

Revista de Ciencia y Tecnología

Genética y Biología / Bioquímica y Farmacia

AÑO 10 / Nº 10a / 2008

ÍNDICE

- 3 Intervalos de referencia de sodio y potasio, sérico y urinario, en adultos sanos. / Alicia N. M. de Jensen, Miryan S. López, Claudia N. Mir.
- 8 Caracterización fenotípica de resistencia a macrólidos en *Streptococcus agalactiae*: primer estudio en Misiones. / Eduardo Pegels, Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Esteban Pereyra, Patricia Galloso, Marta Vergara.
- 12 Análisis genómico comparativo entre muestras de Papanicolau y sangre para el minisatélite ubicado en la región 5q21. / Ariel E. Cariaga Martínez, Selva Rosiello, Pedro D. Zapata.
- 18 Agentes etiológicos en la Infección Respiratoria Aguda Baja (IRAB). Hospital de Pediatría de Posadas, Misiones. / Paulina Tagliaferri, Sandra L. Grenón, Martha H. von Specht, Federico Payés Monzón, Lidia S. Rambaldo.
- 24 Actividad antifúngica de extractos de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem sobre hongos aislados de yerba mate y té comerciales. / Gladis Jerke, Marta A. Horianski, Severino Bargardi, Karina A. Salvatierra, Fernando L. Kramer, Graciela B. Jordá, Lidia S. Amer, Adriana M. Guida.
- 30 Nuevas localidades para *Biomphalaria tenagophila* (Gasteropoda, Planorbidae) en la Provincia de Misiones, Argentina. / R. E. Stetson.
- 34 Estudio comparativo de dos medios selectivos para la recuperación de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. / Marina Quiroga, Oscar Álvarez, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Esteban Pereyra, Marta Vergara.
- 38 Estudio de percepción en el uso de fitofármacos oficiales en atención primaria de la salud en la Provincia de Misiones. / Juan C. Falkowski, Roberto O. Tafani, Patricia Oviedo, Alicia Duarte.
- 43 Factores de riesgo Cardiovascular en un grupo de jóvenes ingresantes a la Universidad Nacional de Misiones. / Graciela A. Bonneau, Claudia Castillo, María S. Castillo-Rascón, Williams R. Pedrozo.
- 49 Modificación de factores de riesgo aterogénico en empleados públicos con control periódico. / Williams R. Pedrozo, María S. Castillo-Rascón, Graciela A. Bonneau.
- 55 Guía para autores.
- 58 Guide for contributors.
- 61 Confirmación de Autoría y Derechos de Publicación. / Confirmation of Authorship and Publication Regulations.



• SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO. FCEQYN-UNaM

Secretaría: Dra. Marina Quiroga

• REVISTA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

COMITÉ EDITORIAL

Directora/Editora: Dra. María Cristina Area. (m_c_area@fceqyn.unam.edu.ar).

Área Bioquímica y Farmacia: Dr. Pedro Darío Zapata. (bcmb@fceqyn.unam.edu.ar).

Área Ingeniería y Tecnología: Dra. Alicia Esther Ares. (aares@fceqyn.unam.edu.ar).

Área Genética y Biología: Dr. Alberto Sergio Fenocchio. (afenocch@fceqyn.unam.edu.ar).

COMITÉ DE REVISIÓN ÁREA GENÉTICA Y BIOLOGÍA

Prof. Ing. Fernando Dulout. U.N. La Plata. Genotoxicidad y genética general.

Ing. Aveliano Fernández. U.N.N.E. Genética vegetal.

Dr. Juan L. Santos. U. Comp. de Madrid. Biología general.

Dr. Carlos M. Abatte. PROIMI. Tucumán. Microbiología industrial.

Dr. Marcelo Cabada. U.N. Rosario. Biología del Desarrollo.

Dr. Alfredo Recca. Sec. Rec. Nat. y D.S. Medio ambiente.

Lic. Beatriz A. de Avanza. U.N.N.E. Herpetología, Anatomía Comparada.

Dr. Edgardo Romero. U.B.A. Palinología, paleobotánica, paleofitogeografía.

Dr. Mario A. Poli. CNIA-INTA. Castelar. Genética de bovinos, caprinos y ovinos. Genética de poblaciones.

Dr. Vilardi, Juan César. UBA. Genética vegetal y de poblaciones.

Dra. Mónica Martella. Universidad Nacional de Córdoba. Ecología.

Prof. Dr. Eduardo A. Ceccarelli. Universidad Nacional de Rosario. Biología molecular.

Dra. María del C. Corigliano. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. Biología Animal.

COMITÉ DE REVISIÓN ÁREA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Dra. Regina de Wikinski. U.B.A. Metabolismo de lípidos y bioquímica clínica.

Dr. Eduardo Ercoli. U.N. Cuyo. Microbiología industrial.

Dra. María M. Elías. U.N. Rosario. Bioquímica clínica.

Dra. Clara E. López. U.N. Rosario. Micología.

Dr. Alfredo Zurita. U.N.N.E. Parasitología.

Guillermo von Ellenrieder. Univ. Nac. de Salta. Biotecnología de alimentos.

Carlos Mario Cuevas. Univ. Nac. de Salta. Microb. Industrial. Alimentos.

Carlos Bregni. U.B.A. Farmacia.

Aída van Gelderen. Univ. Nac. de Tucumán. Microbiología.

Rubén Manzo. Univ. Nac. de Córdoba. Farmacia.

Dra. Mabel E. Valsecia. U.N.N.E. Corrientes. Farmacología.

Dra. Virginia Susana Martino. UBA. Farmacología. Farmacognosia.

Dra. Graciela E. Ferraro. UBA. Farmacognosia. Fisiología Vegetal.

Dra Susana María Sicardi. UBA. Doctora en Farmacología Experimental.

Dra. Laura Beatriz López. UBA. Bromatología. Toxicología. Alimentos. Nutrición. Celíacos.

Dra. Nora Escudero. Universidad Nac. de San Luis. Biología Vegetal.

EQUIPO EDITORIAL

Armado de interiores y tapa: Francisco A. Sánchez

Revisión de texto: Amelia E. Morgenstern

Revisión de texto en inglés: Cristina E. Mayol, M. A.

Colaboradores Técnicos: Zulma Achar y Víctor Narvaez.

Revista de Ciencia y Tecnología on line: www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt. Hecho el depósito de la Ley 11723. Impreso en Argentina. ISSN: 0329-8922.

Esta Revista es un servicio de la SECIP. Está prohibida su venta a terceros como también la reproducción total o parcial con fines comerciales. Los trabajos presentados han sido aceptados para su publicación por el Consejo de Dirección y el Consejo de Edición. La Revista no se hace responsable de las opiniones contenidas en los artículos, siendo de responsabilidad exclusiva de los autores de los mismos. La edición de la Revista cuenta con el apoyo económico de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales y de la Fundación Fac. Cs. Ex. Qcas. y Naturales.

Toda correspondencia relacionada a la Revista debe ser dirigida a: Revista de Ciencia y Tecnología. Félix de Azara 1552, 3300, Posadas, Misiones, Rep. Argentina. Teléfono: 54-3752 - 422186, Fax: 54-3752-425414, E-mail: recyt@fceqyn.unam.edu.ar.

Rev. Cienc. Tecnol.
Año 10 / N° 10a / 2008 / 3–7

INTERVALOS DE REFERENCIA DE SODIO Y POTASIO, SÉRICO Y URINARIO, EN ADULTOS SANOS

Alicia N. M. de Jensen, Miryan S. López, Claudia N. Mir.

SERUM AND URINARY REFERENCE INTERVALS OF SODIUM AND POTASSIUM IN HEALTHY ADULTS

ABSTRACT

The objective of this work was to establish the reference intervals of sodium and potassium electrolytes in serum and urine in clinically healthy subjects. In daily practice, results are compared with the reference intervals provided by other authors, hence the usefulness and importance of establishing own ranges of reference for each analyte appears as evident.

The target population was selected by direct sampling. 124 healthy volunteers previously interviewed were evaluated; they were adults of both sexes, between 19 and 59 years of age, without dietary restrictions, and from different areas of Posadas, Misiones. Venous blood was drawn in the morning under fasting conditions. All the individuals collected 24 hour urine. The samples and controls were processed by direct potentiometry with selective electrode for ions (ISE– Easy Lyte–Medica).

The following reference intervals are proposed; serum sodium (135–146 mMol/l), serum potassium (3.4–5.0 mMol/l), urinary sodium (68–330 mMol/24 h) and urinary potassium (19–76 mMol/24 h).

The reference intervals found will allow the use of own data, avoiding the use of values obtained in other populations, mainly the diet-dependent urinary values.

KEY WORDS: reference intervals, serum sodium, serum potassium, urinary sodium, urinary potassium.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue establecer los intervalos de referencia de los electrolitos sodio y potasio en suero y orina en sujetos clínicamente sanos. En la práctica diaria los resultados se comparan con los intervalos de referencia provistos por otros autores, por lo que resulta evidente la utilidad e importancia de establecer rangos de referencia propios para cada analito.

La población de referencia fue seleccionada por muestreo directo. Se evaluaron 124 voluntarios sanos previamente entrevistados, adultos de ambos sexos, entre 19 y 59 años de edad, sin restricción dietética, de distintas zonas de la ciudad de Posadas, Misiones. Al grupo en estudio, se le extrajo una muestra matinal de sangre venosa en ayunas. Todos los individuos recolectaron orina de 24 h. Las muestras y los controles fueron procesadas por potenciometría directa con electrodo selectivo para iones (ISE– Easy Lyte–Médica).

Se proponen los siguientes intervalos de referencia: sodio sérico (135–146 mMol/l), potasio sérico (3.4–5.0 mMol/l), sodio urinario (68–330 mMol/24 h) y potasio urinario (19–76 mMol/24 h).

Los intervalos de referencia hallados permitirán usar datos propios evitando el uso de valores obtenidos en otras poblaciones, fundamentalmente los urinarios que dependen de la dieta.

PALABRAS CLAVE: Sistema de gestión ambiental, análisis de inventario, enfoque sistémico, impacto ambiental, residuos, ciclo de vida.

INTRODUCCIÓN

Los valores de referencia pueden definirse como un juego de valores de una cantidad medida, obtenidos a partir de un grupo de individuos en una situación definida de “salud”, mientras que intervalo de referencia (IR), es aquel que incluye dos límites de referencia, inferior y superior [1–4].

En general, los laboratorios clínicos usan como referencia valores de la bibliografía internacional y/o los que

proveen los fabricantes de equipos de reactivos, que se caracterizan por presentar una marcada variabilidad debido a que se desconoce la población elegida y la metodología utilizada, por lo que cada laboratorio debería establecer sus propios intervalos de referencia. Los IR no son ni el único ni el mejor medio de juzgar cuando una enfermedad está presente o ausente, pero la decisión clínica está basada, en parte, en que los valores de determinados analitos caigan dentro de un rango de referencia.

Para la creación de un IR basados en una población de

referencia hay que cumplir una serie de requisitos tanto en la fase preanalítica como en las fases analítica y postanalítica

El proceso de obtención de los valores de referencia incluye [3–7]:

- 1) Definir la población de referencia: son todos los individuos que cumplen el criterio utilizado en la selección.
- 2) Seleccionar los sujetos.
- 3) Las condiciones de obtención, técnica de extracción, momento de recolección, transporte, preparación y conservación de la muestra analizada.
- 4) El método utilizado, su reproducibilidad y control de calidad.
- 5) La cantidad de datos observados y la forma en que se calcularon los valores de referencia indicados.

En los últimos años los métodos potenciométricos con electrodo ion selectivo (ISE) que miden actividad de los iones, han adquirido gran importancia para el análisis de estos cationes, los cuales se determinaban anteriormente por espectroscopía de emisión de llama (FAES). Estos últimos son indirectos y miden la concentración de iones en el volumen total de la muestra [8].

Los resultados ISE directos reflejan la verdadera actividad fisiológica de los iones en el suero y dan resultados de sodio y potasio 7% mayores que los métodos FAES. Esta discrepancia entre los resultados obtenidos por ambos

métodos se debe a una desviación de la calibración constituida por el efecto neto de la composición de la solución calibradora y del diseño del instrumento para los métodos ISE directos [8].

El objetivo de este trabajo fue establecer los intervalos de referencia de los electrolitos sodio y potasio en suero y orina, en sujetos clínicamente sanos, ya que no se disponen de datos propios en nuestra población.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población de referencia fue seleccionada por muestreo directo (1,5). Se evaluaron 125 voluntarios sanos previamente entrevistados [9], adultos de ambos sexos, entre 19 y 59 años de edad, sin restricción dietética, de distintas zonas de la ciudad de Posadas.

Fueron excluidos los individuos obesos ($IMC \geq 30$) [10], hipertensos ($PAS > 139$ mmHg, $PAD > 89$ mmHg) [11], mujeres embarazadas y aquellos con tratamiento farmacológico [5]. Al grupo en estudio, previo consentimiento informado, se le extrajo una muestra matinal de sangre venosa en ayunas (8 a 10 h). Todos los individuos recolectaron orina de 24 h, los participantes recibieron un recipiente para la recolección (lavado con detergente no iónico y enjuagado con agua destilada) y las siguientes instrucciones verbales: a una hora determinada de la mañana orinar y desechar, luego recolectar todas la muestras de

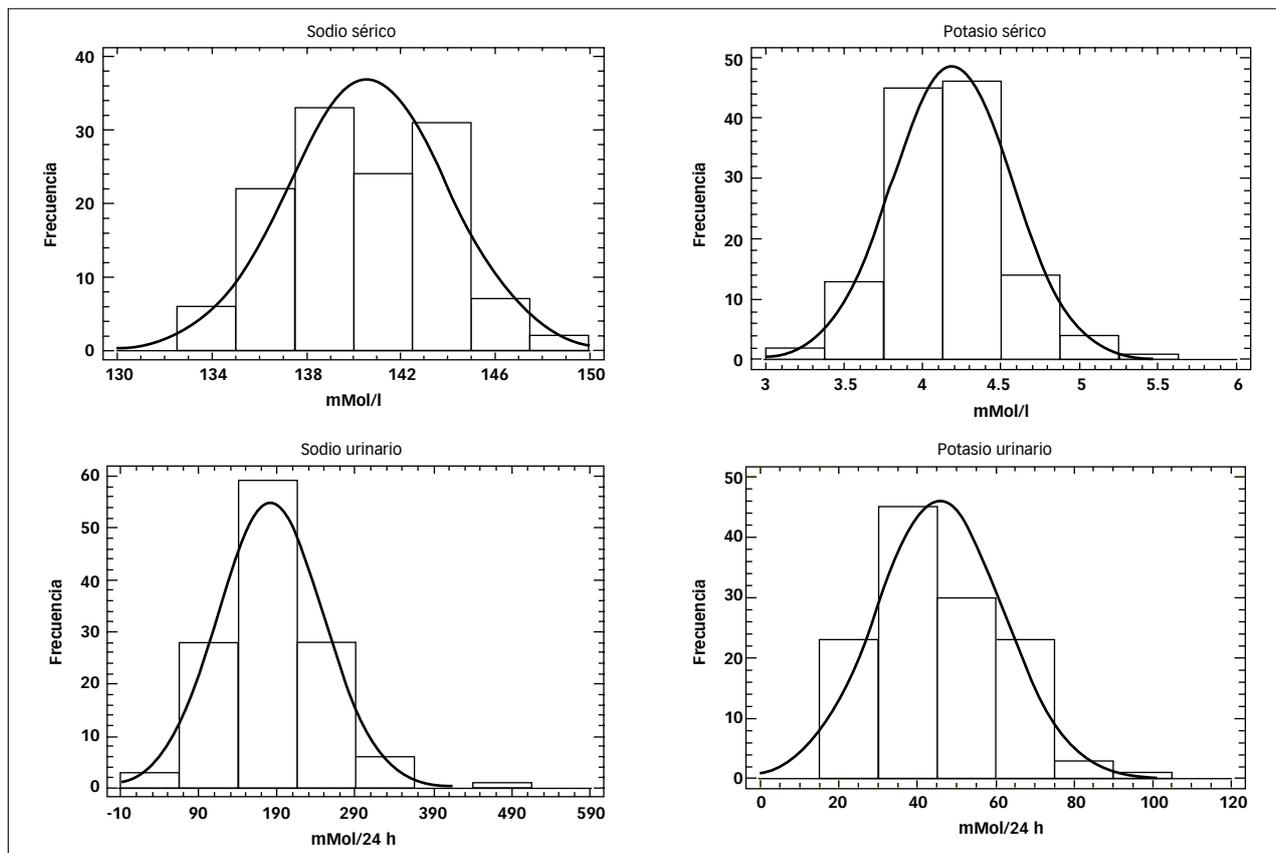


FIGURA 1. Histogramas de frecuencia de los iones sodio y potasio sérico y urinario. Dado que el test de Shapiro–Willks no nos permite rechazar la hipótesis nula podemos concluir que los datos de potasio sérico presentan una distribución normal. Este mismo test aplicado a potasio urinario, sodio sérico y urinario, indica que los datos no responden a una distribución Gaussiana.

las próximas 24 h incluyendo la muestra del próximo día obtenida a la misma hora que comenzó la recolección

La medición de la presión arterial fue realizada con esfigmomanómetro anerode con el paciente estandarizado según las normas del JNC VI [11]

El IMC (índice de masa corporal) se calculó como peso (Kg)/talla² (m); peso: paciente de pie, con ropa interior y descalzo; se utilizó báscula de pie con resolución de 0,100 Kg; talla: paciente de pie y descalzo; se utilizó cinta métrica adosada a la pared [10].

