátedra de Histología y Patología. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias UCASAL Salta. Argentina. [pichial@argentina.com](mailto:pichial@argentina.com). (4) Cátedra de Inmunología. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias UCASAL Salta. Argentina. [olgasanette@yahoo.com.ar](mailto:olgasanette@yahoo.com.ar). (5) Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas UNSa Salta. Argentina. [olgasanette@yahoo.com.ar](mailto:olgasanette@yahoo.com.ar)

# Uso de SIG y la teledetección para el análisis, control y prevención de enfermedades transmitidas por vectores: Aplicaciones en Chagas

## Use of GIS and remote sensing for analysis, control and prevention of vector-borne diseases: Applications in Chagas

Gustavo Leonhard<sup>1</sup>, Diana Brito Hoyos<sup>1</sup>, Ximena Porcasi<sup>1</sup>, Hugo Hrellac<sup>2</sup>, Cynthia Spillmann<sup>3</sup>

Los sistemas de información geográfica (SIG) han contribuido a la eficacia de las intervenciones a través del análisis de los datos espaciales sobre la salud, identificando patrones de distribución espacial de la incidencia o la mortalidad en regiones geográficas de interés (Martins-Melo *et al*, 2012). El uso de los SIG, favorece la formulación de planes de prevención y la toma de decisiones, mediante la construcción y prueba de modelos predictivos basados en inferencia estadística (Graham *et al*, 2004).

La enfermedad de Chagas es una de las endemias más expandidas en América Latina; es causada por el protozoo flagelado, *Trypanosoma cruzi*. El componente espacial se ha aplicado ampliamente para conocer aspectos de la transmisión de la enfermedad de Chagas en la última década, incluyendo la caracterización de los nichos de las especies de vectores, y el análisis de las relaciones entre la distribución de vectores y reservorios (Gurgel-Goncalves *et al*, 2012). En Argentina, el vector domiciliado de mayor importancia epidemiológica es *Triatoma infestans*. Esta especie debe su éxito a su habilidad para explotar eficientemente los recursos disponibles en estos ambientes. Existen un número de variables ambientales que tienen influencia directa o indirecta sobre la dinámica poblacional de los vectores y /o la eficiencia del control químico; muchas de ellas pueden estimarse a partir de los datos registrados por sensores a bordo de satélites. Entre tales variables pueden mencionarse temperatura del aire, temperatura de superficie, índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI), radiación infrarroja media, déficit de saturación de vapor y altura de terreno (Gorla *et al*, 2005). Por lo anterior el objetivo de este estudio es evaluar la factibilidad de calcular el riesgo de infestación domiciliar de la enfermedad de Chagas en localidades de Argentina, utilizando información satelital y datos epidemiológicos; y mostrar su variación espacial a través de los SIG.

### Materiales y metodos

Datos: Se utilizaron datos provenientes de un nuevo sistema de integración de información para servidores de mapas de Chagas realizado por el Programa Nacional de Chagas del Ministerio de Salud de la Nación y la Comisión Nacional de Actividades Espaciales. En particular se usaron viviendas georeferenciadas de 26 localidades de la provincia de La Rioja: Se simularon Índices de Infestación de la Unidad Domiciliares, y se usaron datos control químico, tipo de vivienda, tipo y cantidad de animales domésticos. La información utilizada correspondió al periodo 2012-2013. Se utilizó información vectorial del IGN de rutas y centros poblados; y diferentes capas en formato raster para representar las condiciones climáticas y ambientales de la provincia de la rioja (elevación, temperatura superficial (LST) e índice de vegetación normalizada (NDVI)) utilizando imágenes Landsat 8 y DEM SRTM, ambas con un tamaño de pixel de 30 metros. Procesamiento y análisis: Se generó un set de atributos para cada una de las localidades que corresponden a índice de infestación, NDVI, LST, distancia media de las viviendas dentro de las localidades, distancia media entre la localidades y vías,

porcentaje de viviendas colonizables, elevación, y cantidad de animales domiciliarios y peridomiciliares por vivienda. Con la información generada se realizó una sumatoria considerando el aporte positivo y negativo de cada variable al proceso de infestación por triatomos. Con lo anterior, se generaron diferentes modelos de infestación bajo diferentes escenarios, variando los valores de NDVI correspondientes a las cuatro estaciones del año, el índice de infestación de la localidad, el porcentaje de viviendas colonizadas y el rociado con insecticida en viviendas. Los datos se procesaron en R 3.0.1 y las imágenes y mapas en QGIS 2.0.

### Resultados

los escenarios generados permiten diferenciar la variación del riesgo de infestación según el cambio de las condiciones ambientales y domiciliarios. En cuanto a las variables que se tuvieron en cuenta para el análisis, aquellas que hacen referencia a la gestión pública para el manejo de la enfermedad, como el rociado y calidad de la vivienda, se observa que tienen gran efecto en la asignación del riesgo en una localidad, tomando mayor peso que las variables ambientales.

## Discusión

este trabajo demuestra la facilidad con la cual mediante la modificación de distintas variables ambientales y de diferentes atributos epidemiológicos, se puede obtener una respuesta simple, rápida y de fácil interpretación visual del riesgo de infestación de distintas zonas de interés y así, intensificar y las medidas de prevención y control de las enfermedades tomadas por las entidades de salud encargadas.

La ponderación de variables y la generación de diferentes escenarios de riesgo permitieron observar que las variables que provienen de las características de la viviendas y del rociado de insecticida tienen mayor influencia que las variables ambientales, al encontrarse por ejemplo, localidades de bajo riesgo ambiental con casas consideradas como de riesgo alto. Lo considerado anteriormente corresponde a lo que se esperaría para las infestaciones de *Triatoma infestans* por su carácter domiciliar.

La sistematización de datos provenientes de diferentes efectores provinciales bajo un mismo formato permite utilizar los mismos e integrarlos en un

SIG. Además posibilitan la utilización de información complementaria como la ambiental o las relaciones espaciales. Los modelos de riesgo que se pueden generar con estos sistemas son importantes herramientas en la toma de decisiones en Salud Pública.

## Bibliografía

- Martins-Melo Fr, Novaes Aj, Alencar Ch, Lange W. Mortality of Chagas' disease in Brazil: spatial patterns and definition of high-risk areas. *Tropical Medicine and International Health* 2012. 17(9):1066-1075
- Gorla De, Porcasi X, Catalá Ss. Sistemas de Información Geográfica y Sensores Remotos como Herramientas en los Programas de Control Vectorial de la Enfermedad de Chagas. En: Proceedings de la VI Reunión de la Iniciativa Andina para el Control de la Enfermedad de Chagas. Mayo, Bogotá, Colombia. 2005. pp: 265-276. 2-6
- Graham Aj, Atkinson Pm., Danson Fm. Spatial analysis for epidemiology. *Acta Tropica* 2004. 91:219-225.
- Gurgel-Goncalves R, Galvao C, Costa J, Peterson T. Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Based on Ecological Niche Modeling. *Journal of tropical medicine* 2012:1-15.