Las muestras de suero y orina fueron procesadas por potenciometría directa con electrodo selectivo para iones (ISE– Easy Lyte–Médica). CV Na 2.52%, CV K 4.61%, CV Cl 3.59%.

Se procesaron 2 tipos de controles: interno: Precinorm U–Boehring y externo: a través de la suscripción al Programa de Control de Calidad Externo en Química Clínica de la Fac. de Farmacia y Bioquímica–U.B.A.

El análisis de la normalidad fue efectuado usando el test de Shapiro–Willks. Los límites de referencia y los intervalos de confianza fueron estimados calculando los percentilos 2.5 y 97.5 mediante el uso del programa Statgraphic 5.1 para las distribuciones no paramétricas, al igual que la media y los desvíos estándar para crear el intervalo de confianza del 95% cuando la distribución fue paramétrica. [12, 13].

La detección de valores marginales se realizó mediante el test de Dixon y las fórmulas:

$$q_3 + 1.5 (q_3 - q_1) \quad (1)$$

$$q_1 - 1.5 (q_3 - q_1) \quad (2)$$

donde q_1 y q_3 son los cuartiles 25 y 75% respectivamente. [4, 12, 13].

RESULTADOS

Los histogramas de frecuencia de los valores obtenidos para los iones en suero y orina se presentan en la Figura 1.

En la Tabla 1 se observan los datos estadísticos obtenidos en la población de referencia: valores promedio, desvíos estándar, percentilos 2.5 y 97.5.

Tabla 1. Datos estadísticos de Sodio y Potasio sérico y urinario en la población de referencia.

	Sodio sérico mMol/l	Potasio sérico mMol/l	Sodio urinario mMol/24 h	Potasio urinario mMol/24 h
X	141	4.2	182	46
DS	3.4	0.4	67.9	16.2
Percentilo 2.5/2DS	135	3.4	68	19
Percentilo 97.5/2DS	146	5.0	330	76

DISCUSIÓN

Los mecanismos que regulan la homeostasis del sodio, entre los que se incluyen el sistema simpático, péptido natriurético atrial y factores vasoactivos como: endotelinas, sistema Renina–Angiotensina II–Aldosterona, óxido nítrico y prostaglandinas regulan la excreción del mismo manteniendo su balance corporal en relación a la ingesta. [14–18]. Lo mismo ocurre para el potasio donde cobran relevancia hormonas como catecolaminas, insulina, aldosterona y ADH como mecanismos reguladores. [19–22].

La obtención de intervalos demanda el conocimiento de las variaciones causadas por procesos fisiológicos, diferencias genéticas y factores medioambientales. En el caso de sodio y potasio fundamentalmente los valores urinarios ya que varían con los hábitos dietéticos. Nuestra población tiene un elevado consumo de sal (11 +/- 4 g sal/día) y bajo de potasio (1.7 +/- 0.6 g K/día) [23]; debido al consumo de alimentos manufacturados y/o comidas típicas con alto contenido de sal y una ingesta pobre en frutas y vegetales.

En la Tabla 2 se presenta la comparación de los intervalos obtenidos con la bibliografía.

Tabla 2. Comparación de los intervalos de referencia obtenidos con datos aportados por la bibliografía.

ion	Bibliografía 24	Bibliografía 25	Intervalos obtenidos
Sodio sérico mMol/l	136–142	135–147	135–146
Potasio sérico mMol/l	3.8–5.0	3.5–5.0	3.4–5.0
Sodio urinario mMol/24 h	75–200	40–220 (dieta dependiente)	68–330
Potasio urinario mMol/24 h	40–80	25–100 (dieta dependiente)	19–76

Si se comparan los rangos obtenidos con los aportados por la bibliografía se observa una similitud en valores séricos, no así en los valores urinarios, los cuales dependen de la dieta.

CONCLUSIÓN

Para nuestra población se proponen los siguientes intervalos de referencia:

- sodio sérico: 135–146 mMol/l
- potasio sérico: 3.4–5.0 mMol/l
- sodio urinario: 68–330 mMol/24 h
- potasio urinario: 19–76 mMol/24 h

Los intervalos de referencia hallados permitirán usar datos propios, evitando el uso de valores de referencia obtenidos en otras poblaciones, fundamentalmente los urinarios que dependen de la dieta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Solberg, H. E.**
A Guide to IFCC recommendations on referente values. JIFCC. 5:P. 160–164.1993.
2. **Solberg, H. E.**
Approved Recommendation (1986) on the Theory of Reference Values: Part 1. The Concept of Reference Values. J.Clin.Chem.Clin. Biochem. 25: P. 337–342. 1987.
3. **Winkel, P.; Statland, B.**
Interpretación de los resultados de laboratorio: valores de referencia y toma de decisiones. En: Henry, J. B. Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. Masson Salvat. P. 51–67.1994.
4. **Ventimiglia, F.; Fink, N.**
Intervalos de referencia: metodología para su creación y verificación. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. XXXVI: P. 223–233.2002.
5. **Watchel, M.; Paulson, R.; Plese, Ch.**
Creation and verificación of referente intervals. Lab Med 26: P. 593–597. 1995.
6. **Solberg, H. E.; Petit, Clerc C.**
Approved recommendation (1988) on the Theory of Reference Values. Part 3. Preparation of Individuals and Collection of Specimens for the Production of Reference Values. J. Clin Chem. Biochem. 26: P. 593–598.1998.
7. Tabla de Valores de Referencia. En: Valores de Referencia en el Laboratorio de Análisis Clínicos. Editado por Hoschoian, J. C. y Rodríguez, M.P. P. 15–74.
8. **Korzun, W. J.; Miller, W. G.**
Sodio y Potasio. En: Química Clínica. Métodos. Pesce Kaplan. Ed. Médica Panamericana. P. 103–110. 1990.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standars. –How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory? Approved guideline. NCCLS document C28–A. Villanova, P. A., 1995.
10. **Braguinsky, J.**
Epidemiología de la obesidad. En: Obesidad. El Ateneo. P. 40–48. 1996.
11. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (2003) Available at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/289.19.2560v1>.
12. **Reed, A. H.; Richard, J. H.; Mason, W. B.**
Influence of Statistical Method Used on the Resulting Estimate of Normal Range. Clin Chem. 17: P. 275–284. 1971.
13. **Solberg, H. E.**
Approved recommendation (1987) on the Theory of Reference Values. Part 5. J. Clin Chem. Biochem. 25: P. 645–656. 1987.
14. **Koeppen, B. M.; Stanton, B. A.**
Renal transport mechanisms: NaCl and water reabsorption along nephron. En Renal Physiology. Mosby. P. 49–73. 2001.
15. **Koeppen, B. M.; Stanton, B. A.**
Regulation of effective circulating volume and NaCl balance. En Renal Physiology. Mosby. P. 93–115. 2001.
16. **Rose, B. D.; Post, T. W.**
Efecto de las hormonas sobre la función renal. En: Trastornos de los electrolitos y del equilibrio acido base. Marban. P. 163–238. 2002.
17. **Rose, B. D.; Post, T. W.**
Regulación del volumen circulante eficaz. En: Trastornos de los electrolitos y del equilibrio ácido base. Marban. P. 258–284. 2002.
18. **Halperin, M. L.; Goldstein, M. B.**
Sodium and water physiology. En: Fluid, electrolite, and acid–base–physiology. W. B. Saunders Company. P. 227–282. 1999.
19. **Koeppen, B. M.; Stanton, B. A.**
Regulation of patassium balance. En: Renal Physiology. Mosby. P. 117–132. 2001.
20. **Rose, B. D.; Post, T. W.**
Homeostasis del potasio. En: Trastornos de los electrolitos y del equilibrio ácido base. Marban. P. 372–402. 2002.
21. **Rose, B. D.; Post, T. W.**
Introducción a los trastornos del balance del potasio Marban. P. 222–235. 2002.
22. **Halperin, M. L.; Goldstein, M. B.**
Potassium physiology. En: Fluid, electrolite, and acid–base–physiology. W. B. Saunders Company. P. 371–400. 1999.
23. **Maskin de Jensen, A.; López, M.; Jiménez de Aragón, S.; Mir, C.; Fernández, V.**
Homeostasis de los electrolitos sodio y potasio en población normotensa de la ciudad de Posadas. Revista de Ciencia y Tecnología. 7ª: P. 37–44. 2005.
24. **Lelman, H. P.; Henry, J. B.**
Apéndice 5. Unidades del Sistema Internacional SI. En: Henry, J. B. El Laboratorio en el Diagnostico Clínico. Masson Salvat. P. 1426–1440. 2005.
25. **Laposata, M.**
Cifras Internacionales normales en laboratorio. En: Gilberto, A. Interpretación Clínica del Laboratorio. Panamericana. P. 489–513. 2000.

Recibido: 09/10/07.

Aprobado: 14/11/07.

• Alicia Noemí Maskin de Jensen¹
(jensen@fceqyn.unam.edu.ar).

Título de grado: Bioquímica. Universidad Nacional de La Plata.
Certificación: Bioquímico Especialista en Química Clínica. Orientación Medio Interno y Gases. Categoría 1. Asociación bioquímica argentina. (ABA).

Cargo: Adjunto. Cátedra: Fisiología Humana. Carrera de Bioquímica, Fac. de Cs. Ex., Quím. y Nat. U.Na.M. Dedicación: Exclusiva a/c. Regular.

Categoría Sistema de Incentivos: III.

• Miryan Susana López¹

Título de grado: Bioquímica. Universidad Nacional del Nordeste.

Título de posgrado: Especialista en Química Clínica, U.Na.M.

Cargo: J.T.P. Cátedra: Fisiología Humana. Carrera de Bioquímica, Fac. de Cs. Ex., Quím. y Nat. U.Na.M. Dedicación: Semiexclusiva. Regular.

Categoría Sistema de Incentivos: IV.

• Claudia Nora Mir¹

Título de grado: Bioquímica. Universidad Nacional de Misiones.

Cargo: Auxiliar de Primera. Cátedra: Fisiología Humana. Carrera de Bioquímica, Fac. de Cs. Ex., Quím. y Nat. U.Na.M. Dedicación: Simple. Regular.

1– Cátedra de Fisiología Humana. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Módulo de Bioquímica y Farmacia. Avda. Mariano Moreno 1375, Posadas, Misiones.

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE RESISTENCIA A MACRÓLIDOS EN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*: PRIMER ESTUDIO EN MISIONES

Eduardo Pegels, Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Esteban Pereyra, Patricia Galloso, Marta Vergara.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF MACROLIDE RESISTANCE IN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*: FIRST STUDY IN MISIONES

ABSTRACT

The increasing incidence of macrolide and clindamycin resistance in *Streptococcus agalactiae* (GBS) have broad implications for both prophylactic and drug treatment.

We describe herein the antimicrobial susceptibility to clindamycin and erythromycin in 91 isolates of GBS recovered from pregnant women.

The characterization of macrolide resistance was determined by double-disk test. Eleven (12.1%) of the isolates were resistant to erythromycin and 2 (2.2%) to clindamycin. Erythromycin resistance was found to be higher than other Argentinean reports. Among the erythromycin-resistant isolates, 7 expressed the M resistance phenotype. This finding suggests the existence of a different clone or the spread of resistant strains with an efflux mechanism in our area.

These data compel us to consider the susceptibility to macrolides and lincosamides in each individual strain before using any of these antibiotics. Periodic surveillance is, therefore, necessary to promote the appropriate therapeutic choices in patients allergic to β -lactam agents.

KEY WORDS: GBS, *Streptococcus agalactiae*, phenotypic characterization, macrolide resistance.

RESUMEN

El aumento de resistencia a macrólidos en *Streptococcus agalactiae* (SGB) tiene amplia implicancia en profilaxis y tratamiento.

Describimos aquí la susceptibilidad a eritromicina y clindamicina de 91 aislamientos de SGB recuperados de mujeres gestantes.

La caracterización de resistencia a macrólidos se determinó mediante el test de doble disco. Once (12,1%) de los aislamientos fueron resistentes a eritromicina, y 2 (2,2%) a clindamicina. La resistencia a eritromicina hallada fue mayor a la informada en Argentina. Entre las cepas eritromicina resistentes, 7 expresaban el fenotipo M de resistencia. Este hallazgo sugiere la existencia de un clon diferente o la diseminación de cepas resistentes con un mecanismo de eflujo en nuestra región.

Estos datos nos obligan a considerar la susceptibilidad a macrólidos y clindamicina en cada aislamiento individual de SGB antes de su uso clínico. La vigilancia periódica es, por lo tanto, necesaria para una adecuada elección terapéutica en pacientes alérgicos a los β -lactámicos.

PALABRAS CLAVE: SGB, *Streptococcus agalactiae*, caracterización fenotípica, resistencia a macrólidos.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones producidas por *Streptococcus agalactiae*, beta hemolítico grupo B (SGB) representan una fuente significativa de morbimortalidad perinatal.

SGB es el principal agente causal de sepsis neonatal precoz y es responsable de las infecciones más graves y frecuentes que puede presentar un paciente en sus primeras horas de vida. Es causa importante de infecciones durante el embarazo y el puerperio, causando corioamnionitis, endometritis postparto, infección urinaria, infección de herida quirúrgica post-cesárea y sepsis puerperal. Actualmente, se

incrementa su asociación con severas infecciones invasivas en adultos.

Se ha señalado una fuerte asociación entre colonización vaginal y parto prematuro, rotura prematura de membrana, bajo peso al nacer, muerte intraútero y aún con bacteriuria asintomática o sintomática durante el embarazo, proponiéndose la elevada colonización materna como causante de ello [1, 2].

La prevalencia de la portación muestra gran variabilidad geográfica [1].

La incidencia de las infecciones en el recién nacido alcanza hasta 3 por cada 1000 nacidos vivos. La infección

suele manifestarse en las primeras horas de vida como neumonía, sepsis o meningitis [3].

La administración de un antibiótico profiláctico adecuado ha mostrado reducir la aparición de estas patologías entre un 69 a 86% [4].

Los antibióticos β -lactámicos, como penicilina y ampicilina, son las drogas de elección usadas en el tratamiento y prevención de estas infecciones, siendo la clindamicina y la eritromicina las alternativas válidas para las pacientes alérgicas a los β -lactámicos [5].

En nuestro país, SGB se mantiene sensible a la penicilina sin que se haya descripto ninguna cepa resistente hasta el presente. No ocurre lo mismo con los antibióticos de los grupos macrólidos y lincosamidas [6, 7].

La aparición de resistencia a estos antibióticos, en algunos países se incrementó con algunas variaciones geográficas en la última década. En Taiwan, Hsueh y col. [8] comunicaron un incremento de la resistencia a eritromicina y clindamicina del 19 y 18% en 1994 a 46 y 37% en 1997, respectivamente. Betriu y col. (9) estudiando 1462 aislamientos de SGB recuperados en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid, España, durante 1992 a 2001, comunicaron que el porcentaje de resistencia a eritromicina del año 1992 (14,0%), sufrió un declive significativo hasta el año 1996 (5,6%) pero se incrementó notoriamente en 1998 (14,5%) y 1999 (18,0%), situación semejante a la ocurrida con clindamicina: 12,0% de resistencia en 1992, 4,4% en 1995–1996 y 12,8% en 1999.

La presencia de resistencia a macrólidos y clindamicina involucra un serio problema de salud.

Este hecho motivó el analizar, por primera vez en nuestra población, el perfil de susceptibilidad frente a macrólidos y clindamicina en cepas de SGB aisladas de gestantes en el último periodo de edad gestacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 91 cepas de SGB recuperadas, entre enero 2004 a diciembre 2005, de introito vaginal y rectal de gestantes entre la 35 y 37 semana de gestación concurrentes al Hospital Dr. Ramón Madariaga.

La caracterización fenotípica de resistencia a eritromicina y clindamicina se determinó mediante el método de difusión del doble disco (D-Test) utilizando discos de eritromicina (15 μ g) y clindamicina (2 μ g), ambos provistos por Laboratorios Britania, siguiendo las recomendaciones, criterios y puntos de corte recomendados por el CLSI [10].

Para ello se usó agar Muller Hinton suplementado con sangre de oveja al 5%, inóculo (equivalente al 0,5 de la escala de Mac Farland) de microorganismos de 24 hrs de crecimiento, y discos de eritromicina (ERY) y clindamicina (CLI) colocados a distancia de 12 mm de borde a borde. Las placas se incubaron 20 a 24 hrs a 35°C en atmósfera de CO₂.

La detección de resistencia a ERY y sensibilidad a CLI con achatamiento de halo de CLI (efecto D) se definió como fenotipo MLS inducible (iMLS_B); la resistencia simultánea a ERY y a CLI como fenotipo MLS constitutivo (cMLS_B) y, la resistencia a ERY y sensibilidad a CLI sin achatamiento de halo de CLI como fenotipo M (eflujo).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cepas de SGB, diversos autores [11, 12, 13, 14] han informado un incremento en la resistencia a ERY.

En este estudio, de los 91 aislados estudiados, el 2,2% fueron resistentes a CLI y el 12,1% resistentes a ERY (Tabla 1), datos que coinciden con la bibliografía donde la mayoría de los estudios informan que los porcentajes de resistencia a ERY superan a los de CLI [9].

Tabla 1. Resistencia a eritromicina y clindamicina de 91 cepas de *Streptococcus agalactiae*.

Antibiótico	Nº de cepas resistentes (%)
Eritromicina	12,1
Clindamicina	2,2

El porcentaje de resistencia a ERY que hemos detectado es más elevado que el informado en publicaciones referidas a la Argentina como la de Lopardo y col. (5,2%) (6), Pérez y col. (6,0%) [7], Di Bartolomeo y col. (1,74%) [15], García y col. (2,1%) [16], Mollerach y col. (2,4%) [17], y del Brasil como la de Lermontov Borges y col. (9,4%) [18], aunque menor que el detectado en otros países [8, 19, 20].

Entre las cepas resistentes a ERY, 7 expresaban el fenotipo M, 2 el fenotipo iMLSB y 2 el fenotipo cMLSB (Tabla 2), lo que difiere de otros autores argentinos [7, 15, 17], de Chile [21] y del Brasil [22] quienes informan la prevalencia de los fenotipos MLS sobre el fenotipo M en SGB. Esta diferencia podría deberse a la existencia de un clon distinto en nuestra región o a la diseminación del mecanismo de resistencia por eflujo en nuestras cepas, características que podrían estar asociadas a un comportamiento diferente en el uso de antimicrobianos en nuestra comunidad.

Tabla 2. Distribución de los fenotipos de resistencia en 11 cepas de *Streptococcus agalactiae* resistentes a eritromicina.

Cepas de SGB resistentes a eritromicina con fenotipo		
	Nº	%
M	7	64
iMLS _B	2	18
cMLS _B	2	18

M: eflujo; iMLS_B: resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B inducible; cMLS_B: resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B constitutiva.

La gran difusión en el uso de antibióticos en diversas situaciones clínicas ha potenciado la emergencia de resistencia bacteriana [8].

La resistencia a antibióticos de SGB es actualmente considerada un problema creciente por lo que ha sido re-

comendado [23] ensayar su susceptibilidad a antibióticos a fin de establecer medidas de control.

El porcentaje de resistencia a ERY detectado apoya fuertemente las actuales recomendaciones [13] de realizar los ensayos de susceptibilidad frente a ERY y CLI en cada aislamiento individual de SGB a fin de disponer de estos antimicrobianos para la prevención de infecciones neonatales por este microorganismo.

CONCLUSIONES

Nuestro estudio muestra que los porcentajes de resistencia a macrólidos varían entre diferentes áreas geográficas de la República Argentina, por lo que la vigilancia periódica de dichos perfiles se hace prioritaria.

Estos resultados sugieren además que, en mujeres alérgicas a los β -lactámicos, la selección de antibióticos alternativos a la penicilina debería basarse en los estudios previos de las cepas involucradas (ya sean colonizantes o infectantes) o bien en los patrones de resistencia antibiótica de cada región, si no se dispone de los primeros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Schuchat, A.** Group B *Streptococcus*. Lancet; 353: 51–6. 1999.
- Feikin, D. R.; Thorsen, P.; Zywicki, S.; Arpi, M.; Westergaard, J. G.; Schuchat, A.** Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women. Am. J. Obstet. Gynecol. 184: 427–33. 2001.
- Baker, C. J.; Edward, M. S.** Group B streptococcal infection. En: Remington JS, Klein JO (Ed), Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 4th Ed, WB Saunders. Co, Philadelphia, p. 980–1054. 1995.
- de Cueto, M.; de la Rosa, M.** Prevención de la infección neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Un tema consolidado. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 21(4):171–3. 2003.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. MMWR 51: 1–22. 2002.
- Lopardo, H. A.; Vidal, P.; Jeric, P.; Centron, D.; Paganini, H.; Facklam, R. R. The Argentinian *Streptococcus* Study Group; Elliott, J.** Six–Month multicenter study on invasive infections due to Group B streptococci in Argentina J. Clin. Microbiol. 41(10): 4688–4694. 2003.
- Pérez, J.; Limansky, A.; Toresani, I.; Ebner, G.; Di Bartolomeo, S.; de Inocente, I.; Pretto, G.; Salazar, N.; Laferrara, M.; Bottiglieri, M.; Ballester, D.; Morales, M.; Rivera, L.; Cacace, M. L.; Castro, H.; Roldán, L.; Notario, R.; Borda, N.; Cera, G.; Spoletti, M. J.; Gregorini, E.; Sutich, E. G.** Distribución de tipo capsular y sensibilidad a antimicrobia-
- na de *Streptococcus agalactiae* productores de infecciones en Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 36(2):63–67. 2004.
- Hsueh, P.; Teng, L.; Lee, L.; Ho, S.; Yang, P.; Luh, K.** High incidence of erythromycin resistance among clinical isolates of *Streptococcus agalactiae* in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother. 45: 3205–3208. 2001.
- Betriu, C.; Culebras, E.; Gómez, M.; Rodríguez–Avial, I.; Sánchez, B. A.; Ágreda, M. C.; Picazo, J. J.** Erythromycin and clindamycin resistance and telithromycin susceptibility in *Streptococcus agalactiae*. Antimicrob Agents Chemother. 47(3):1112–1114. 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. M100–S16. Wayne, PA. 2006.
- Aracil, B.; Minambres, M.; Oteo, J.; De La Rosa, M.; Gomez–Garces, J. L.; Alos, A. J.** Susceptibility of strains of *Streptococcus agalactiae* to macrolides and lincosamides, phenotype patterns and resistance genes. Clin. Microbiol Infect. 8(11):745–748. 2002.
- Di Persio, L. P.; Di Persio, J. R.** High rates of erythromycin and clindamycin resistance among OBGYN isolates of group B *Streptococcus*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 54(1):79–82. 2006.
- Heelan, J. S.; Hasenbein, M. E.; McAdam, A. J.** Resistance of Group B *Streptococcus* to selected antibiotics, including erythromycin and clindamycin. J. Clin. Microbiol. 42(3):1263–1264. 2004.
- Lin, F. Y.; Azimi, P. H.; Weisman, L. E.; Phillips, J. B.; Regan, J.; Clark, P.; Rhoads, G. G.; Clemens, J.; Troendle, J.; Pratt, E.; Brenner, R. A.; Gill, V.** Antibiotic susceptibility profiles for Group B streptococci isolated from neonates, 1995–1998. Clin. Infect. Dis. 31(1): 76–79. 2000.
- Di Bartolomeo, S.; Gentile, M.; Priore, G.; Valle, S.; Di Bella, A.** *Streptococcus agalactiae* en embarazadas. Prevalencia en el Hospital Nacional Alejandro Posadas. Rev. Arg. Microbiol. 37(3):142–144. 2005.
- García, S. D.; Eiseith, M. C.; Lazzo, M. J.; Copolillo, E.; Barata, A. D.; de Torres, R.; Vay, C. A.; Famiglietti, A. M.** Portación de estreptococo grupo B en mujeres embarazadas. Rev. Arg. Microbiol. 35(4):183–187. 2003.
- Mollerach, A.; Mendez, E.; Massa, R.; Di Conza, J.** *Streptococcus agalactiae* aislados en Santa Fe, Argentina: estudio de sensibilidad a antibióticos de uso clínico y mecanismos de resistencia a eritromicina y clindamicina. Enferm Infecc. Microbiol. Clin. 25(1):67–68. 2007.
- Lermontov Borges, I.; Cerqueira d’Oliveira, R. E.; Dias de Castro, A. C.; Bona de Mondito, S. S.** *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: prevalence of colonization and antimicrobial susceptibility evaluation. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 27(10):575–579. 2005.

19. De Mouy, D.; Cavallo, J.-D.; Leclercq, R.; Fabre, R. and the AFORCOPI-BIO Network.

Antibiotic susceptibility and mechanisms of erythromycin resistance in clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*: French multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother.* 45:2400–2402. 2001.

20. Fluegge, K.; Supper, S.; Siedler, A.; Berner, R.

Antibiotic susceptibility in neonatal invasive isolates of *Streptococcus agalactiae* in a 2-year Nationwide Surveillance Study in Germany. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(11): 4444–4446. 2004.

21. Martínez, M. A.; Ovalle, A.; Durán, C.; Reid, I.; Urriola, G.; Garay B.; Cifuentes M.

Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae*. *Rev. Med. Chile.* 132:549–555. 2004.

22. Duarte, R.; Bellei, B. C.; Miranda, O.P. ; Brito, M. A. V. P.; Teixeira L. M.

Distribution of antimicrobial resistance and virulence-related genes among Brazilian group B streptococci recovered from bovine and human sources. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(1): 97–103. 2005.

23. Liddy, H.; Holliman, R.

Group B *Streptococcus* highly resistant to gentamicin. *J. Antimicrob. Chemother.* 50(1):142–143. 2002.

• Marta Vergara¹

Bioquímica; Master Internacional en Bacteriología y Micología; Especialista en Educación Superior; Profesora Titular Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría II Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

1– Universidad Nacional de Misiones, Av. Mariano Moreno 1375, (3300), Posadas, Misiones, Argentina.

(bacterio@fceqyn.unam.edu.ar).

2– Hospital Dr. Ramón Madariaga, Av. López Torres 1177, (3300), Posadas, Misiones, Argentina.

(ejpere@yahoo.com.ar).

Recibido: 30/10/07.

Aprobado: 22/05/08.

• Eduardo Pegels¹

Licenciado en Bioquímica; Especialista en Microbiología Clínica; Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría III Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

• Marina Quiroga¹

Especialista en Microbiología Clínica; Doctora de la Universidad de Buenos Aires, área Microbiología; Profesora Adjunta Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría III Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

(miquiroga@fceqyn.unam.edu.ar,

marinaquiroya@fceqyn.unam.edu.ar).

• Patricia Oviedo¹

Bioquímica; Magíster en Gerenciamiento y Administración en Sistema de Salud; Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría IV Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

• Esteban Pereyra²

Médico; Especialista en Ginecología y Obstetricia; Jefe Sector de Internación Maternidad Hospital Dr. Ramón Madariaga, Posadas, Misiones.

• Patricia Galloso¹

Ayudante alumno de segunda. Carrera de Bioquímica. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN, UNaM.

ANÁLISIS GENÓMICO COMPARATIVO ENTRE MUESTRAS DE PAPANICOLAU Y SANGRE PARA EL MINISATÉLITE UBICADO EN LA REGIÓN 5Q21

Ariel E. Cariaga Martínez, Selva Rosiello, Pedro D. Zapata.

GENOMIC COMPARATIVE ANALYSIS BETWEEN PAPANICOLAU AND BLOOD SAMPLES FOR 5Q21 REGION MINISATELLITE

ABSTRACT

Papanicolaou is a bloodless technique that shows phenotypic changes related to tisular organization and differentiation.

In this study we evaluated the relation between genomic instability of 5q21-5q22 minisatellite and the Papanicolaou. DNA of Papanicolaou and blood samples from 69 women were isolated and amplified. No genetic changes in pre-malignant lesions were found. However, one allelic change was observed on DNA from cervix carcinoma. These findings may be related to a late change in the carcinogenesis process. The population analyzed was polymorphic showing 6 allelic forms (8-13) with heterozygosity rate of 0.33.

KEY WORDS: cervix carcinoma, exfoliative cytology, VNTR, 5q21 minisatellite.

RESUMEN

El Papanicolau es una de técnica incruenta que puede correlacionarse con el grado de organización y diferenciación tisular basándose en hallazgos fenotípicos.

Este trabajo evalúa la relación entre la inestabilidad genómica de una secuencia minisatélite ubicada en la región 5q21-5q22 y las observaciones del Papanicolau en una población constituida por 69 mujeres. Para ello se amplificó la región minisatélite a partir de DNA proveniente de muestras para Papanicolau y se comparó con el proveniente de muestras sanguíneas. El análisis genómico comparativo reveló la presencia de una alteración compatible con la pérdida de una unidad de repetición en una muestra de carcinoma invasor de cuello uterino sin observarse cambios en muestras con lesiones premalignas. Este hallazgo podría indicar que las alteraciones genómicas en la región analizada son acontecimientos tardíos en la evolución tumoral.

Se proponen los siguientes intervalos de referencia: sodio sérico (135-146 mMol/l), potasio sérico (3.4-5.0 mMol/l), sodio urinario (68-330 mMol/24 h) y potasio urinario (19-76 mMol/24 h).

La población analizada fue polimórfica observándose 6 alelos (8-13) con una frecuencia de heterocigocidad de 0,33.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de cuello de útero, citología exfoliativa, VNTR, minisatélite 5q21.

INTRODUCCIÓN

La citología exfoliativa ha sido tradicionalmente utilizada para evaluar el grado de organización tisular durante un determinado plazo de tiempo. Es especialmente útil para la vigilancia preventiva de tejidos a los que se tiene acceso de manera relativamente incruenta, como son las cavidades mucosas y la piel. Estos estudios se basan en la observación directa de células mediante raspado mecánico. Entre los parámetros a analizar se encuentran el estado de diferenciación celular, la presencia de agentes infecciosos, reacción inflamatoria del tejido y, de acuerdo a la muestra, el grado de organización tisular.

El Papanicolau, es una de estas técnicas citológicas, en la que se analiza el epitelio escamoso estratificado que recubre el cuello del útero. Esta técnica es altamente efectiva y, realizada de una manera rutinaria aumenta de

manera significativa los hallazgos precoces de carcinomas de cuello de útero. A pesar de la gran expectativa preventiva que despierta esta técnica, en muchos de los tumores se sabe que las lesiones comienzan a acumularse en la célula mucho antes de manifestarse visiblemente en su fenotipo. En este sentido, Wistuba *et al.* 1999 [1], describen una frecuencia relativamente alta de anormalidades relacionadas con secuencias repetitivas del genoma que parecerían acumularse de manera precoz antes de ser detectados los primeros cambios citológicos.

El genoma eucariota posee una organización particular que asegura una baja tasa de mutación génica manteniendo una alta tasa de diversidad genética. Esto se manifiesta en la porción no codificante del genoma, que en humanos alcanza casi al 97%. Dentro de esta podemos encontrar DNA repetido en tándem, distribuido por todo el genoma. Se trata de unidades de longitud variable que se repiten

una a continuación de la otra y que pueden clasificarse en minisatélites y microsatélites de acuerdo al tamaño de la unidad de repetición y de acuerdo al número de repeticiones. Los minisatélites (*variable number tandem repeats*, VNTR) poseen unidades de repetición mayores, de más de 13 pb, mientras que los microsatélites (*short tandem repeats*, STR) suelen poseer unidades pequeñas de 1–13 pb que se repiten abundantemente [2, 3].