**Palabras clave:** Chagas, mapa de riesgo, sistema de información geográfica.

(1) Instituto de Altos Estudios Espaciales "Mario Gulich", Centro Espacial Teófilo Tabanera, CONAE, Argentina. [gustavoleonhard@gmail.com](mailto:gustavoleonhard@gmail.com), [dianisbrito2@gmail.com](mailto:dianisbrito2@gmail.com), [ximena.porcasi@conae.gov.ar](mailto:ximena.porcasi@conae.gov.ar). (2) Programa de Chagas. Dirección de Control de vectores. Ministerio de salud publica de la provincia de la Rioja, Argentina. [chagaslrj@gmail.com](mailto:chagaslrj@gmail.com)  
(3) Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores, Ministerio de Salud de La Nación. Córdoba, Argentina. [cynthiaspillmann@gmail.com](mailto:cynthiaspillmann@gmail.com)

## Evaluación comparativa de la efectividad insecticida de tres principios activos sobre ejemplares de *Lutzomyia longipalpis* capturados en campo

**Comparative evaluation of insecticide effect of three active principles on *Lutzomyia longipalpis* specimens captured in the field**

Laura W. Juan<sup>1,2</sup>, Ignacio T. Gould<sup>3</sup>, Oscar D. Salomón<sup>4</sup>, Juan Molina<sup>4</sup>, Raúl A. Alzogaray<sup>1</sup>, Eduardo N. Zerba<sup>1</sup>

Las leishmaniasis son enfermedades re-emergentes producidas por protozoos del género *Leishmania*, transmitidos por la picadura de insectos Phlebotominae. En América, las leishmaniasis presentan un amplio rango de síntomas clínicos que dan lugar en humanos a dos expresiones principales: leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) y leishmaniasis visceral (LV). En la Argentina, la LTA es endémica, mientras que la LV es urbana. Esta última es más severa porque puede afectar órganos internos con alta letalidad. Desde el año 2006 es un fenómeno emergente de mayor importancia como problema de salud pública.

La LV tiene como agente etiológico a *Leishmania infantum* (*syn. L. chagasi*). El perro *Canis familiaris* es su reservorio urbano, y el flebótomo *Lutzomyia longipalpis*, su vector más frecuente. Una de las medidas fundamentales para reducir la incidencia de la LV es controlar la transmisión vectorial canina mediante tratamientos de perros con formulaciones insecticidas veterinarias. La aplicación de insecticidas en los focos ciudadanos del insecto vector sería una táctica importante de control para reducir la transmisión urbana, una vez comprobada efectividad y residualidad adecuada para dicho fin. Por lo expuesto, para evaluar nuevas

alternativas de control, nuestro objetivo principal fue desarrollar un bioensayo de medición de efecto insecticida en *Lu. longipalpis* y aplicarlo para determinar comparativamente en laboratorio la efectividad de tres principios activos sobre ejemplares del vector capturados en campo.

### Material y métodos

Los principios activos evaluados en este trabajo fueron *cis*-permetrina, clorpirifós e imidacloprid. Si bien los tres actúan afectando el sistema nervioso central de los insectos, cada uno presenta un sitio de acción distinto. Se formularon soluciones con una dosis de 10 mg/m<sup>2</sup> de principio activo y se prepararon filmes sobre una superficie de vidrio. Como material biológico se utilizaron ejemplares de *Lu. longipalpis* capturados por medio de una trampa tipo CDC acondicionada para transportarlos vivos al insectario. Se utilizaron 10 machos por ensayo, los cuales se expusieron a los filmes insecticidas y se registró minuto a minuto la cantidad de individuos volteados.

Los valores de Tiempo de Volteo 50% (TV<sub>50</sub>) se obtuvieron mediante el software POLO PC 2.0. Los valores se consideraron significativamente diferentes cuando los límites de confianza del 95% no se superponían.

### Resultados

La metodología de bioensayo desarrollada para medir el efecto de volteo de los insecticidas evaluados permitió su estandarización y su aplicación resultó en valores de tiempos de volteo reproducibles y analizables estadísticamente. Los TV<sub>50</sub> obtenidos fueron de 10.25 (9.52 – 11.06) minutos para la *cis*-permetrina; 18.20 (17.46 – 19.02) minutos para el clorpirifós y 36.25 (35.17 – 37.51) para el imidacloprid. El piretroide *cis*-permetrina produ-

jo un volteo significativamente más rápido que los otros insecticidas.

### Discusión

Se ha desarrollado una metodología de bioensayo en laboratorio para evaluar la efectividad de principios activos sobre insectos vectores de leishmaniasis. La aplicación de este bioensayo permitió establecer que el principio activo *cis*-permetrina tiene un menor tiempo de volteo que el clorpirifós y el imidacloprid sobre ejemplares de *Lu. longipalpis*. Este dato indica una mayor efectividad del piretroide frente al fosforado y el neonicotinoide evaluados. A partir de este resultado se puede afirmar que la *cis*-permetrina es un principio activo promisorio para el control del vector de leishmaniasis *Lu. longipalpis*, tanto para aplicaciones por aspersión o ultra bajo volumen como para tratamientos de perros. Es necesario proseguir con la evaluación a campo de formulaciones de dicho principio activo, para lo cual se prevé realizar este tipo de ensayos en el corto plazo.

### Bibliografía

- Garrahan PJ y Salomón DO. Leishmaniasis. Enfermedades antiguas de reciente aparición comprobada en la Argentina. *Ciencia Hoy* 2010 (19) p. 32-37.
- Alexander B & Maroli M. Control of phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.* 2003 (17) p. 1-18.
- Sudia WD & Chamberlain RW. Battery operated light trap, an improved model. *Mosq. News* 1962 (22) p. 126-129.
- LeOra Software. A user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software. CA, USA: Berkeley. 2004.

**Palabras clave:** Flebótomos, Leishmaniasis, *cis*-permetrina, clorpirifós, imidacloprid.

- (1) CIPEIN – Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (UNIDEF-CONICET), Villa Martelli, Buenos Aires. Argentina. [ljuan@citedef.gob.ar](mailto:ljuan@citedef.gob.ar). (2) Cátedra de Zoología. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ Buenos Aires. Argentina. (3) CeNDIE – Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemo-epidemias. Buenos Aires. Argentina. (4) INMeT – Instituto Nacional de Medicina Tropical, Puerto Iguazú, Misiones. Argentina.