Una propiedad importante de este tipo de secuencias radica en su inestabilidad genómica, tendiendo a aumentar o disminuir el número de unidades de repetición. Esto depende de numerosos parámetros entre los que se encuentra la capacidad de los sistemas de reparación celulares. Existen dos mecanismos por los que se producirían estos cambios, uno de ellos es la recombinación y otro es la replicación redundante o fallida en la que se produce un deslizamiento en falso de la polimerasa o *slippage* [4]. Se trata de secuencias altamente polimórficas, con una gran cantidad de alelos, que facilitan su utilización como marcadores genéticos, ya sea en estudios de diversidad, poblacionales o biomédicos [5].

Desde el punto de vista biomédico, los cambios en este tipo de secuencias han sido observados en diferentes tipos de patologías, pero no se puede afirmar si se trata de un cambio que predisponga a desarrollar la patología o únicamente de una consecuencia del desarrollo de esta última. Desde inicios de la década del 90, la asociación entre secuencias repetitivas con enfermedades humanas ha provocado gran impacto [6]. Las primeras observaciones en cáncer estaban relacionadas con cáncer de colon y recto, aunque actualmente se dispone de pruebas que lo relacionan con casi todos los tipos de tumores, incluido en carcinoma de cuello de útero [7–10]. Por ello no es raro que los hallazgos publicados por diferentes autores a veces se presenten como contradictorios. Así Nishimura *et al.* [7], tratando de dilucidar el rol de la inestabilidad genética y la pérdida de la heterocigocidad de locus, concluyen que la inestabilidad de secuencias repetidas es un evento tardío de la carcinogénesis del cáncer de cérvix, pero que sí se halla asociado con la conversión de neoplasias cervicales intraepiteliales hacia un fenotipo invasivo.

Wistuba *et al.* [1], estudiando las anomalías moleculares incluidas en la patogénesis de tumores de cérvix, a través de más de 9 marcadores génicos y de locus, llegan a concluir que los tumores de cérvix tienen diferentes características respecto a la inestabilidad de minisatélites, hallándose principalmente implicado el virus del papiloma humano (HPV). Estos autores también estudian la región 5q21–5q22/MCC–APC, a cuya pérdida alélica le atribuyen una “relativa infrecuencia”, aunque se halle como prueba presente en el 30% de los casos.

Por otra parte Sakamoto *et al.* [8], al evaluar la inestabilidad de microsatélites en la patogénesis del cáncer de cérvix uterino, hallan resultados que sugieren que la inestabilidad generalizada en microsatélites puede ser una

manifestación molecular en tumores endometriales. Aún así concluyen con cautela exponiendo que sus resultados solamente sugieren la presencia de múltiples subconjuntos de mutaciones que actúan de modo complementario en el desarrollo del cáncer de endometrio.

Tsuda *et al.* [11], reportan diferentes patrones de pérdida de la heterocigocidad entre adenocarcinomas de tipo endocervical y de tipo endometroide, hallando mayor frecuencia para pérdida de heterocigocidad en las regiones 5q y 10q.

Finalmente, Bugert *et al.* [12] describieron una repetición microsatélite de 33 pb (VNTR) corriente arriba del gen MCC (*mutated in colon cancer*) ubicada en el locus 5q21 que presenta entre 5 y 11 repeticiones con una heterocigocidad de 0,56. Estos autores demostraron que a pesar de que el minisatélite no se exprese como parte de una unidad de transcripción génica, puede ser utilizado como una herramienta para la detección de cambios alélicos en 5q21, utilizando geles de agarosa.

La inestabilidad de secuencias repetidas se halla claramente implicada en el desarrollo y progresión de tumores en cérvix uterino, pero a pesar de ello aún se requieren mayores estudios para valorar su utilidad para la detección precoz y podría servir de apoyo diagnóstico en personas en situación de riesgo.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la relación que existe entre la inestabilidad genómica de la secuencia minisatélite de 33pb ubicada en la región 5q21 y la citología exfoliativa en epitelio de cuello de útero, a través de la amplificación selectiva de esta región por medio de la reacción PCR, en muestras de sangre y células provenientes de cérvix uterino en mujeres mayores de 14 años que concurren al Servicio de Citología Exfoliativa del Hospital SAMIC de Leandro N. Alem, para controles rutinarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras utilizadas

Este estudio fue realizado sobre 69 mujeres que asisten al Servicio de Citología Exfoliativa del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Público SAMIC de la localidad de Leandro N. Alem, ubicada en la zona centro de la Provincia de Misiones, Argentina. Las mujeres que colaboraron en el estudio concurren a controles rutinarios y su participación fue voluntaria siendo todas ellas mayores de 14 años, pero debido a que se trata de un estudio biomédico, se tomaron los recaudos éticos y legales pidiendo la autorización conforme a cada paciente que se integró al estudio, luego de explicarle los alcances del proyecto en cuestión (según lo establecen las reglamentaciones vigentes). Se contó, además, con la autorización de la Dirección del Hospital y de la Dirección del Laboratorio de Análisis Clínicos.

A cada paciente se le tomó una muestra de células de mucosa cervical utilizando una espátula de Ayre y una

muestra de sangre venosa recogida sobre el anticoagulante EDTA 0,5 M.

Citología exfoliativa

Se realizó de acuerdo a la modificación de la técnica de hematoxilina–eosina según papanicolau para coloración de muestras obtenidas de cérvix uterino.

La observación microscópica de los extendidos y su clasificación se realizaron según criterios de BETHESDA, que diferencian células anómalas y se basan en la observación del núcleo y del citoplasma cuyos cambios también complementan el diagnóstico (13).

Extracción de DNA a partir de muestras de sangre

Se trabajó con sangre entera anticoagulada con EDTA 0,5 M obtenida por punción venosa, recogida en microtubos de 1,5 mL estériles y libres de DNAsas. Las muestras fueron congeladas hasta el momento de su procesamiento.

El DNA fue extraído utilizando una modificación de la técnica descrita por Miller–Dykes, 1988 (14), analizado por electroforesis en geles de agarosa al 1%, resuspendido en agua y almacenado a -20°C hasta su utilización.

Extracción de DNA de muestras de mucosa cervical

Para obtener DNA de mucosa cervical se utilizaron células exfoliadas por raspado con espátula de Ayre o hisopo estéril. Las células se lavaron con ClNa 0,9% y se lisaron con tampón Tris HCl 50 mM, EDTA 1 mM y 0,5% de Tween 20 en presencia de 1 mg/mL Proteinasa K a 55°C durante toda la noche. Luego de la incubación las muestras así tratadas se calentaron a 90°C por 10 min y se centrifugaron a 12000 rpm por 5 min. El sobrenadante (DNA) fue analizado por electroforesis en geles de agarosa al 1% y almacenado a -20°C hasta su utilización [15].

Amplificación de la región minisatélite

Para la amplificación por PCR se utilizaron los cebadores descritos por Bugert *et al.* (12), que amplifican una región minisatélite de 33pb ubicada en el locus 5q21: 5qrep–F1 (5^{\prime} –gTA gTT Tgg CAT TAT TCC Agg g– 3^{\prime}) y el 5qrep–R1 (5^{\prime} –TgA TCT TgC CTC ACC CAT C– 3^{\prime}).

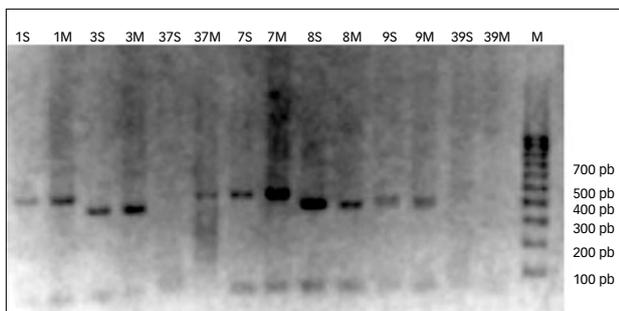


FIGURA 1. Amplificación del minisatélite mediante PCR. Se trata de muestras apareadas. La abreviatura superior indica el número de muestra seguido de una sigla que denota el origen del DNA: S para sangre y M para mucosa. M: marcador de peso molecular.

La reacción de PCR fue llevada a cabo en un volumen final de 25 μL , utilizando buffer con KCl, 1 mM Cl₂Mg, 200 mM de dNTP's; 5 pmoles de cada cebador (OPERON Biotechnology), 0,5 unidades de Taq DNA polimerasa (Fermentas) y 1 μL de DNA como matriz [17].

La amplificación se llevó a cabo mediante 2 ciclos de 2 min a 94°C seguidos de 20 ciclos constituidos por 3 segmentos: 94°C por 30 s, 55°C por 40 s, 72°C por 60 s. Con esta metodología se logró aumentar el rendimiento de la reacción de PCR [17, 19].

Los productos de amplificación fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% a 120v durante 30 minutos, fijados con etanol 10% y ácido acético glacial 0.75%, teñidos con nitrato de plata 0,3% y revelados por inmersión en una solución de hidróxido de sodio 3% y formaldehído 0,3% (18). Una vez teñidos los geles fueron digitalizados mediante escaneo y procesados con el programa Corel PhotoPaint 8 para establecer el tamaño de las bandas (Copyright© 1997 Corel Corporation y Corel Corporation Limited).

Cálculo del tamaño y frecuencia alélica porcentaje de heterocigocidad

Para el cálculo de la frecuencia alélica y porcentaje de heterocigocidad primeramente se corroboraron los tamaños alélicos mediante la realización de 2 amplificaciones para la cada muestra y 2 corridas electroforéticas para cada amplificación.

RESULTADOS

Citología exfoliativa

Se estudiaron 69 pacientes con una edad promedio de 32,47 años y una mediana de 31 años. En la Tabla 1 se recogen los resultados de los exámenes citológicos de las pacientes incluidas en el estudio.

Análisis genómico del minisatélite 5q21

Con el fin de evaluar la inestabilidad genómica del minisatélite 5q21 se aisló DNA genómico a partir de muestras de sangre y mucosa vaginal y se amplificaron 69

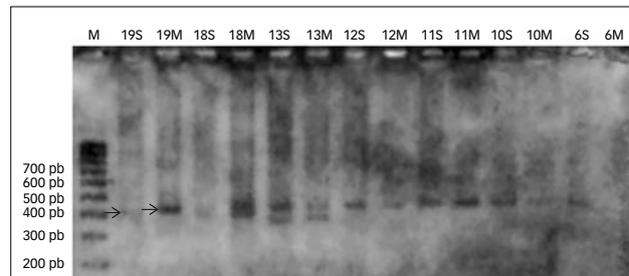


FIGURA 2. Amplificación del minisatélite mediante PCR. Se trata de muestras apareadas. La abreviatura superior indica el número de muestra seguido de una sigla que denota el origen del DNA: S para sangre y M para mucosa. M: marcador de peso molecular. La flecha indica la muestra una ligera variación en el tamaño de bandas y corresponde a un carcinoma invasor de cuello uterino.

Tabla 1. Resultados del Papanicolau de los casos analizados.

Muestra N°	Edad	Informe	Muestra N°	Edad	Informe
1	24 años	Inflamatorio	36	20 años	Inflamatorio intenso, DIU, Actinomices y G. vaginalis
2	52 años	Inflamatorio	37	39 años	Inflamatorio
3	29 años	Inflamatorio	38	49 años	Muestra hipocelular
4	19 años	Inflamatorio	39	22 años	Cervicitis
5	56 años	Muestra hipocelular	40	26 años	Inflamatorio, candidiasis
6	24 años	Cervicitis	41	32 años	Células metaplásicas, cervicitis
7	44 años	Inflamatorio	42	23 años	Inflamatorio
8	28 años	Inflamatorio	46	40 años	Células metaplásicas activas, cervicitis
9	24 años	Inflamatorio	44	22 años	Inflamatorio intenso
10	20 años	Células metaplásicas y cervicitis	45	31 años	Inflamatorio
11	40 años	Hemorrágico (se sugiere repetir)	46	27 años	Inflamatorio
12	38 años	HPV más LIE de alto grado	47	52 años	Inflamatorio intenso
13	33 años	Inflamatorio	48	38 años	Células metaplásicas, inflamatorio
14	25 años	Inflamatorio	49	24 años	Inflamatorio, candidiasis
15	23 años	Inflamatorio	50	51 años	Inflamatorio
16	35 años	Células metaplásicas activas, descartar HPV	51	33 años	Cervicitis
17	26 años	Cervicitis (DIU, Cándida y Actinomices)	52	22 años	Células metaplásicas activas, descartar HPV
18	29 años	Cervicitis	53	48 años	Inflamatorio
19	36 años	Biopsia Carcinoma invasor	54	33 años	Cervicitis. Un año atrás, la paciente presentó HPV más LIE de alto grado, HPV Cepa no oncogénica
20	44 años	Cervicitis	55	21 años	Cervicitis
21	18 años	Inflamatorio intenso	56	53 años	Inflamatorio
22	22 años	Cervicitis	57	22 años	Inflamatorio
23	17 años	Inflamatorio	58	34 años	Inflamatorio intenso con trichomoniasis
24	45 años	Inflamatorio	59	21 años	Inflamatorio intenso
25	25 años	Inflamatorio	60	29 años	Cervicitis
26	33 años	Inflamatorio intenso	61	21 años	HPV más LIE de bajo grado (CIN I)
27	42 años	Inflamatorio	62	52 años	Inflamatorio
28	29 años	Clase indeterminada por trichomoniasis	63	44 años	Inflamatorio
29	31 años	Cervicitis	64	31 años	Inflamatorio
30	21 años	Inflamatorio	65	31 años	Inflamatorio
31	27 años	Inflamatorio	66	40 años	Inflamatorio intenso
32	25 años	Inflamatorio	67	43 años	Sin diagnóstico
33	24 años	Inflamatorio	68	34 años	Cervicitis
34	44 años	Inflamatorio intenso	69	39 años	Células metaplásicas, cervicitis
35	42 años	Células metaplásicas activas			

muestras de sangre con sus respectivas mucosas (Figuras 1 y 3). Únicamente para la muestra 19 se observó variación genotípica entre sangre y mucosa (Figura 2). Este producto de amplificación correspondió a una muestra de carcinoma invasor y se visualizó un aumento en el número de repeticiones.

Porcentaje de heterocigocidad y frecuencia alélica

Sobre un total de 69 casos estudiados, se obtuvo producto de amplificación a partir de matriz proveniente de sangre y de mucosa en 54 casos; de estos 36 fueron homocigotos (0,67) y 18 fueron heterocigotos (0,33).

Se realizó el cálculo de la frecuencia de los distintos alelos hallados en la población estudiada observándose con mayor frecuencia el alelo que presenta 12 unidades de repetición de 33 pb cada una. (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de alelos.

Alelo	Número de repeticiones	Frecuencia	Tamaño del producto (pb)
A1	13	0,19	488
A2	12	0,35	455
A3	11	0,19	422
A4	10	0,22	389
A5	9	0,03	356
A6	8	0,03	323

DISCUSIÓN

Este estudio busca establecer alguna relación entre la inestabilidad de la región minisatélite y los resultados de citología exfoliativa por esta razón se comparó el resultado de la amplificación de las muestras de genoma sanguíneo y de mucosa cervical para cada caso. Sin embargo, las muestras que presentaban lesiones intraepiteliales (LIE), tanto de alto como de bajo grado, lesiones metaplásicas o bien lesiones derivadas de la presencia del virus del papiloma humano (HPV) no presentaron variaciones genómicas. Únicamente se encontraron diferencias genotípicas en una muestra proveniente de una paciente con un carcinoma invasor. En este caso se denotó la pérdida de una repetición en el tamaño del minisatélite en la muestra 19 y podría ser debido a la inestabilidad genómica generada durante el proceso tumoral, que puede provocarse por una falla en los sistemas de reparación, favoreciendo la fijación de algunas mutaciones generadas por el *slippage* de la DNA polimerasa durante la replicación [20, 21]. No obstante, debería verificarse, analizando un mayor número de casos, la frecuencia de esta alteración en tumores avanzados, dado que podría tratarse de un evento tardío en la génesis del cáncer de cérvix uterino, tal como propone

Nishimura *et al.* [7] al analizar la inestabilidad de minisatélites y microsatélites en general, y en concordancia con lo observado en tumores de origen renal para la misma región minisatélite [12].

La pérdida de la heterocidocidad es otro acontecimiento que debe ser evaluado durante el desarrollo tumoral [9]. En este trabajo encontramos una frecuencia de heterocidocidad de 0,33, que difiere notablemente de la descripta por Bugert *et al.* [12], trabajando en una población europea germánica, y de los valores descriptos por Tajara *et al.* [22], trabajando en una población brasilera. También difieren las frecuencias y el número de repeticiones hallados en los diferentes alelos. Sin embargo, para el alelo correspondiente a 10 repeticiones, la frecuencia hallada (0,22) coincide con las publicadas por Bugert *et al.* [12] y Tajara *et al.* [22], de 0,20.

En este trabajo se observaron cambios genómicos en la región minisatélite 5q21 únicamente en tumores avanzados. Sin embargo, al no hallarse variaciones de este minisatélite en las muestras con lesiones premalignas, el análisis del perfil genético de esta región no sería de utilidad para el diagnóstico temprano de este tipo de lesiones, pero podría utilizarse como marcador de malignidad en tumores avanzados y aplicarlo a la caracterización de distintos subtipos histológicos de lesiones, precancerígenas o cancerígenas [4, 8, 10].

Debe destacarse que muchas muestras cervicales son hipocelulares, razón por la cual se hace conveniente obtener amplificación sin necesidad de mucha muestra. Esto pone de manifiesto la utilidad de las técnicas moleculares en algunos casos en los que se obtuvo un perfil de la región minisatélite 5q21/22, aunque no pudieron ser procesadas según la coloración de Papanicolaou.

CONCLUSIONES

El análisis genómico comparativo entre muestras de sangre y muestras de mucosa cervical para el minisatélite de 33 pb ubicado en 5q21 realizado reveló la presencia de una alteración compatible con la pérdida de una unidad de repetición en una muestra de carcinoma invasor de cuello uterino sin observarse cambios en muestras con lesiones premalignas.

La población analizada mostró una frecuencia de heterocidocidad de 0,33 siendo el alelo más frecuente el de 12 repeticiones, seguido de los de 10, 11 y 13 repeticiones.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de los profesionales y técnicos del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Público SAMIC, de la localidad de Leandro N. Alem.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Wistuba, I.; Thomas, B.; Behrens, C.; Oniki, N.; Lindberg, G.; Albores-Saavedra, J.; Gazdar, A.** Molecular abnormalities associated with endocrine tumors of the uterine cervix. *Gynecol. Oncol.* 72: p. 3–9. 1999.
- Luque, J.; Herráez, A.** *Biología Molecular e Ingeniería Genética.* Editorial Harcourt, Madrid. 2001.
- Cox, R.; Mirkin, M. S.** Characteristic enrichment of DNA repeats in different genomes; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:5237–5242. 1997.
- Debrauwere, H.; Gendrel, C. G.; Lechat, S.; Dutreix, M.** Differences and similarities between various tandem repeat sequences: minisatellites and microsatellite; *Biochem.* 79: p. 577–586. 1997.
- Jeffreys, A. J.; Wilson, V.; Thein, S. I.** Hypervariable minisatellite regions in human DNA; *Nature.* 314: p. 67–73. 1985.
- Bois, P.** Hypermutable minisatellites, a human affair? *Genomics* 81: p. 349–355, 2003.
- Nishimura, M.; Furumoto, H.; Kato, T.; Kamada, M.; Aono, T.** Microsatellite instability is a late event in the carcinogenesis of uterine cervical cancer; *Gynecol. Oncol.* 79: p. 201–206. 2000.
- Sakamoto, T.; Murase, T.; Urushibata, H.; Kato, K.; Takada, H.; Imamura, T.; Mori, H.; Wake, N.** Microsatellite instability and somatic mutations in endometrial carcinomas; *Gynecol. Oncol.* 71: p. 53–58. 1998.
- Miyai, K.; Furugen, Y.; Matsumoto, T.; Iwabuchi, K.; Hirose, S.; Kinoshita, K.; Fujii, H.** Loss of heterozygosity analysis in uterine cervical adenocarcinoma; *Gynecol. Oncol.* 94: p. 115–120. 2004.
- Tibiletti, M. G.; Furlan, D.; Taborelli, M.; Facco, C.; Riva, C.; Franchi, M.; Cossu, A.; Trubia, M.; Taramelli, R.; Capella, C.** Microsatellite instability in endometrial cancer: relation to histological subtypes; *Gynecol. Oncol.* 73: p. 247–252. 1999.
- Tsuda, H.; Takarabe, T.; Okada, S.; Uchida, H.; Kasamatsu, T.; Yamada, T., et al.** Different pattern of loss of heterozygosity among endocervical-type adenocarcinoma, endometrioid-type adenocarcinoma and adenoma malignum of the uterine cervix; *Int. J. Cancer.* 98: p. 713–717. 2002.
- Bugert, P.; Keneck, C.; Kovacs G.** A 33 pb minisatellite repeat upstream of the “mutated in colon cancer” gene at chromosome 5q21. *Electrophoresis* 19: p. 1362–1365. 1998.
- The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytological diagnosis;** *Hum. Pathol.*; 1990; 21: 704–708.
- Miller, S.A.; Dykes, D. D.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells; *Nuc. Ac. Res.*; 1988; vol 16, num. 3.

15. Ausubel, F. M.; Brent, R; Kingston R. E.; Moore, D. D.; Seidman, J. G.; Smith, J. A. Struhl, K.
Current Protocols in Molecular Biology. Boston, John Wiley & Sons, 1994–1997.

16. Howard Hughes Medical Institute and National Institutes of Health, National Human Genome Research Institute: http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi.

17. Sambrook & Russell

Molecular Cloning. A laboratory manual; NY, Cold Spring Harbor; 3rd ed. 2001.

18. Bassan, B. J.; Caetano-Anollés, G.

Silver staining of ADN in polyacrylamide gels; Appl Biochem Biotechnol; 1993; 42: 181–188.

19. Claros-Díaz, M.; Avila-Saez, C.

Bioquímica Aplicada; Septem Ediciones, España. 2001.

20. Varmus, H.

Genes and Biology of cancer; Scientific American Library; 1993.

21. Handt, O.; Sutherland, G. R.; Richards, R.

Fragile sites and microsatellite repeat instability; Mol. Genet. Metab. 70: p. 99–105. 2000

22. Tajara H.; Curi, P.

The chromosome 5q21 band minisatellite and head and neck cancer.; Cancer Gen Cytogen. 147: p. 87–88. 2003.

1- Cátedra de Biología Celular y Molecular (Bioquímica), Módulo de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, UNaM. Av. Mariano Moreno 1375 (3300). Posadas, Misiones, Argentina. bcmb@fceqyn.unam.edu.ar.

2- Servicio de Citología Exfoliativa, Hospital Público SAMIC Alem de Autogestión, L.N. Alem, Misiones, Argentina.

Recibido: 24/08/07.

Aprobado: 22/04/08.

• Ariel Cariaga Martínez¹

Bioquímico graduado en la UNaM y Doctorando en el programa Biomedicina de la Universidad de Alcalá de Henares (España). Condecorado con la medalla al mejor promedio de la Carrera de Bioquímica durante el año 2006. Beneficiado por becas de la Fundación Carolina y por la Comunidad de Castilla la Mancha. Actualmente JTP Ad-Honorem de la Cátedra de Biología Celular y Molecular (Bioquímica). Dirige trabajos de tesis de graduación y de becarios del CEDIT.

• Selva Rosiello²

Bioquímica graduada en la UNaM. Actualmente Profesional del Hospital de Gestión Pública SAMIC situado en la ciudad de Eldorado.

• Pedro D. Zapata¹

Es Doctor por la Universidad de Alcalá de Henares, en el programa Biomedicina. Actualmente Profesor Regular Adjunto en las Cátedras de Biología Celular y Molecular (Bioquímica), Genética Molecular (Lic. en Genética), Biología Celular (Lic. en Genética) y Biotecnología Molecular (Ingeniería Química, Bioquímica y Farmacia). Categoría III en el Sistema Nacional de Incentivos a los Docentes-Investigadores. En Biomedicina beneficiario de un subsidio de la ANPCyT (PICT 05-15058) y Director de proyectos acreditados en el CIDET.

(pdr_dario@yahoo.com).

AGENTES ETIOLÓGICOS EN LA INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA BAJA (IRAB). HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE POSADAS, MISIONES

Paulina Tagliaferri, Sandra L. Grenón, Martha H. von Specht, Federico Payés Monzón, Lidia S. Rambaldo

ETIOLOGICAL AGENTS OF THE LOWER ACUTE RESPIRATORY TRACT INFECTION (IRAB). PEDIATRIC HOSPITAL OF POSADAS, MISIONES

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the epidemiology of these infections in the hospital. A prospective and descriptive study was carried out for one year on children who were 1 to 36 months old, admitted with LARTI. Those from the ICU were not included. Upon admission, specimens were obtained: blood cultures, nasopharyngeal aspirates, pleural liquid and serum. A data questionnaire was completed which was loaded and statistically analysed with Epi Info 6.

Out of 196 children, 107 suffered from pneumonia, 68 from bronchiolitis, 16 from pleural effusion (PE), and 5 from pneumonitis. The Sincitial respiratory virus was the most predominant agent, followed by *Chlamydomphila pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* (found in patients of all ages). Co-infections with two and three agents, virus–bacteria and bacteria–bacteria were observed in 20% of the isolates, especially in pneumonias and PE. The distribution during the year was similar for all agents, which increased in winter.

KEY WORDS: Respiratory tract infections disease, children, co-infections.

RESUMEN

Para conocer la epidemiología de estas infecciones en el Hospital se realizó un estudio prospectivo y descriptivo durante un año. Se incluyeron niños de 1 a 36 meses internados con diagnóstico de IRAB, excepto internados en cuidados intensivos. Al ingreso se extrajeron: hemocultivos, aspirado nasofaríngeo, líquido pleural y suero. Se completó un protocolo de datos cuya carga y análisis se realizaron mediante EPI Info 6.

De 196 niños, 107 presentaron neumonías, 68 bronquiolitis, 16 supuraciones pleuro–pulmonares (SPP) y 5 neumonitis. La identificación de los agentes se logró en el 61% de los casos. El más frecuente fue Virus Sincicial Respiratorio, seguido de *Chlamydomphila pneumoniae*, los cuales junto a *Mycoplasma pneumoniae* se encontraron en todas las edades. Co-infecciones con dos y tres agentes, virus–bacteria y bacteria–bacteria se observaron 20% de los aislamientos, en neumonías y SPP. La distribución durante el año fue similar para los agentes, presentando todos un aumento en invierno.

PALABRAS CLAVE: infecciones respiratorias bajas, niños, co-infecciones.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB) son una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en todos los países. Aunque la extensión de las mismas es global, su impacto es diferente entre los países industrializados y los menos desarrollados. [1, 2].

En la región de las Américas se encuentran entre las primeras cinco causas de defunción de menores de cinco años siendo el primer motivo de muerte luego del período perinatal y representan el motivo principal de enfermedad y consulta a los servicios de salud. Se estima que el índice de consultas pediátricas por IRAB oscila entre el 30 al 60% y entre el 20 al 40% de las internaciones [3]. En nuestro país, en la década pasada, fallecieron 1041 niños afectados de IRAB, las cuales representaron el 5,6% de todas las defunciones en menores de 15 años y el 93.3% correspondieron a menores de 5 años [4]. La provincia de Misiones

y su capital no son una excepción, las neumonías, con y sin supuración y las bronquiolitis representan, en el Hospital Público de Pediatría de Posadas, el 20% del total de los egresos anuales y el 15% de las muertes hospitalarias [5].

El conocimiento de la etiología de las mismas para nuestro medio es aun limitado y el diagnóstico de laboratorio continúa presentando dificultades. El hecho de que un gran número de microorganismos pueda provocar el mismo cuadro clínico y que un mismo agente cause distintas enfermedades hace que, a partir del diagnóstico clínico, no sea posible inferir la etiología y sea necesario un correcto diagnóstico etiológico para permitir una mejor atención del paciente al disminuir el riesgo de secuelas y muerte. [2, 6, 7, 8].

El aislamiento de los agentes causales permite la elección de la mejor opción terapéutica, al disminuir la incertidumbre con la que se enfrenta el médico y posibilita la fragmentación por cohortes dentro de las instituciones dis-

minuyendo el riesgo de infección intra-hospitalaria. [9].

Con el objeto de conocer el perfil etiológico de las IRAB en nuestro Hospital, se encaró el presente trabajo.

POBLACIÓN MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y longitudinal. Se incluyeron a los niños que ingresaron a los servicios clínicos del Hospital Provincial de Pediatría de Posadas, Misiones, durante un año con diagnóstico de IRAB. No se incluyeron pacientes ingresados a Terapia Intensiva, por lo que el estudio refleja a aquellos con afectación moderada, que necesitaron internación en servicios de cuidados intermedios.

El criterio de selección incluyó pacientes de 1 mes a 3 años, con diagnóstico clínico y radiológico de neumonía, bronquiolitis, supuración pleuropulmonar (SPP) y neumonitis de tipo intersticial. Se excluyeron aquellos con infección intrahospitalaria, cuerpo extraño o asma.

Al ingreso se extrajeron muestras para diagnóstico etiológico a la totalidad de los pacientes y se completó protocolo elaborado a ese fin que contempló datos generales y diferentes variables de tipo clínico-epidemiológica. La carga de los mismos y su evaluación se efectuó en el programa EPI INFO versión 6.

Los pacientes fueron clasificados según las edades en: Grupo I: 1 mes de vida, Grupo II: 2-5 meses, Grupo III: de 6-11 meses, Grupo IV: 12-24 meses y Grupo V: 25-36 meses. El diagnóstico nutricional se estableció por la escala de Gómez. [10].

Para la investigación de agentes bacterianos se tomaron dos muestras de hemocultivos como mínimo por paciente, las cuales fueron inoculadas en frascos pediátricos multipropósito (Britania, Buenos Aires, Argentina) al 10% y en casos de existir signos de derrame, muestras de líquido pleural extraídas por punción, y procesadas según técnicas bacteriológicas convencionales. Las cepas aisladas fueron caracterizadas bioquímica y serológicamente. [11].

Para la búsqueda de agentes virales se obtuvieron aspirados nasofaríngeos (ANF) con sonda nasogástrica (K 33, K31 o K30) introducida a través de las fosas nasales hasta pared posterior de rinofaringe. El moco recolectado por aspiración con jeringas se colocó en tubos de ensayo y se procedió al lavado de la sonda con PBS pH 7,4. Los ANF fueron remitidos en frío al laboratorio y procesados inmediatamente o conservados a 4°C hasta 48 horas como máximo. La detección de antígenos de los virus Sincicial Respiratorio (RSV), Influenza A (FLU A), Influenza B (FLUB), Parainfluenza (PFLU (I, II, III)), y Adenovirus (ADV) se realizó por inmunofluorescencia indirecta (IFI) con anticuerpos monoclonales específicos y anti-especie.

Se tomaron muestras de suero que se congelaron hasta la detección de anticuerpos específicos de etapa aguda contra antígenos de *Chlamydomphila* y *Mycoplasma* a todos los pacientes.

La detección de anticuerpos de *Mycoplasma pneumoniae* (MYC) se llevó a cabo por la técnica de enzimoinmunoensayo por captura de IgM específica (Savyon Diagnostics LTD, Israel).

La detección de IgM específica contra antígeno de *Chlamydomphila pneumoniae* (CHLA) se realizó por IFI: Previamente se removieron las IgG y el factor reumatoideo humano de clase de IgM, por precipitación con el antisuero IgG/FR stripper (The Binding Site LTD, Inglaterra), se siguieron los procedimientos aconsejados por el fabricante. La muestra así procesada se agregó a las improntas (Fuller y Laboratories Fullerton, CA USA), que utilizan células Hep II infectadas con CHLA. Un título de IgM mayor 1/16 se consideró diagnóstico.

No se efectuaron estudios de tos ferina, tuberculosis, varicela, rubéola, difteria, micológicos ni parasitológicos.