**Comunicaciones breves presentadas en el  
III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis**

## Detección por guardia, de un caso de hantavirus, en ocasión de turismo

Jorge Correa<sup>1,2</sup>, Federico Simioli<sup>2</sup>, Gustavo Bruni<sup>3</sup>, Sergio Giamperetti<sup>1</sup>, Gladys Poustis<sup>1</sup>



**Resumen:** Nos disponemos a presentar un caso de síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH). Los hantavirus son zoonosis de distribución mundial. Los mismos, producen tres cuadros clínicos mayores: la fiebre hemorrágica con síndrome renal (SHSR), la nefropatía epidémica (NE) y el SCPH, esta última variedad clínica sólo descrita en el continente americano. La transmisión se produce principalmente por la inhalación de partículas virales presentes en las deyecciones de los roedores, habiéndose comprobado, sólo para el genotipo Andes (ANDV), también la transmisión interhumana. En este caso se presenta un paciente que realizó un viaje en bicicleta desde el sur de Brasil, Uruguay y el Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), y consultó a la guardia del hospital FJ Muñiz por síndrome febril

agudo y disnea progresiva, presentando neumonía bilateral y en el laboratorio como hallazgos principales hemoconcentración y plaquetopenia. Los roedores implicados en la transmisión local varían según las distintas regiones, como así también los genotipos virales. En este caso no pudo vincularse, debido al periodo de incubación variable de esta enfermedad, a los múltiples lugares visitados por el paciente y a las actividades que realizó: acampar a la intemperie y en lugares deshabitados, sin tomar los recaudos necesarios. El diagnóstico de certeza se realizó mediante serología y el tratamiento en una unidad cerrada de terapia intensiva con medidas de sostén, vigilando los parámetros hemodinámicos y manteniendo una oxigenación adecuada.

**Palabras clave:** hantavirus, síndrome cardiopulmonar por hantavirus, enfermedades del viajero.

### Detection of a case of hantavirus, during tourism activities

**Abstracts:** We are going to present a case of hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). Hantaviruses are worldwide zoonosis. They produce three major clinical symptoms: hemorrhagic fever with renal syndrome (SHSR), epidemic nephropathy (NE) and SCPH latter clinical variety described only in the Americas. Transmission occurs primarily by inhalation of viral particles present in the droppings of rodents and has been shown only for genotyping Andes (ANDV), also human transmission. In this case a patient who made a bike trip from southern Brazil, Uruguay and Buenos Aires Metropolitan Area (AMBA), and consulted the hospital ward FJ Muñiz by acute fever and progressive dyspnea is presented, showing pneumonia bilateral and laboratory findings as main haemoconcentration and thrombocytopenia. Rodents involved in local transmission vary in different regions, as well as viral genotypes. In this case it could not be linked due to variable incubation period of the disease, to multiple locations visited by the patient and conducted activities: camping outdoors and uninhabited places, without taking the necessary precautions. The diagnosis is made by serology and treatment in a closed ICU with supportive measures, monitoring hemodynamics and maintaining adequate oxygenation.

**Keywords:** hantavirus, hantavirus cardiopulmonary syndrome, diseases of travelers.

### Introducción

Los hantavirus son zoonosis de distribución mundial, pertenecen a la familia *Buyanviridae* y tienen como hospedadores a roedores silvestres y urbanos donde desarrollan una co-evolución específica. Desde el punto de vista clínico los hantavirus producen tres cuadros mayores, la fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHRS) y la nefropatía epidémica (NE) observados en la región de Euroasia y el síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH), forma clínica descrita en el continente americano. Los hantavirus producen enfermedades de amplio espectro, que abarcan desde un síndrome febril indiferenciado a

cuadros febriles hemorrágicos, con impacto en distintos órganos. Las formas clínicas del nuevo mundo, SCPH, se caracterizan por una forma clínica, no observada anteriormente, con compromiso pulmonar. En nuestro país los hantavirus se distribuyen en cuatro grandes regiones<sup>1,2</sup> correspondientes a los territorios del noroeste, noreste, centro y sur. Los serotipos reconocidos y sus reservorios son: Región Noroeste: genotipos: Orán, Bermejo, Laguna Negra *like*; reservorios: *O. chacoensis*, *Akodon simulator*, *Callomys callosus*, *Necomys sp.*, y otros. Región Sur: genotipo Andes; reservorios: *Oligoryzomys longicaudatus*, *Abrothrix longipilis*, *Loxodontomys micropus*.

1. Servicio de Zoonosis, Hospital FJ Muñiz, GCBA.  
2. Servicio de Urgencias. Hospital FJ Muñiz, GCBA.  
jercorrea@gmail.com

Recibido: 5-07-14  
Aprobado: 4-11-14

Región Central: genotipos Lechiguanas, HU39694; reservorios: *Akodon azarae*, *Oligoryzomys flavescens*, *Oxymycterus ruffus*, *Holochilus brasiliensis*. Los genotipos Maciel y Pergamino (provincia de Buenos Aires) no tienen aún enfermedades asociadas al hombre. El nordeste tiene vinculación epidemiológica con la región centro-mesopotámica, hasta la fecha la de menor denuncia de casos. La principal forma de transmisión de la enfermedad se produce por inhalación de secreciones de roedores, principalmente orina, donde se encuentra alta densidad de partículas virales. Además, esta descripta, sólo para el serotipo Andes, la transmisión interhumana<sup>3</sup>. La incubación promedio es de 18 días, sin embargo los pacientes deben ser evaluados hasta el día 45 posterior a la exposición.

**Caso clínico**

Paciente masculino de 32 años, oriundo de Río de Janeiro, Brasil. Consultó a la guardia por síndrome febril de 5 días de evolución y disnea progresiva. Como antecedentes epidemiológicos se recabó que el paciente realizó un viaje en bicicleta, tres meses previos a la consulta, desde Río de Janeiro, Brasil, pasando por San Pablo, Curitiba, Florianópolis, Río Grande do Sul, Porto Alegre. Luego pasó a Uruguay por Chui, La Coronilla, Punta del Diablo, la Pedre-

ra, La Paloma, Piriápolis, Montevideo, Juan Lacaze y Colonia del Sacramento. Quince días previos a la consulta ingresó al AMBA residiendo en Lanús y en la Ciudad de Buenos Aires en los barrios de Palermo y Villa Crespo (Figura 1). Durante el viaje el paciente refirió haber acampado en múltiples sitios, muchos de los cuales eran galpones o casas deshabitadas limpiados por el mismo paciente (principalmente en Brasil y Uruguay), mientras que en el AMBA habitó en casas de familia, en barrios con buena urbanización.