Para el resto del estudio descriptivo, se consignaron las siguientes variables: sexo, edad, nutrición, días de estada, antecedentes de IRAB en el mes previo, enfermedades concomitantes y tipo de alta. Luego se compararon los grupos diagnósticos principales en búsqueda de patrones comunes asociados a la etiología única y múltiple.

RESULTADOS

De los 196 niños incluidos en este estudio: 107 presentaron neumonías (54,6%), 68 bronquiolitis (34,7%), 16 neumonías con derrame (8,2%) y 5 neumonías de tipo intersticial (2,6%).

Ingresaron 17 niños del grupo I (8,6%), 69 del II (34,2%), 51 del III (26%), 42 del IV (21,4%) y 14 del V (7,14%). La distribución de las edades conforme al diagnóstico se presenta en el Tabla 1.

Tabla 1. Diagnósticos de IRAB desagregada por edades. Hospital Público de Pediatría de Posadas (Niños Incluidos: 196).

	Bronquiolitis	Neumonías	Neumonitis	SPP	TOTAL NIÑOS
Grupo I	10 (14,1%)	7 (6,5%)			17 (8,6%)
Grupo II	49 (73,1%)	16 (14,9%)	1 (20%)	3 (16,7%)	69 (35,2%)
Grupo III	9 (12%)	37 (34,6%)	2 (40%)	5 (31,2%)	53 (27%)
Grupo IV		35 (32,7%)	1 (20%)	7 (43,7%)	43 (22%)
Grupo V		12 (11,2%)	1 (20%)	1 (6,4%)	14 (7,2%)
TOTALES	68	107	5	16	196

El estado nutricional mostró 135 niños eutróficos (68,8%), 33 desnutridos grado 1 (16,8%) y 21 niños con desnutrición de 2 y 3 grado (10,7%), no se registró el dato en 7 casos. El 30% de los niños con neumonía y SPP fueron desnutridos.

La internación en promedio fue de 5,5 días en bronquiolitis, neumonía y neumonitis y 11,6 días en SPP.

Si se exceptúa la desnutrición, el 91% de los pacientes no tenía enfermedad concomitante. En el 9% restante se encontraron las siguientes patologías de base: 8 bronquitis, 1 cuadro de bronquitis obstructiva recidivante, un niño con displasia broncopulmonar, uno con reflujo gastroesofágico

y cinco casos de cardiopatía congénita.

Un 15% de los niños con neumonía y 2 niños con bronquiolitis presentaron un cuadro similar, de tratamiento ambulatorio, dentro del mes previo a la internación.

En cuanto a la etiología, se hallaron 169 agentes en 119 pacientes. Se encontró 1 solo agente en 79 niños (66,3%), 2 agentes en 30 niños (25,2%) y 3 agentes en 10 niños (8,4%). La positividad global de todos los métodos utilizados fue 61%: 69% en neumonías y SPP, 62% en bronquiolitis y 40% en neumonitis.

La frecuencia de los microorganismos detectados y su distribución, conforme al grupo de edades de los pacientes, se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Agentes etiológicos en IRAB desagregada por edades Hospital Público de Pediatría de Posadas (Niños Incluidos: 196).

Agentes etiológicos	Grupo de edades					Total
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	
VSR	7	24	14	7	2	54 (32%)
CHLA	4	13	10	10		37 (22%)
MYC		5	7	12	1	25 (14,7%)
FLU	1	4	8	8	1	22 (13%)
SPN		2	5	8	2	17 (10%)
PFLU			3	2	1	6 (3,5%)
HIB		1	1	3		5 (3%)
ADV		1				1 (0,6%)
SAU		1				1 (0,6%)
ABA				1		1 (0,6%)
N° agentes aislados	12	51	48	51	7	169 (100%)
Pacientes sin aislamiento	5	28	23	13	7	77
Pacientes con aislamiento	12	41	31	29	7	119
N° pacientes totales	17	69	54	42	14	196

*Más de 1 agente etiológico en el 8,7% de los positivos.

Referencias: VSR: virus sincial respiratorio, CHLA: *Chlamydomphila pneumoniae*, MYC: *Mycoplasma pneumoniae*, FLU: influenza A y B, PFLU: parainfluenza, SPN: *Streptococcus pneumoniae*, HIB: *Haemophilus influenzae* tipo b, ADV: Adenovirus, SAU: *Staphylococcus aureus*, ABA: *Acinetobacter baumannii*.

En las Tablas 3 y 4 se muestran la distribución de los aislamientos únicos y múltiples según el diagnóstico.

Tabla 3: IRAB con 1 solo agente etiológico aislado, desagregado por diagnóstico. Hospital Público de Pediatría de Posadas. Año 1996 (Número de niños: 79).

Agentes aislados	Neumonía	Bronquiolitis	Neumonitis	SPP
VSR	16	21	1	
CHLA	9	8		
FLU	7	4		
SPN	3			2
MYC	2	2		
ABA	1			
ADV		1		
PFLU		1		
HIB				1

Referencias: VSR: virus sincial respiratorio, CHLA: *Chlamydomphila pneumoniae*, MYC: *Mycoplasma pneumoniae*, FLU: influenza A y B, PFLU: parainfluenza, SPN: *Streptococcus pneumoniae*, HIB: *Haemophilus influenzae* tipo b, ADV: Adenovirus, SAU: *Staphylococcus aureus*, ABA: *Acinetobacter baumannii*.

Tabla 4: IRAB con dos o más agentes aislados desagregados por diagnóstico. Hospital Público Provincial de Pediatría de Posadas, Año 1996 (Número de niños: 40).

Asociación	Neumonía	Bronquiolitis	Neumonitis	SPP
MYC-SPN-PFLU	1			
CHLA-MYC-VSR	5		1	
CHLA-MYC-FLU	2			
CHLA-MYC-SPN				1
CHLA-MYC	1			
CHLA-FLU	1			
CHLA-SPN	2			1
CHLA-VSR	3	3		
MYC-FLU	1			
MYC-HIB	1			
MYC-SPN	1			1
MYC-VSR	1	2		
MYC-PFLU	3			
SPN-FLU	1			3
SPN-PFLU	1			
HIB-VSR				1
HIB-FLU	2			
SAU-FLU				1

Referencias: VSR: virus sincial respiratorio, CHLA: *Chlamydomphila pneumoniae*, MYC: *Mycoplasma pneumoniae*, FLU: influenza A y B, PFLU: parainfluenza, SPN: *Streptococcus pneumoniae*, HIB: *Haemophilus influenzae* tipo b, ADV: adenovirus, SAU: *Staphylococcus aureus*.

En la Figura 1 se muestra la frecuencia de aparición de los agentes etiológicos según los meses del año.

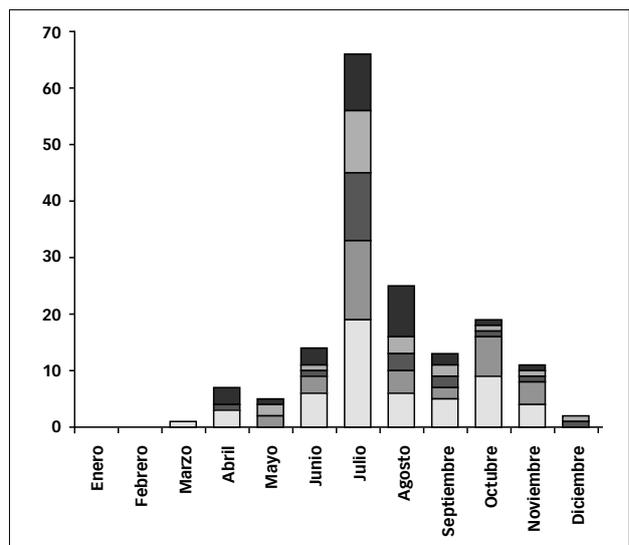


FIGURA 1. Distribución estacional de agentes etiológicos. (N° niños: 196 N° aislamientos: 169). Hospital Público Provincial de Pediatría Misiones.

Referencias: □ VSR: virus sincial respiratorio, ■ CHLA: *Chlamydomphila pneumoniae*, ■ MYC: *Mycoplasma pneumoniae*, ■ SPN/HIB/SAU: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Staphylococcus aureus*, ■ OTROS: FLU: influenza A y B, PFLU: parainfluenza, ADV: adenovirus, ABA: *Acinetobacter baumannii*.

Todos los niños fueron dados de alta menos un varón desnutrido de 1° de 5 meses de vida, con una bronquiolitis a VSR que murió a consecuencia de un fallo respiratorio agudo.

DISCUSIÓN

Como está reflejado en los datos expuestos, las IRAB se dieron en las edades referidas en la literatura, bronquiolitis

predominantemente en los menores de 6 meses, neumonías y SPP de los 6 meses hacia adelante, siendo los casos de neumonitis muy pocos como para poder realizar un análisis [9, 12]. El alto porcentaje de bronquiolitis en los niños menores podría corresponder a que la edad es uno de los factores que parecen influir en la expresión de la enfermedad. Al igual que otros reportes, las más severas se vieron en los más pequeños mientras que las infecciones en los mayores de 12 meses no requirieron internación. [8, 9].

Los días de estada y las enfermedades asociadas fueron las habitualmente descritas en este grupo etáreo y en cuadros de gravedad intermedia. [6]. Se observó como dato llamativo los antecedentes de cuadros de tipo neumónico y el alto porcentaje de desnutrición en neumonía y SPP. Esto coincide con la bibliografía que destaca que el estado nutricional es uno de los factores de riesgo para padecer estas patologías, facilitando la adquisición de dichas infecciones. [10, 13].

El porcentaje de positividad detectado, superior al informado por otros autores, nos muestra cómo se incrementa la posibilidad diagnóstica al pensar en agentes etiológicos no descritos como habituales y al combinar técnicas de identificación de los mismos [14]. Considerando que más del 70% de nuestra población era menor de 12 meses de edad, no fue sorprendente hallar que el agente etiológico predominante fuera el VSR responsable de la mayoría de las infecciones en bronquiolitis y neumonía. Este hecho concuerda con datos presentados por otros investigadores [1, 6, 12, 14, 15, 16, 17].

Los virus FLU A y B, que presentan variaciones antigénicas a intervalos regulares y producen epidemias anuales asociadas a un exceso de mortalidad, representaron en nuestro caso el cuarto agente etiológico y el segundo agente viral, concordando con lo reportado por otros autores [12, 18].

Llama la atención la asociación entre FLU, PFLU y agentes bacterianos en las etiologías de las neumonías, aunque algunos autores han señalado la infección viral como un factor que dificulta la depuración pulmonar de los patógenos y favorecen la infección bacteriana [19].

El ADV, que produce graves cuadros de neumonía y bronquiolitis tuvo una participación muy limitada durante el año en estudio.

En cuanto a los agentes bacterianos, como dato llamativo encontramos el predominio de *Chlamydomphila pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* en los niños menores de 3 años [13]. Estos han sido descritos como causa de IRAB en niños de mayor edad y ancianos, siendo la prevalencia de los anticuerpos baja durante la niñez. [20, 21, 22]. Sabemos que su valor como agentes etiológicos se dificulta dada la frecuencia de infecciones asintomáticas, aunque los datos disponibles muestran la prevalencia de dichas infecciones en niños de más edad [13].

En nuestro estudio los grupos I, II, III y IV tuvieron como segundo agente etiológico a *Chlamydomphila pneu-*

moniae. Es importante destacar que no hemos encontrado descripciones en la literatura que coloquen a este germen como causa de IRAB en niños tan pequeños. *Mycoplasma pneumoniae* se describe como causa de neumonía en niños de entre 5 y 15 años, siendo, según diversos autores, bajo el riesgo de enfermedad clínicamente aparente [21]; en los resultados obtenidos representó el 14,8% del total, demostrando que la edad de los pacientes con este microorganismo está por debajo de lo establecido clásicamente y que se distribuye en forma pareja en los grupos II, III, IV y V. En nuestro país, Weissenbacher y col lo encontraron en un 5,9% sobre 268 pacientes menores de 5 años [23].

Es interesante destacar que ambos gérmenes fueron aislados, cada uno por separado, en un 50% de los aislamientos múltiples, pero como agente único a *Chlamydia* se lo encontró en forma más frecuente que a *Mycoplasma*, 50% contra 5%.

Streptococcus pneumoniae representó el siguiente agente bacteriano, luego de los dos descritos anteriormente, siendo el germen más importante como productor de pus, como se puede observar en el alto aislamiento en SPP. Esto coincide con lo postulado por diversos autores que lo señalan como el principal agente etiológico bacteriano en neumonía de la comunidad [12, 24, 25, 26]. El resto de las bacterias representó un número muy pequeño de casos.

Otro dato que aparece es la alta incidencia de infecciones mixtas, virus-bacterias o bacterias-bacterias, que representaron el 20.4% de los aislamientos, viéndose 2 y 3 asociaciones de agentes. Las condiciones socioeconómicas desfavorables con el consiguiente hacinamiento en los hogares y la contaminación ambiental son factores que predisponen a sufrir IRAB, haciendo posible que el nivel de pobreza de la población hospitalaria justifique el hallazgo de estas coinfecciones. Los pocos casos que finalmente quedan en cada grupo, no nos ha permitido hacer un análisis que los diferencien, y así individualizar patrones de presentación, signo-sintomatología previa, tiempos de evolución, prediciendo en forma más precisa la etiología.

Por último, la distribución durante los meses del año ha sido similar para los agentes involucrados, presentando todos ellos un aumento importante durante los meses de invierno.

Es de conocimiento generalizado que en las zonas templadas y en el contexto de virosis en la comunidad, el FLU y el VSR predominan sobre las otras etiologías en los meses de invierno y primavera, aquí vemos que todos los agentes etiológicos están involucrados en estos casos en proporciones semejantes y que no es posible, en base a este dato epidemiológico, considerar la causa de dichos cuadros. [12].

Al no incluir este estudio a aquellos pacientes que han presentado las formas más graves de la enfermedad, el peso de los agentes etiológicos en la mortalidad no es evaluable por el mismo.

based on antibody responses to bacterial and viral antigens. *Pediatr Infect Dis.* 12 (sup 8): 886–898. 1990.

24. Juven, T.; Mertsolana, J.; Waris, M.; Leinonen, M.; Meurman, O.; Roivainen, M. *et al*.

Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 19: 293–298. 2000.

25. McCracken, G. H.

Etiology and treatment of pneumonia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 19: 373–377. 2000.

26. Nelson, J. D.

Community-acquired pneumonia in children. Guidelines for treatment. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 19: 251–253. 2000.

Ministerio de Salud Pública.

• Lidia S. Rambaldo^{1,2}

Bioquímica. Investigador Categoría IV. Se desempeña como J.T.P en la Cát. de Microbiología Gral de la Carrera de Bioquímica, FCEQyN. UNaM, en el Departamento de Microbiología. Participa como integrante de proyectos de investigación sobre antimicrobianos de origen vegetal en dicha institución.

1- Hospital Público Provincial de Pediatría, Misiones, Av. Mariano Moreno 110.

(ira_bacterio@yahoo.com.ar).

2- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Recibido: 14/06/06.

Aprobado: 04/10/07.

• Paulina Tagliaferri¹

Médica pediatra. Se desempeña como Jefa Sector Terapia Intermedia Servicio Terapia Intensiva Hospital Público “Dr. Fernando Barreyro”, Posadas, Misiones.

• Sandra L. Grenón^{1,2}

Bioquímica (UNaM-1987). Especialista en Microbiología Clínica (UNaM,). Profesor Adjunto en las Cátedras de Microbiología e Inmunología Carrera Bioquímica y Lic. en Genética, FCEQyN de la UNaM. Directora de tesinas de grado y post grado carrera de Especialización en Microbiología Clínica, Lic. en Genética, Bioquímica.

Investigador Categoría II (Programa Nacional de Incentivos). Directora de Proyectos de Investigación, Integrante de proyectos internacionales.

(sandralgrenon@yahoo.com.ar).

• Martha H. von Specht^{1,2}

Bioquímica (UNAM-1989), Especialista en Microbiología Clínica (UNAM-2000). Actualmente realizando la carrera de doctorado en Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

JTP en la Cátedra de Microbiología Carrera Farmacia; Docente de la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, FCEQyN de la UNaM, Directora de tesinas de post grado, carrera de Especialización en Microbiología Clínica y Trabajos finales de grado carrera de Bioquímica, cátedra Práctica Hospitalaria de la FCEQyN. Integrante comisión de Residuos Tóxicos y Peligrosos FCEQyN. UNaM.