El cuadro de inicio se caracterizó por hipertermia, sudoración profusa, astenia marcada y mialgias generalizadas. La primera consulta la hace en un centro de salud, donde le realizan una radiografía de tórax simple, no observándose hallazgos patológicos (Figura 2) y siendo medicado con amoxicilina asociado a inhibidores de beta lactamasas. La sintomatología persistió, con el agregado de tos seca y disnea progresiva, lo cual motivo la consulta por guardia a nuestro hospital. A su ingreso en la guardia se constató tensión arterial: 90/60 mmHg, frecuencia cardíaca: 120 L/pm, frecuencia respiratoria: 30 R/pm, temperatura corporal axilar: 38.4°C y saturación de O<sub>2</sub> (SO<sub>2</sub>) al aire ambiente de 82%. El paciente se encontraba orientado y con facies cianóticas. Presentó regular mecánica ventilatoria, hipoventilación generalizada sin ruidos agregados y sin compromiso de vía aérea superior. Presentaba lesiones nodulares eritemato-violáceas en tobillo izquierdo. Los estudios

**Tabla 1.** Estudios complementarios realizados desde la admisión y evolución durante los primeros días

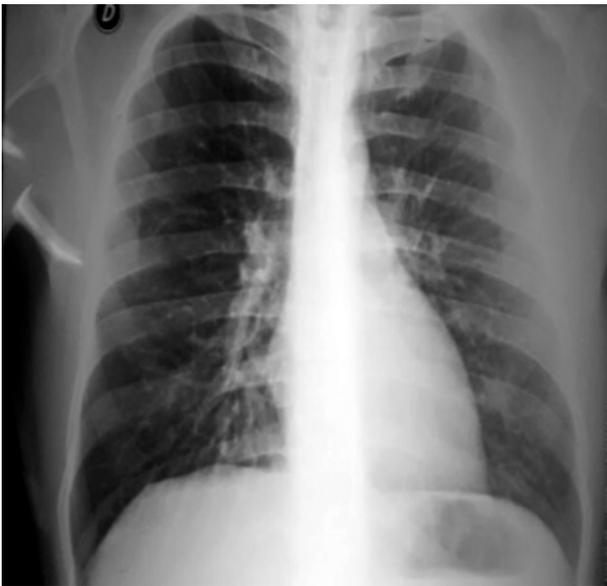
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
VSG (mm)	-	24	-	-	-
Hematocrito (%)	46	42	41	41	40
Hemoglobina (g/dL)	15.6	15.3	14.5	14	13.8
Plaquetas (mm <sup>3</sup> )	48000	72000	56000	80000	114000
Leucocitos	6300	6100	5100	6300	7800
Neutrofilos (%)	-	57.2	-	-	-
Linfocitos (%)	15	30.1	-	-	-
Monocitos (%)	-	12.4	-	-	-
T. Quick (%)	100	95	-	98	98
APTT(seg)	44.7	36.6	-	28.8	28
Glucemia (mg%)	162	169	231	234	179
Urea (mg%)	43	46	59	52	51
Creatinina (mg%)	1	0.90	0.80	0.70	0.80
TGO (U/l)	52	53	-	46	-
TGP (U/l)	23	23	-	42	-
FAL (U/l)	-	-	-	-	-
LDH (U/l)	-	659	-	545	-
Na+(mmol/l)	126	129	130	133	135
K+(mmol/l)	4.1	4.6	4.9	4.7	4.6
CPK (U/l)	210	122	-	46	-

**Figura 1.** Recorrido realizado por el paciente previo a la consulta, desde Río de Janeiro, pasando por sur de Brasil, Uruguay y por último el Área Metropolitana Buenos Aires

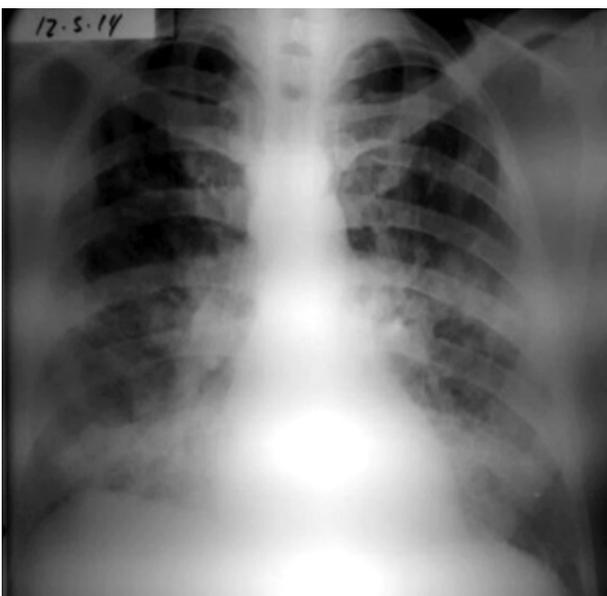


complementarios solicitados se observan en la Tabla 1. La radiografía de tórax frente (Figura 3) mostró un patrón radiológico de configuración mixta alveolo-intersticial, con imágenes radiopacas bilaterales basales y para-hiliares. Se plantearon los siguientes diagnósticos diferenciales: neumonía grave de la

**Figura 2.** Radiografía de tórax realizada en la primera consulta en otro centro de salud



**Figura 3.** Radiografía de tórax al ingreso hospitalario. Se observa respecto de la Figura 2, la evolución a la fase pulmonar (ver descripción en texto)



comunidad en el contexto de a) sepsis b) leptospirosis c) hantavirus. Se solicitaron hemocultivos, serologías para leptospirosis (MAT) y hantavirus (IgM por MACELISA), extendidos y gota gruesa para malaria, serología para dengue (MACELISA IgM), para VIH (ELISA 4ta generación), VDRL. Fue internado en salas de cuidados intensivos y se inició tratamiento antibiótico empírico con vancomicina, ceftriaxona y trimetoprima-sulfametaxazol (TMS) por sospecha de shock séptico con *distress* respiratorio secundario a enfermedad invasiva por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) con probable puerta de entrada en la lesión en tobillo izquierdo. Requirió ventilación no invasiva con presión positiva continua (CPAP) por insuficiencia respiratoria hipoxémica. En la internación presentó derrame pleural bilateral (trasudado). A las 24 horas se recibió serología positiva para hantavirus, por lo que se indicó aislamiento respiratorio y de contacto. Se realizó balance hídrico neutro-negativo con mejoría de parámetros gasométricos. Se suspendió tratamiento antibiótico por hemocultivos negativos y al día siete de internación se decidió alta médica hospitalaria.

### Discusión

El cuadro clínico se inició con un síndrome febril indiferenciado (fiebre, cefalea, astenia, mialgias), sin compromiso de vía aérea superior, de cinco días de evolución, que progresó rápidamente a una neumonía bilateral de tipo alveolo-intersticial, hemoconcentración y plaquetopenia. Con esta sintomatología y los antecedentes epidemiológicos, se plantearon distintos diagnósticos diferenciales, a los ya mencionados se agregaron los de malaria y dengue de curso grave. Rescatamos el valor de los antecedentes epidemiológicos y de las definiciones de caso, para la estrategia de la atención del paciente, los criterios de internación y determinar la etiología del caso. Como definición de caso, una neumonía grave de la comunidad, bilateral, precedida de pródromos inespecíficos, y con antecedentes de riesgo como los mencionados, debe ser estudiada sistemáticamente para leptospirosis y enfermedad por hantavirus. De lo contrario, se demora el diagnóstico específico y el tratamiento adecuado (en este caso el balance hidroelectrolítico neutro), además de prolongarse en forma innecesaria el tratamiento empírico con antibióticos. Es posible, si no se piensa con criterio epidemiológico, que el diagnóstico final, en este tipo de enfermedades, quede enmascarado dentro de las "sepsis de la comunidad, sin rescate del microorganismo".