Investigador Categoría III (Programa Nacional de Incentivos). Co-directora de Proyectos de Investigación; Integrante de proyectos internacionales.

• Federico Payés Monzón^{1,2}

Bioquímico. Especialista en Microbiología Clínica. Estudiante avanzado Maestría en Gestión en Salud. Auxiliar Docente en la Cát. de Inmunología de la Carrera de Bioquímica, FCEQyN–UNaM, en el Departamento de Microbiología. Se desempeña en el Laboratorio de Alimentos del Servicio de Saneamiento Ambiental,

Rev. Cienc. Technol.
Año 10 / N° 10a / 2008 / 24-29

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE *MYROCARPUS FRONDOSUS* FR. ALLEM SOBRE HONGOS AISLADOS DE YERBA MATE Y TÉ COMERCIALES

Gladis Jerke, Marta A. Horianski, Severino Bargardi, Karina A. Salvatierra, Fernando L. Kramer, Graciela B. Jordá, Lidia S. Amer, Adriana M. Guida.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF RAW EXTRACTS FROM *MYROCARPUS FRONDOSUS* FR. ALLEM ON FILAMENTOUS MOULDS

ABSTRACT

The inhibitory effect of raw extracts from *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem (incense tree) on the growth of *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* and *Penicillium citrinum* was investigated, in order to evaluate their potential use to control fungal and/or mycotoxin contamination in yerba mate and tea, cultivated in Misiones, Argentina. Raw extracts from de bark of incense tree were prepared by means of decoction, maceration and Soxhlet. The antifungal activity of extracts was evaluated by the growth inhibition method. The extracts were mixed, at 10% with Czapeck yeast agar (CYA). The fungal inoculation was made by central puncture and cultures were incubated at 25±2°C. Radial growth was measured every 48 h. The extracts obtained by decoction showed bioactivity against *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus niger*, the macerated extracts on *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium Chrysogenum*; and extracts obtained by Soxhlet against *Penicillium citrinum*.

KEY WORDS: Antifungal activity, *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem, raw extracts, *Aspergillus*, *Penicillium*, yerba mate, tea.

RESUMEN

Se investigó el efecto inhibitorio de extractos crudos de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem (incienso) sobre el crecimiento de *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium citrinum*; a fin de evaluar su empleo para controlar la contaminación fúngica y/o con micotoxinas de yerba mate y té, cultivados en Misiones, Argentina. Los extractos crudos de la corteza de incienso se prepararon mediante decocción, maceración y Soxhlet. Se empleó el método de inhibición de crecimiento para evaluar la actividad antifúngica de los extractos. Se mezclaron los extractos al 10% con agar Czapeck extracto de levadura, se realizó la inoculación fúngica por punción central y se incubaron 6 días a 25±2°C, registrando el crecimiento radial cada 48 h. Los extractos obtenidos por decocción mostraron mayor bioactividad frente a *Aspergillus niger* y *Aspergillus parasiticus*, los extractos macerados frente a *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium chrysogenum*; y los extractos obtenidos por Soxhlet, frente a *Penicillium citrinum*.

PALABRAS CLAVE: Actividad antifúngica, *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem, Extractos crudos, *Aspergillus*, *Penicillium*, yerba mate, té.

INTRODUCCIÓN

El cultivo, comercialización y exportación de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) y *Camellia sinensis* (té) son actividades agrícolas importantes para la provincia de Misiones, Argentina y que aportan ingresos económicos cuantiosos a la economía local [1, 2]. La yerba mate y el té son productos ampliamente consumidos por los habitantes de nuestra región geográfica.

Myrocarpus frondosus Fr. Allem es una especie propia de Brasil, Paraguay y nordeste de la Argentina que crece naturalmente en forma silvestre en las provincias de Misiones y norte de Corrientes [3]. Es un árbol de madera resinosa, que constituye una de las especies arbóreas proveedoras de maderas preciadas en la región, siendo, un representante valioso de la flora forestal nativa [3, 4]. Debido a sus propiedades y el aroma de su madera esta planta ha recibido

diversos nombres, en especial la denominación de “incienso” o “bálsamo”, porque al hacer incisiones en la corteza surge una resina aromática. Esta es utilizada popularmente como desinfectante y cicatrizante en aplicaciones locales sobre heridas, úlceras, contusiones, mordeduras de víboras y picaduras de insectos [4].

En estudios anteriores se encontró que la contaminación fúngica es más importante que la bacteriana en yerba mate y té, tanto en las etapas de su elaboración como en el producto terminado [5, 6, 7]. Se caracterizaron los hongos responsables de la contaminación fúngica, encontrando un predominio de cepas del género *Aspergillus*, con una elevada incidencia de cepas de *Aspergillus niger*, tanto en yerba mate [8] como en té negro [5, 6]. Además, se han aislado hongos micotoxigénicos en yerba mate [8, 9] y té [5, 10, 11] que han demostrado su capacidad para sintetizar aflatoxinas “in vitro” [11]. Al tratarse de productos consumidos

con frecuencia diaria, la posible presencia de micotoxinas en los mismos reviste un riesgo potencial para la salud de la población [12, 13].

Actualmente no disponemos de métodos efectivos y prácticos para el control fúngico en productos vegetales, como yerba mate y té; salvo el empleo de medidas preventivas como monitorizar la temperatura y la humedad durante el almacenamiento de los mismos [14]. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue investigar el efecto antifúngico de extractos crudos de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem sobre el crecimiento de cepas de *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium citrinum* a fin de evaluar su empleo para controlar la contaminación fúngica en productos regionales de amplio consumo, como lo son la yerba mate y el té negro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Corteza de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem.

Muestreo

El muestreo se realizó en diferentes épocas del año coincidente con etapas de crecimiento, floración y fructificación, a partir de árboles desarrollados en bosques abiertos, que se encuentran alejados de centros urbanos y carreteras. Se recolectó la corteza de incienso mediante un muestreo al azar en Colonia Aurora, Provincia de Misiones, Argentina. La corteza se extrajo en grandes trozos con machete, a partir del tronco del árbol seleccionado, teniendo la precaución de que estos no se encontrasen con infección microbiana o con algún tipo de daño visible. Todas se tomaron en horas del mediodía y se colocaron en bolsas de plástico para su transporte al laboratorio, donde fueron sometidas a un proceso de secado que se realizó en dos etapas. Primero se dejó secar a temperatura ambiente aproximadamente 20 días y luego se continuó en estufa a 40°C hasta secado completo, en total, 75 días. Una vez seca la corteza, se cortó en pedazos más pequeños mediante un hacha luego se molieron utilizándose un molino a cuchillas tipo Viley con lo que se obtuvo un polvo entre 30 a 60 mesh.

Extractos crudos

A partir de la corteza de incienso se prepararon los extractos crudos a distintas concentraciones mediante los métodos de decocción, maceración y Soxhlet.

Decocción: se preparó al 10% (ED10). Se pesaron 10 g de muestra en polvo y se llevaron a ebullición con 100 ml de agua mineral durante 20 minutos, una vez frío se filtró y recogió en frascos de vidrio estériles color caramelo.

Maceración: se prepararon los extractos de corteza a dos concentraciones, una al 20% (EM20) para la que se pesaron 30 g de muestra en polvo y se adicionaron 150 ml de metanol (Biopack) y otra al 10% (EM10) para la que

se tomaron 30 g de muestra en polvo y se adicionaron 300 ml del mismo solvente. Después de la homogeneización se dejó a temperatura ambiente por 72 h. La solución metanólica fue filtrada recogiendo en frascos de vidrio estériles color caramelo.

Soxhlet: se preparó al 5% (ES5) y al 10% (ES10) pesándose 5 g y 10 g de muestra en polvo, añadiendo 100 ml de metanol a cada uno, se homogeneizó y se dejó a temperatura ambiente por 12 h. Luego se realizó la extracción por el método de Soxhlet a 60–70°C en 6 sifonadas y el producto obtenido se recogió en frascos de vidrio estériles color caramelo.

Una vez preparados los extractos crudos se realizaron los controles de esterilidad de los mismos, para ello, se sembró una alícuota en agar Czapeck extracto de levaduras (CYA, Oxoid) y se incubó por 72 h a 25±2°C.

Cepas fúngicas

Se trabajó con las especies de hongos *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium citrinum* aisladas de muestras comerciales de yerba mate y té, obtenidos de góndolas en comercios de Posadas, Misiones. Para la preparación del inóculo cada especie fúngica fue cultivada en pico de flauta con agar papa dextrosa (PDA, Oxoid), a 25±2°C por 7 días. Luego se preparó una suspensión madre de agregando a cada tubo 10 ml de solución salina (0,85%) con 0,1% de Tween 80 (Polisorbato 80, Sigma), para prevenir la aglomeración y la rápida precipitación de las conidias [14, 15]. Las soluciones conteniendo las conidias fueron recogidas en frascos de vidrio estériles color caramelo. Se realizó su recuento en cámara de Neubauer expresando la concentración en mililitro, a esto denominamos concentración madre de conidias (SMC). A partir de la SMC se preparó la suspensión de trabajo, ajustando la concentración de conidias a 1x10⁶ UFC/ml con solución salina [15].

Ensayo de bioactividad

La actividad antifúngica se evaluó por el método de inhibición de crecimiento en placa [15]. Los extractos se mezclaron con agar CYA, en una relación de 1:10 en placas de Petri. Una vez solidificado se colocaron en estufa a 48–50°C por 24 horas para la evaporación del solvente. Se prepararon simultáneamente, placas de agar CYA con el agregado de metanol en la misma relación que los extractos, para control del solvente y placas de agar CYA para cada cepa fúngica, con el objeto de realizar el control de crecimiento o viabilidad de las cepas de hongos en estudio. Se trabajó por triplicado para cada extracto. Posteriormente se inocularon las cepas, a partir de la suspensión de trabajo, por punción central en las placas de Petri preparadas, utilizando un ansa aguja de 1 milímetro de diámetro y se incubaron por 6 días a 25±2°C. Las placas fueron evaluadas cada 48 h, midiéndose el crecimiento radial en milímetros. Las lecturas obtenidas a las 144 h (6 días) se compararon

con el control de solvente para los extractos metanólicos mientras que los extractos acuosos se cotejaron con el control de cepas correspondiente. Se calcularon los porcentajes de inhibición del crecimiento (PIC) para cada cepa frente al extracto, mediante la fórmula 1 [15]:

$$PIC (\%) = \frac{(VCS - VCE)}{VCS} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

VCS: Valor del diámetro de Crecimiento de la colonia fúngica en el control de Solvente en milímetros.

VCE: Valor del diámetro de Crecimiento de la colonia fúngica frente al Extracto ensayado en milímetros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar el comportamiento de cada cepa fúngica durante todo el periodo de ensayo, se realizaron las gráficas del crecimiento radial de las colonias en milímetros en función del tiempo en horas (Figuras 1–4). Los porcentajes de inhibición del crecimiento para cada género frente a los extractos ensayados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de Inhibición del crecimiento de las cepas fúngicas frente a los extractos crudos de corteza de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem.

Extractos Crudos	Géneros fúngicos			
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
ED10	40%	15%	5%	7%
EM10	33%	Ai	40%	33%
EM20	17%	17%	80%	Ai
ES5	Ai	Ai	Ai	73%
ES10	Ai	Ai	Ai	53%

ED10= Extracto obtenido por decocción en agua al 10%, EM10= Extracto obtenido por maceración en metanol al 10%, EM20= Extracto obtenido por maceración en metanol al 20%, ES5= Extracto obtenido por Soxhlet al 5%, ES10= Extracto obtenido por Soxhlet al 10%, Ai= Ausencia de inhibición de crecimiento.

Aspergillus parasiticus mostró mayor sensibilidad frente a los extractos acuosos (Figura 1.B, Tabla 1), mientras que con los extractos metanólicos obtenidos por maceración se observó menor efecto inhibitorio y se observó un efecto estimulante del crecimiento con el extracto Soxhlet al 5% (Figura 1.A).

Aspergillus niger presentó inhibición de crecimiento frente a los extractos metanólicos obtenidos por maceración al 20% (Figura 2.A, Tabla 1), y frente a los extractos acuosos (Figura 2.B). Los demás extractos ensayados no presentaron actividad inhibitoria frente a esta cepa.

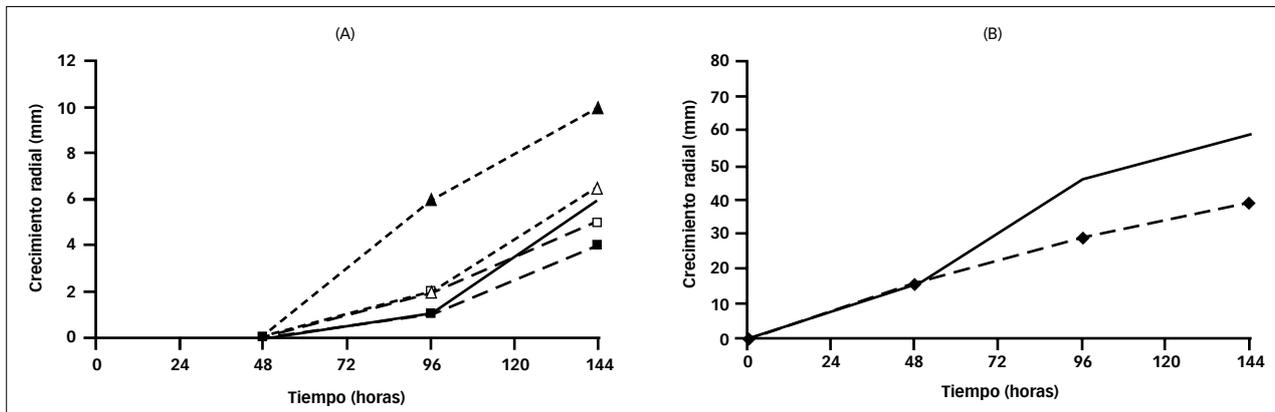


FIGURA 1. Comportamiento de *Aspergillus parasiticus* A) frente a los extractos metanólicos y B) frente a los extractos acuosos. Referencias: A) — Testigo, —■— Maceración al 10% (EM10), --△-- Soxhlet al 10% (ES10) --★-- Soxhlet al 5% (ES5), —□— Maceración al 20% (EM20). B) — Testigo, --◆-- Extracto acuoso (ED10).

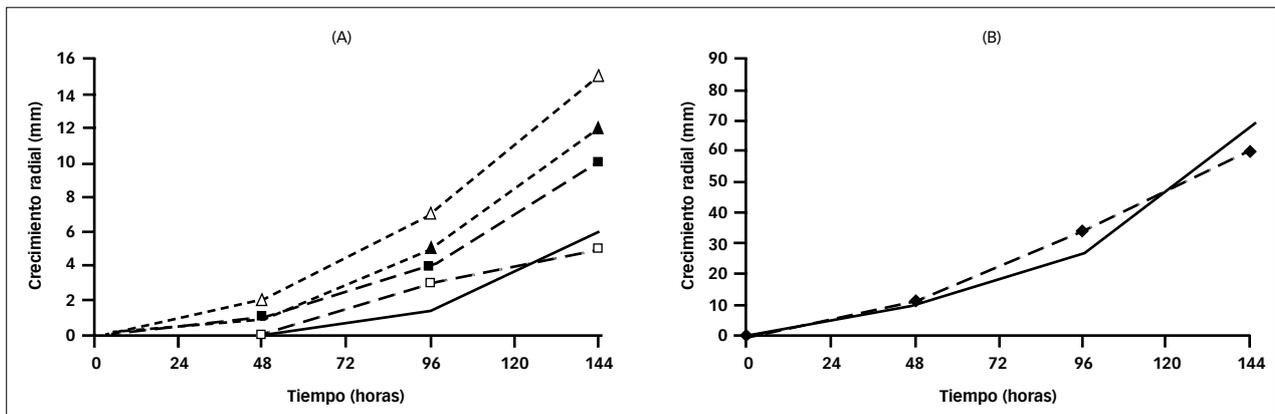


FIGURA 2. Comportamiento de *Aspergillus niger* A) frente a los extractos metanólicos y B) frente a los extractos acuosos. Referencias: A) — Testigo, —■— Maceración al 10% (EM10), --△-- Soxhlet al 10% (ES10) --★-- Soxhlet al 5% (ES5), —□— Maceración al 20% (EM20). B) — Testigo, --◆-- Extracto acuoso (ED10).