El tratamiento del SCPH consiste en medidas de sostén y se recomienda realizarlo en un estableci-

miento con acceso a una unidad de cuidados intensivos que presente asistencia respiratoria mecánica (ARM).

El manejo sintomático de la fiebre y las mialgias debe realizarse con paracetamol evitando el uso de aspirina. Es de especial importancia vigilar los parámetros hemodinámicos, manteniendo una oxigenación adecuada, ya sea con ventilación no invasiva o con ARM. El uso temprano de inotrópicos es beneficioso. El control de una precarga adecuada<sup>4</sup>, es de vital importancia; ya que la sobrecarga hídrica y la consecuente progresión del edema pulmonar se asocia a un aumento de la morbimortalidad.

Debido a los múltiples diagnósticos diferenciales en los pacientes con un cuadro compatible con SCPH, se sugiere el inicio temprano de antibióticoterapia con cobertura para causas más frecuentes, incluyendo neumonía grave o sepsis, que podrá ser discontinuada al confirmarse el diagnóstico de hantavirus.

Como conclusiones generales de este caso clínico surgen: a) no se pudo establecer con claridad la fuente de infección ni el sitio de adquisición, en parte debido al largo periodo de incubación y las múltiples actividades de riesgo realizadas por el paciente; b) la necesidad de reconocer como entidad patológica al síndrome febril agudo

sin compromiso de la vía aérea superior, donde se plantean diagnósticos diferenciales en etapas tempranas de la enfermedad, como dengue y otras enfermedades por flavivirus, leptospirosis, triquinosis, fiebre hemorrágica argentina, paludismo, rickettsiosis y otras, c) la vinculación entre los antecedentes epidemiológicos, la entidad patológica y los hallazgos de laboratorio y radiográficos, que sugieren el diagnóstico de enfermedad cardiorrespiratoria por hantavirus.

### Bibliografía

1. Levis S, Rowe J, Morzunov S, Enria DA, St Jeor S. New hantaviruses causing hantavirus pulmonary syndrome in central Argentina. *Lancet* 1997; 349: 998-9.
2. Enria D, Levis S. Zoonosis virales emergentes: las infecciones por hantavirus. *Rev Sci Tech* 2004; 23: 595-611.
3. Martinez V, Bellomo C, San Juan J, et al. Person-to-person transmission of Andes Virus transmisión interhumana. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1848- 53.
4. VII International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses. Fundación Mundo Sano. Abstract Book 2007, Buenos Aires, Argentina.



Decomiso de achuras, en un frigorífico de Buenos Aires a principio del siglo XX. La falta de higiene y las malas condiciones de trabajo de los operarios, eran cusantes de varios problemas de salud pública, entre los que sobresalía la bruce-*llosis*. Por desgracia, y en la actualidad, en algunos frigoríficos del conurbano bonaerense, las condiciones son similares.

## In memoriam

## Dr. Rubén Ángel Bagnaroli,

1926-26 de abril de 2014

El 26 de abril de 2014 falleció en Santa Fe, el Dr. Rubén Ángel Bagnaroli, médico veterinario, conocido tradicionalista, agudo conocedor de nuestra historia y en especial de la de su provincia, publicista, hincha de su querido Club Atlético Colón, activo colaborador de la Asociación Argentina de Zoonosis, viajante y conocedor de su amado país; amigo.

Como profesional tuvo una vasta actividad pública y privada. Sus cargos públicos, en los que siempre fue reconocido por su honradez y empeño, lo llevaron desde la bromatología hasta la dirección del Programa Provincial de Control de Zoonosis y Vectores, momento en el cual nos conocimos. Estaba organizando el Primer Congreso de Zoonosis de la provincia de Santa Fe, del cual fue presidente, cargo que honró, en una actividad que no tuvo precedentes en su provincia. Un mediodía, se acercó al Hospital Muñiz de la ciudad de Buenos Aires, para ofrecerme, con la modestia que lo caracterizaba, una conferencia sobre leptospirosis. A partir de allí compartimos muchas jornadas, que sería largo enumerar.

La foto lo muestra en un viaje a Corrientes, donde se organizaban unas jornadas de la AAZ, en el año 1993. En su vasta actividad profesional, fue socio fundador y directivo del Círculo Médico Veterinario de la provincia de Santa Fe y del Colegio de Médicos Veterinarios del departamento Capital. Ya en la década de 1950 había fundado el Kennel Club Santa Fe, actividad cinofílica que junto con su amor por los caballos, marcaron parte de su quehacer. Como tradicionalista, tuvo una larga actuación en la federación Gaucha de San-



ta Fe, con jineteadas memorables: hasta Luján a recuperar una campana robada a su provincia en una de las luchas intestinas del siglo XIX, por el Valle de Punilla, ya en los últimos años de su vida, reconociendo en cada pueblo del Valle, a personajes casi anónimos, pero que fueron parte de nuestra historia; y el magnífico cruce de los Andes, siguiendo las huellas del Libertador, por nombrar alguno de ellos.

Recibió la Orden del Poncho, reconocimiento a su vocación tradicionalista. Admiraba los estudios arqueológicos de Agustín Zapata Gollán, el descubridor de las ruinas de la primera fundación de Santa Fe, en Callastá, al que conoció y frecuentó. Compartimos la vocación por el conocimiento histórico, y por ello me acercó a las obras de Zapata Gollán y otros estudios sobre pueblos originarios de su provincia. Siempre recordaba su amistad con Roberto Cacchione, al que dio hospitalidad en su casa, a fuerza de disponer del primer cepario de leptospiras de la provincia.

Con la AAZ compartió jornadas y amistades, como la ya comentada en Corrientes y luego en 1994 en Carmen de Patagones, hasta que recibió una distinción especial en el I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes y VIII de Zoonosis, que se realizara en junio de 2011 en la Ciudad de Buenos Aires. Como publicista de revistas del quehacer profesional dirigió en sus últimos años la editora REI (Revistas e Informática), que tuvo a su cargo la edición de los números del año 2012 de raZyEie.

Lo mostramos en la foto, con esa sonrisa permanente, de buen hombre, que nunca dejó de acompañarlo.

## Cartas al editor

### Carta al Comité Editorial de raZyEie

#### Señores Directores:

En el número 3 (Vol. VII) de raZyEie, de diciembre de 2012, publicamos un informe institucional: "Actividades realizadas desde el Departamento de Zoonosis de la ciudad de Nogoyá, Entre Ríos", donde exponíamos el trabajo que llevamos a cabo en nuestro municipio, para el control y prevención de las zoonosis. Siguiendo esta línea, enviamos este informe, sobre una actividad reciente, realizada en forma cooperativa entre nuestro departamento, los servicios de Zoonosis y de Ecografía del Hospital F.J. Muñiz, de la ciudad de Buenos Aires, y la Fundación Mundo Sano. La hidatidosis, enfermedad que en general cursa asintomática, fue diagnosticada tradicionalmente por una imagen radiológica (formas pulmonares) o bien por imágenes (ecografía, tomografía computarizada etc.), solicitadas casi siempre, en el contexto de otro diagnóstico. La ecografía es un método de gran sensibilidad para detectar las localizaciones abdominales de la hidatidosis, de bajo costo, y que puede utilizarse, con un equipo adecuado, en estudios catastrales, donde muestra una mejor sensibilidad que la serología, además de detectar otras patologías abdominales. El Departamento de Zoonosis de la Municipalidad de Nogoyá consideró importante esta metodología para efectuar un catastro en zonas con pobladores operados de hidatidosis. En este sentido, el ofrecimiento hecho por la Fundación Mundo Sano y el Hospital Muñiz (Lic. Marcelo Abril y Dr. Alfredo Seijo, respectivamente) se concretó en un trabajo planificado donde participaron alumnos, personal docente y pobladores de escuelas del Distrito Crucesitas, III<sup>a</sup> Sección, en el Departamento Nogoyá, provincia de Entre Ríos. El equipo de trabajo estuvo integrado además por una médica ecografista (Dra. Mirna Sawicky) y una bióloga (Lic. Victoria Periago), quien se encargó de la recolección de muestras para determinación del coproantígeno hidatídico. El estudio se realizó con un equipo portátil, con charlas previas, informativas y educativas, a los alumnos y personal de las escuelas. La mencionada tarea, realizada en un día, a mediados del mes de octubre de 2014, se extendió a 77 personas. Consideramos que esta metodología es una estrategia importante para la detección precoz, reduciendo las complicaciones, secuelas y costo de tratamiento que presenta la enfermedad en individuos adultos.

Dr. Alejandro R. López y Dr. Juan C. Zárate  
Departamento de Zoonosis,  
Municipalidad de Nogoyá, Entre Ríos

#### Señores Directores de raZyEie:

A raíz del artículo "Muñiz-Darwin y la vaca ñata", escrito por el Dr. Alfredo Seijo, y que apareciera en el número 2 de junio 2014 de raZyEie, he hablado con el propietario de un establecimiento de El Bañado, departamento de Capayán, Catamarca, quien me comentó que posee en su rodeo varios animales ñatos. Tenía un toro ñato, comprado en Nueva Coneta de esta provincia, y el apareamiento con vacas no ñatas, originaba terneros ñatos, aunque no era constante. En la actualidad posee 7 terneros ñatos, que según refiere, se defienden mejor ante la falta de alimento. Le envió una foto, de un ternero ñato, que obtuve en esa propiedad.

Espero que estos comentarios sirvan para mostrar una enfermedad hereditaria (prognatismo), que puede observarse aún en algunas regiones de la Argentina.

MV Dr. Raúl López  
Jefe del Departamento de Zoonosis,  
Ministerio de Salud, provincia de Catamarca.  
Profesor Adjunto de la Anatomía y Fisiología Animal,  
Facultad de Ciencias Agrarias, Univ. Nac. de Catamarca.

#### Nota de los editores:

Agradecemos al Dr. Raúl López, su interés por colaborar con la revista y la observación realizada sobre esta patología tan bien descrita por Francisco J. Muñiz, en el siglo XIX. Muñiz, también había realizado la observación de lo que ahora denominamos "carácter recesivo" en una enfermedad de base hereditaria. Sería de interés general, que pueda aclarar porque "se defienden mejor ante la falta de alimento", ya que Muñiz había observado que en épocas de grandes sequías, no podían alimentarse del pasto ralo, por la configuración prognática, y esto les producía una menor adaptabilidad a las condiciones ambientales adversas. Es probable, que existan otros factores alimentarios en ese lugar (Capayán), que al contrario, favorezcan la alimentación del ganado ñato.

## Un aspecto distinto de la Medicina del Viajero

Delia Enría<sup>1</sup>, Ana M Briggiler<sup>1</sup>, Anabel Sinchi<sup>1</sup>, María Florencia Coronel<sup>2</sup>, Jorge Taylor<sup>3</sup>



La foto fue sacada este año, entre el 25 y 28 de agosto, en la sede del **Registro Nacional de Trabajadores y Empleadores Agrarios** (RENATEA) en Loreto, Santiago del Estero. Las personas en fila, están esperando que se les administra la vacuna Candid I, para prevenir la fiebre hemorrágica Argentina (FHA).

Como es sabido, Santiago del Estero no es zona de circulación del virus Junín. La FHA es una patología regional, cuya área endémica comprende la provincia de Buenos Aires, sur de las provincias de Córdoba y Santa Fe y regiones del este de la provincia de la Pampa, donde la enfermedad ha mostrado una franca declinación debido a la implementación de la vacuna en poblaciones de riesgo.

Las personas de esta foto son conocidas como "obreros golondrinas" dado que migran entre provincias de acuerdo a las posibilidades laborales de las distintas cosechas. Con excelente criterio epidemiológico y preventivo, estos obreros son vacunados antes de iniciar su recorrido, que llega a lugares donde la FHA es endémica.

En esta ocasión fueron vacunadas 3021 personas con la vacuna producida en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas (INEVH-J Maiztegui de Pergamino).

1. INEVH- J Maiztegui, Monteagudo 2510- Pergamino.

2. Dirección de Epidemiología, Provincia de Santiago del Estero.

3. Referente Fiscalización Delegación Provincia de Buenos Aires- RENATEA.  
*epidemioinevh@anlis.gov.ar*



*(Postal de 1905 utilizada por familiares de inmigrantes italianos, para saludar a sus seres queridos, establecidos en la Argentina)*

*La AAZ les envía augurios de felicidad para el próximo año, siendo todos partícipes del crecimiento de la Asociación y de su Revista*



favcor.com.ar

## LABORATORIOS AZUL

- Diagnóstico Veterinario
- Diagnóstico Humano
- Producción de reactivos para diagnóstico veterinario
- Animales para laboratorio
- Evaluación de productos biológicos



 LaboratorioAzul  
 @LaboratorioAzul

Tel. 02281.431771 rotativas  
 Av. 25 de Mayo 479, B7300FXE  
 Azul, Buenos Aires, Argentina

[www.laboratorioazul.com.ar](http://www.laboratorioazul.com.ar)



R.I. 9000-1385  
 Sistema de Gestión de Calidad Certificado  
 Por IRAM  
Norma IRAM 9000-1385



**Grupo Laboratorios Azul**  
 más de 30 años liderando el diagnóstico

## Reglamento de publicación

### Revista de la Asociación Argentina de Zoonosis

#### > Instrucciones para la preparación de los manuscritos

La *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* (RAZ y EIE) es una publicación científica de la **Asociación Argentina de Zoonosis** (AAZ), de edición cuatrimestral, para la difusión de artículos científicos y documentos provenientes de diferentes disciplinas: medicina humana y veterinaria, bioquímica, biología, entomología sanitaria, microbiología: bacteriología, virología, parasitología, micología; epidemiología, salud pública, aspectos legales, educacionales, económicos, sociales y de investigación histórica relacionadas con las zoonosis y enfermedades emergentes.

#### 1. Tipos de trabajos aceptados para la publicación

##### • Originales

Trabajos de investigación inéditos, cuya estructura se especifica más abajo.

##### • Casuística

Se refiere a series de casos clínicos, hallazgos de laboratorio, de trabajos de campo etc., de tipo descriptivo, de un bajo número de observaciones o bien cuyos resultados son esperados, pero que aportan al conocimiento del tema y de la situación nacional o regional.

##### • Comunicaciones breves

Presentación de resultados preliminares, que por el momento en que se halla el curso de la investigación, no es posible presentar como trabajo original, pero que los autores consideran importante dar a conocer a la comunidad científica.

##### • Casos Clínicos

Descripción de uno o más casos clínicos cuya observación suponga un aporte valioso al conocimiento de la enfermedad. La extensión aconsejada del texto es de 2.000 palabras, con un máximo de 4 figuras o tablas.

##### • Imágenes en Zoonosis y Enfermedades Emergentes

Distintos tipos de imágenes, tanto de animales como de pacientes humanos (en estos casos, reservando su identidad), aquellas provenientes de estudios radiográficos, por ultrasonografía, tomografía computarizada, resonancia magnética o cualquier otro tipo de técnica, estudios histopatológicos, de situaciones ambientales, y todo tipo de imágenes que puedan ilustrar un aspecto novedoso, no habitual o con repercusión sanitaria. La imagen debe tener calidad para poder ser reproducida y estar acompañada por un resumen que introduzca al tema y luego una breve actualización del mismo. Comentarios editoriales y "Estado del Arte"

Textos encargados por el Comité de Redacción de la Revista. Los autores que, espontáneamente deseen colaborar en esta Sección, deberán dirigirse a dicho Comité.

##### • Cartas al Editor

Comentarios de trabajos de reciente publicación, de avances en investigaciones recientes o de situaciones de emergencia. La extensión máxima será de 800 palabras.

##### • Artículos especiales

Se trata de textos de interés particular para las zoonosis y que, por sus características, no se adecúan al formato de artículos convencionales de la literatura médica.

Las revisiones y actualizaciones bibliográficas, análisis de trabajos, notas de carácter institucional, crítica de libros, resúmenes de trabajos presentados a Congresos, resúmenes de tesis, información terapéutica, informes técnicos de las instituciones, información institucional de la AAZ, y los calendarios de congresos, jornadas, y todo tipo de eventos en general, son todos del interés de la Revista y no deberán superar la extensión de 2.500 palabras.

#### 2. Presentación de los trabajos

Los trabajos aceptados serán propiedad de la RAZ y no podrán reproducirse, en parte o totalmente, sin el acuerdo del Comité Editor. Los trabajos deberán enviarse en formato digital y únicamente por vía electrónica al correo de la Secretaria de la AAZ, Lic. Karina Véliz: [karina.veliz1@gmail.com](mailto:karina.veliz1@gmail.com), o en su defecto a los miembros del Comité Editor: [ceijo@intramed.net](mailto:ceijo@intramed.net), [pemartino@fcv.unlp.edu.ar](mailto:pemartino@fcv.unlp.edu.ar).

Todo manuscrito deberá estar acompañado por una carta de presentación firmada por todos los autores en la que se especifique que el trabajo se encuadra en el Reglamento de Publicaciones de la RAZyEIE y donde se asume la responsabilidad de las opiniones vertidas. Para una presentación conveniente del manuscrito, se aconseja prestar atención al diagramado de los artículos correspondientes al último número impreso de la revista.

El cuerpo principal del trabajo (texto con tablas, gráficos y figuras), debe ser remitido en un único archivo rotulado con el Apellido del autor de referencia seguido de la palabra "Texto" (i.e.: González. Texto).

Los idiomas aceptados son español, el portugués y el inglés.

Los trabajos originales y casos clínicos deben ser preparados en el procesador de texto Microsoft Word, en hoja tamaño carta (21,5 X 27,9 cm) a dos espacios, con margen "normal" de 3 cm izquierdo y derecho y de 2,5 cm superior e inferior, sin justificación, con letra Arial, tamaño 14 para el título, 12 para el texto y referencias, y tamaño 10 para los nombres de los autores, instituciones y Resumen. Dicho Resumen se enviará escrito en español o portugués e inglés con sus correspondientes títulos. Cada hoja estará numerada secuencialmente en la parte superior derecha.

La primera página deberá incluir:

• **Título:** estará centrado y será breve y preciso (15 palabras o 120 caracteres en Arial 14), con una clara indicación del tema inmediatamente después del título los nombres de los autores y las afiliaciones (Arial 10).

Se incluirá nombre(s) y apellido(s) del/los autor(es) (i.e. Valentín Aquino, Inés B Maluta, Ángela de Ávila) y con un número en superíndice que permita individualizar al pie la(s) institución(es) de pertenencia de los autores. Luego la dirección postal y electrónica del autor principal o de aquel a quien deba dirigirse la correspondencia.

En la segunda página se presentarán los **Resúmenes** en castellano/portugués y en inglés con sus correspondientes títulos, de hasta 250 palabras. Resumen/Resumo y Abstract en negrita y margen izquierdo. Texto a continuación.

Al pie de cada Resumen se pondrán 3 a 5 **palabras claves** en el idioma correspondiente.

En la tercera página, se comenzará el texto propiamente dicho, el cual constará de las siguientes secciones, cuyos títulos estarán sobre margen izquierda y en negrita. Con cada sección se inicia una nueva página.

• **Introducción:** donde se establecerá el problema y el propósito específico del estudio. Podrá incluir una breve revisión de la bibliografía, la que se tratará con mayor amplitud en la "Discusión".

• **Materiales y Métodos:** donde se establecerán en forma precisa los detalles de técnica y metodología utilizados, definición de áreas y período de estudio, tipo de diseño (prospectivos o retrospectivo; descriptivo o comparativo; observacional o experimental), la identificación de la población o muestra, el criterio de inclusión y exclusión, los métodos de muestreo, las consideraciones éticas si correspondiera, el tamaño de la muestra, la definición operativa de variables de estudio y el plan de análisis estadístico de los datos. El análisis estadístico describirá las pruebas estadísticas empleadas, con suficien-

te detalle como para poder ser verificado por otros investigadores. Proporcionar el nombre del programa estadístico empleado para el procesamiento de datos

- **Resultados:** expresados en forma detallada. Deben ser una consecuencia de lo planteado en Materiales y Métodos y responder a los objetivos. Su interpretación debe ser correcta. Deben informarse como medidas sumarias (porcentajes, medias, rangos, incidencia o prevalencia, riesgos relativos etc.), además de ser expresados en tablas o gráficos. Cuando correspondiera, expresar intervalos de confianza o significación estadística (valor de *p*). Deberá evitarse la repetición en el texto de lo expresado en las tablas y gráficos.

- **Discusión:** aquí se resaltarán los aspectos nuevos e importantes del estudio, además de expresar especulaciones y formular nuevas hipótesis surgidas de la investigación. No repetir con pormenores los datos presentados en la sección de resultados. Podrá incluir recomendaciones.

- **Conclusiones:** son opcionales y no debe haber contradicciones, deben estar avaladas por los resultados, no deben ser repeticiones de los resultados y siempre guardarán relación con el objetivo. En el manuscrito no se mencionarán los nombres completos o iniciales de los autores ni la institución donde fue realizado el estudio. Asimismo, debe evitarse cualquier identificación de las personas (i.e., nombres, iniciales), tanto en las ilustraciones como en el escrito.

- **Bibliografía:** Se numerará con superíndice en forma consecutiva a la inserción en el texto y en ese orden aparecerá en el listado. Se incluirán todos los autores cuando sean seis o menos; si fueran más, se escriben los tres primeros y luego "y col, e col o et al según el idioma empleado en la cita bibliográfica.

Las Referencias se describirán según las "Normas de Vancouver" y de acuerdo a los siguientes ejemplos:

- **Publicaciones periódicas:**

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart trasplantation is associated with an increased risk form pancreatobiliar y disease. *Ann Intern Med* 2011; 124 (11): 980-3.

- **Libros:**

Rohen JW, Yokochi C, Lütjen-Drecoll E. Atlas de anatomía humana: estudio fotográfico del cuerpo humano. 6ªed. Buenos Aires: Elsevier Science, 2007, pp. 233-45. No es necesario aclarar las páginas si el libro fue utilizado en varias citas, excepto cuando se utilizan manuales o informes técnicos. Otra variante:

Tsai TF, Vaughn DW, Solomon T. Flavivirus (fiebre amarilla, dengue, fiebre del dengue hemorrágico, encefalitis japonesa, encefalitis del Nilo Occidental, encefalitis de San Luis, encefalitis transmitidas por garrapatas). En: Mandell GI, Bennett JE, Dolin R, eds. *Enfermedades Infecciosas*. 6ª edición. Madrid: Elsevier. 2006, V2, pp. 1926-50.

- **Actas de congresos:**

Vega KJ. Formación radiológica y mercado de trabajo. XXIII Congreso de Radiología de la Asociación Latinoamericana de Enfermería Docente. Buenos Aires, Argentina. Marzo 28-30, 2010; pp. 122-9.

- **Página web, sitio web, portal:**

Briggs J. Institute JBI España [Internet]. Madrid: Centre colaborador espanyol del JBI; 2008 [consulta el 22 de julio de 2008]. Disponible en: <http://es.jbiconnect.org/index.php>.

- Si correspondiera, se incluirá una sección de "**Agradecimientos**" al final de la bibliografía, en donde consten las fuentes de apoyo recibidas en forma de subvenciones, reconocimientos de apoyo técnico y contribuciones.

- Es requisito que se declaren si existen o no "**Conflictos de interés**" al final del artículo y a continuación de la Bibliografía. Si los hubiera, deberán ser aclarados.

- **Tablas y figuras** (estas incluyen los gráficos e imágenes): La presentación de estos elementos deberá ser la confirmación de lo redactado en el texto.

Las **tablas y figuras** se presentarán en hojas separadas dentro del mismo archivo principal del texto y al final de éste, deberán estar referenciadas en el texto y serán numeradas correlativamente con números arábigos, cada una con su título y con el epígrafe correspondiente en Arial 10. Los números, símbolos y siglas deberán ser claros y concisos. Las tablas serán confeccionadas en Arial 10, sin líneas verticales ni bordes. El diseño corresponde a "tablas sin formato", con borde superior, inferior y horizontal interno de la versión Office 2007 o similar, autoajustadas al contenido con las características que se muestran en el ejemplo.

**Tabla 1. Sintomatología de los dos grupos de enfermos luego de utilizar**

Síntomas y signos	Grupo 1 n y %	Grupo 2 n y %
Fiebre	60 100	30 50
Cefalea	15 25	30 50
Mialgias	50 25	7 11.6

Para separar los decimales se utilizará punto (11.6) y para separar números enteros igual o mayor a diez mil un espacio cada mil (10 000, 100 000).

Las figuras que son imágenes (i.e., fotografías, radiografías, etc.), tanto en blanco y negro como en color, no tendrán cargo alguno para el autor, aunque se reservará el derecho de publicación al Comité Editorial; las mismas deberán ser enviadas en uno o varios archivos especiales adjuntos, los cuáles se rotularán con el apellido del autor seguido del "Imágenes" y si correspondiere, la numeración sucesiva (i.e.: *Smith. Figura 1*).

Cada imagen deberá presentarse, también, en hojas separadas, con la extensión *jpeg* y preferentemente a 300 dpi; deben ser nítidas y cada una llevará título y epígrafe correspondiente. Las flechas, símbolos o letras incluidas, deben presentar buen contraste en el fondo. Con las fotografías obtenidas de pacientes se deberán tomar las precauciones necesarias a fin de que éstos no puedan ser identificados. Las observaciones microscópicas llevarán el número de la ampliación efectuada y tinción empleada. Si se utilizara el material de otros autores, publicados o no, deberá adjuntarse el permiso de reproducción correspondiente.

El manuscrito deberá estar acompañado de una carta de presentación dirigida por vía electrónica al correo de la Secretaria de la AAZ, y que exprese: *El contenido del manuscrito "....." presentado a la revista Argentina de Zoonosis no ha sido publicado por ningún tipo de medio gráfico o electrónico, y los autores declaran la aceptación de los contenidos del mismo*".

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar trabajos que no se ajusten estrictamente al reglamento señalado, que no posean el nivel de calidad mínimo exigido acorde con la jerarquía de la revista, que hayan sido presentados en otras publicaciones nacionales e internacionales, o bien que contengan pasajes confusos o con groseros errores gramaticales o de redacción. A todos los efectos, los trabajos presentados serán sometidos a la evaluación de árbitros externos.

La decisión de aceptar o rechazar un trabajo se basa estrictamente en un proceso de revisión por pares o colegas (peer review), externo doble ciego.

Los árbitros (referees) o revisores (reviewers), en todos los casos, reciben los manuscritos con la primera página de título sin referencia a autores y/o institución para garantizar una revisión imparcial. Los autores serán informados del resultado de la evaluación en un plazo no mayor a los 90 días.