Penicillium chrysogenum presentó una importante inhibición de crecimiento frente a los extractos obtenidos por maceración (Figura 3.A, Tabla 1) y leve efecto inhibitorio frente al extracto acuoso (Figura 3.B).

Penicillium citrinum fue inhibido en mayor medida por los extractos obtenidos por Soxhlet y con el extracto macerado al 10% (Figura 4.A, Tabla 1). El extracto acuoso presentó una leve bioactividad frente a esta cepa (Figura 4.B).

En general, las cepas del género *Penicillium* se mostraron más sensibles frente a los extractos metanólicos y las del género *Aspergillus* frente a los acuosos (Tabla 1).

Penicillium chrysogenum y *Aspergillus parasiticus* se comportaron de manera semejante frente al método de extracción por maceración, mientras que mostraron comportamientos opuestos frente a las dos concentraciones de los extractos (Tabla 1).

Penicillium citrinum fue la cepa más sensible frente a los extractos ensayados, no obstante, no mostró inhibición frente al extracto más concentrado. La mayor bioactividad frente a esta cepa se obtuvo con el extracto de menor concentración obtenido por Soxhlet. Este mismo comportamiento se observó con *Aspergillus parasiticus* que fue más sensible frente al extracto de menor concentración obtenido por maceración (Tabla 1). Para estas cepas la

variación de la inhibición estaría en función del método y de la inversa de la concentración, como se observó con los extractos por maceración metanólica al 10 y 20% (EM10–EM20) y los extractos obtenidos por Soxhlet al 5 y 10% (ES5–ES10). Esto nos estaría indicando que posiblemente exista una relación de equivalencia entre el inóculo y el principio activo del extracto, razón por la cual deberían ensayarse varias concentraciones de un mismo extracto, obtenidas con un solo método y un mismo solvente, a fin de detectar la concentración inhibitoria óptima del mismo.

Aspergillus niger fue la cepa que mostró menor sensibilidad en comparación con las demás cepas ensayadas (Tabla 1). No obstante, presentó una mayor susceptibilidad frente al extracto acuoso que las cepas de *Penicillium*.

Al evaluar los métodos empleados en la preparación de los extractos observamos que los obtenidos por decocción mostraron efecto inhibitorio frente a todas las cepas ensayadas mientras que los obtenidos por soxhlet solo presentaron bioactividad frente a *Penicillium citrinum*. Los extractos preparados por maceración presentaron efectos variables (Tabla 1).

Este trabajo forma parte de otro mucho más amplio que estudia la actividad antibacteriana y antifúngica de plantas

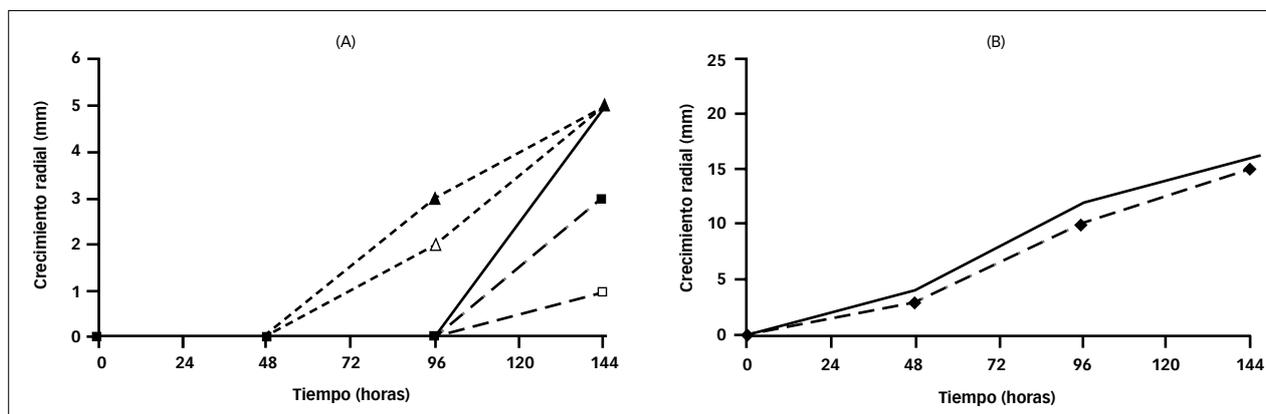


FIGURA 3. Comportamiento de *Penicillium chrysogenum* A) frente a los extractos metanólicos y B) frente a los extractos acuosos. Referencias: A) — Testigo, —■— Maceración al 10% (EM10), --△-- Soxhlet al 10% (ES10) --▲-- Soxhlet al 5% (ES5), —□— Maceración al 20% (EM20). B) — Testigo, --◆-- Extracto acuoso (ED10).

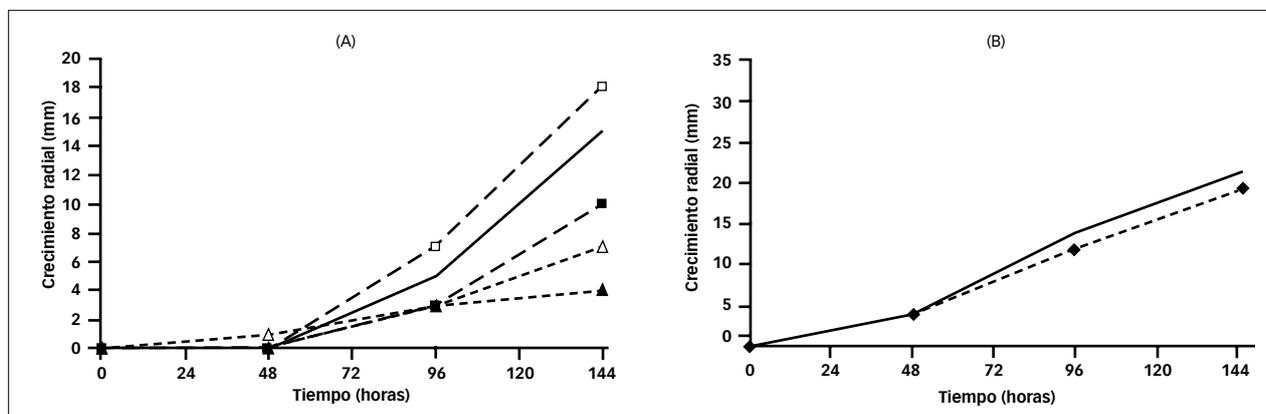


FIGURA 4. Comportamiento de *Penicillium citrinum* A) frente a los extractos metanólicos y B) frente a los extractos acuosos. Referencias: A) — Testigo, —■— Maceración al 10% (EM10), --△-- Soxhlet al 10% (ES10) --▲-- Soxhlet al 5% (ES5), —□— Maceración al 20% (EM20). B) — Testigo, --◆-- Extracto acuoso (ED10).

regionales autóctonas con el objeto de encontrar tratamientos alternativos más económicos para diversas afecciones microbianas [16, 17].

Si bien existen numerosas referencias bibliográficas en la búsqueda de principios activos antimicrobianos [18] y en plantas autóctonas de Argentina [19], no existen antecedentes del estudio de la bioactividad de *Myrocarpus frondosus* Fr. Allem. Este es el primer trabajo en relación a esta planta.

Hasta el presente existen pocas referencias bibliográficas en relación al empleo de extractos crudos de plantas para controlar la contaminación fúngica en alimentos vegetales que involucran un periodo de estacionamiento durante su elaboración o previo a su envasado y/o comercialización [15]. Este es el primer trabajo con relación a yerba mate y té. Ambos productos son sometidos a un proceso térmico durante su elaboración seguida de una etapa de almacenamiento [1,2], durante la cual toma mayor importancia la contaminación fúngica y eventual producción de micotoxinas.

En yerba mate y té comercializados se encontró una importante contaminación fúngica, siendo *Aspergillus* el género más frecuentemente aislado, encontrándose en el 80% de las muestras, con una incidencia de 90% de contaminación con *Aspergillus niger* [15]. Esta cepa presentó menor inhibición frente a los extractos ensayados en comparación con las demás cepas estudiadas. No obstante, mostró sensibilidad frente al extracto acuoso que fue el único que mostró bioactividad frente a las cuatro cepas fúngicas ensayadas. Esto podría indicar que el principio antifúngico de interés es hidrosoluble y termoestable lo cual podría ser de mucha utilidad, dado que la decocción es el método menos costoso y más inocuo para ser empleado en el control de contaminación fúngica de productos vegetales como yerba mate y té.

CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos podemos observar una importante variación en el grado de inhibición del crecimiento de los hongos en estudio, dependiendo del método empleado, el solvente utilizado y la concentración del extracto crudo ensayado.

Por tal motivo se recomienda seguir esta línea de investigación, siendo necesario profundizar el estudio, acotando variables, métodos, concentraciones, etc. ya que es de suma importancia encontrar nuevas fuentes de control fúngico en yerba mate y té, que sean inocuas tanto para el hombre como para el ambiente.

Además, el reconocimiento de las propiedades medicinales de una determinada planta regional o la posibilidad de su empleo para controlar la contaminación fúngica, podría implicar su cultivo, acopio y comercialización que traería aparejado una fuente de ingresos a la provincia y empleo para la población local.

AGRADECIMIENTO

Al Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CI-DET) de la Universidad Nacional de Misiones por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo del proyecto 16Q243, dentro del cual se llevó a cabo el presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Bernardi, L. A.

Yerba mate. Análisis de Cadena alimentaria. Sector infusiones de la Dirección Nacional de Alimentación. Dirección de Industria alimentaria. Cerro Azul, Misiones. Argentina. <http://www.alimentosargentinos.com.ar/infusiones/yerbamate.2002>.

2. De Bernardi, L. A.; Prat Kricun, S. D.

Té "*Camellia sinensis*" Análisis de Cadena Alimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Dirección Nacional de Alimentación. Dirección de Industria Alimentaria. Cadenas alimentarias. Sección Infusiones. Cerro Azul, Misiones. Argentina. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/infusion/Te_Camelia_04.2004.

3. Sawchuk, B.; Galeno, H.

Descripción de árboles medicinales de la selva misionera: *Myrocarpus frondosus*. Editorial GTZ; 1: p. 76-77.1981.

4. Gonzales Torres, D.

Catálogo de plantas medicinales y alimenticias usados en Paraguay. Asunción.; p. 192-193.1992.

5. Jerke, G.

Microbiota del té (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) en las distintas etapas de su procesamiento y expendio. Tesis de maestría en Tecnología de los alimentos. Universidad Nacional de Misiones. Argentina. 2005.

6. Jerke, G; Marucci, R. S. y Knass, P. S.

Micoflora de té (*Camellia sinensis*) elaborado y comercializado en Misiones, Argentina. La alimentación latinoamericana. 237: p. 62-67. 2001.

7. Jerke, G; Salvatierra, K. A.; Tonelotto, M. E.; Maceri, L.

A.; Juárez, M. G.; Bargardi, S.; Medvedeff, M. G.

Microbiología del té (*Camellia sinensis*) durante su procesamiento y expendio. Actas del Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los alimentos. 1° ed. Córdoba. Argentina. Categoría 3: Inocuidad y Microbiología de los alimentos N° 67: Agencia Córdoba Ciencia. 1 CD ROM. ISBN 987-98379-7-5. 2004.

8. Jerke, G.; Medvedeff, M. G.

Incidencia de hongos potencialmente micotoxigénicos en yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire). Actas del IX Congreso Argentino de Micología. Resistencia. Chaco. Argentina. TOX 99. 2002.

9. Tonon, S. A.; Marucci, R. S.

Flora fúngica contaminante de yerba mate estacionada. Presencia de hongos productores de aflatoxinas. La Ali-

mentación Latinoamericana; 206: p. 23–32. 1995.

10. Jerke, G.; Marucci, R. S.; Tonón, S. A.; Fontana, H.; Ipucha C.

Hongos aflatoxigénicos en té (*Camellia sinensis*) durante su procesamiento a escala industrial. Actas del III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Córdoba. Argentina. ECO 11: 47. 2000.

11. Jerke, G.; Horianski, M. A.; Bargardi, S.; Salvatierra, K. A.; Cubilla, M.

Aislamiento de Hongos productores de aflatoxinas en yerba mate y té. Actas de III Jornadas de Investigación Científico Tecnológicas Universidad Nacional de Misiones. Argentina. 2005.

12. Abarca, M. L.; Bragulat, M. R.; Castellá, G.; Accenci, F.; Cabañes, F. J.

Hongos productores de micotoxinas emergentes. Rev. Iberoam. Micol; 17: p. S63–S68. 2000.

13. Sanchis, V.; Marín, S.; Ramos, J. A.

Control de Micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. Ver. Iberoam. Micol; 17: p. S69–S75. 2000.

14. Pitt, J. L.; Hocking, A. D.

Fungi and Food spoilage. 2º Ed. London–Wienheim–New York–Tokyo–Melbourne–Madras: Blackie Academic & Professional. 1997.

15. Martín, T. M.; Cortéz, M.; López, S. S.; Corrales, M. C.

Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *A. flavus*, *A. niger*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *F. moniliforme* y *F. poae*. Rev. Iberoam. Micol.; 19: p. 85–86. 2002.

16. Bargardi, S.; Kramer, F. L.; Medvedeff, M. G.; Jorda, G.; Guida, A. H.

Actividad antibacteriana de *Peschiera australis* (Müell) Miers sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Rev. Cienc. Tecnol; 4: p. 6–11. 2001.

17. De Battista, G.; Guida, A. H.; Bargardi, S.

Estudio Fitoquímico y actividad antibacteriana de *Polypodium punctatum* Elliot. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas; 35(3): p. 11–14. 2004.

18. Cowan, M. M.

Plant products as antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews; 12(4): p. 564–582. 1999.

19. Alonso, J.; Desmarchelier, C.

Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en Atención primaria de la Salud. Edit. LOLA. 2005.

Prof. Tit. Microbiología (Bioquímica, Farmacia, Nutrición) Fac. Medicina. Encarnación (Paraguay). Integrante proyectos de investigación relacionados con el tema. Directora en proy. de Investigación y extensión en micología y micotoxinas.

• Marta Horianski.

Bioquímica. Magíster en Tecnología de Alimentos. Investigador categoría V. Docente de Microbiología e Inmunología (Lic. en Genética) en la Fac. Cs. Ex. Qcas. y Nat. de Univ. Nac. Misiones. Integrante proyectos de investigación “Acción biológica de plantas medicinales regionales” y “Preservación de mandioca por tecnología de obstáculos”. Directora de área temática en el Proyecto de investigación y de extensión en el área de Micología y micotoxinas en alimentos”.

• Severino Bargardi

Bioquímico, Farmacéutico. Mgter. en Microbiología Clínica (Fac. de Medicina. Univ. de Sevilla. España). Investigador Categoría II. Ex Docente- Investigador Prof. Titular semi exclusiva y exclusiva en Microbiología Inmunología. C. de Bioquímica. FCEQyN (UNaM), en las Cátedras de Microbiología, Virología (C. Bioquímica) y Microbiología e Inmunología (C. Licenciatura en Genética). FCEQyN - UNaM.

Ex integrante, Ex codirector y Ex Director de proyectos de investigación relacionados con virología, bacteriología, vigilancia epidemiológica de enterobacterias y vibrión, acción biológica de extractos vegetales de plantas medicinales.

• Karina Salvatierra

Bioquímica. Auxiliar docente en cátedras de microbiología, virología (Bioquímica) de la Universidad Nacional de Misiones. Participante en proyectos de investigación en microbiología clínica y de alimentos (micología y micotoxinas) y Virología clínica.

• Lidia Amer.

Bioquímica. Investigador Categoría IV. Se desempeña como Jefe de Trabajos Prácticos en las Cát. de Microbiología Gral. de la Carrera de Bioquímica en la FCEQyN. Univ. Nac. de Misiones. Participa como integrante de proyectos de investigación sobre antimicrobianos de origen vegetal.

• Adriana M. Guida.

Bioquímica. Especialista en Microbiología Clínica. Investigador Categoría IV. Se desempeña como J.T. Prácticos en las Cát. de Microbiología Gral y Virología de la C. de Bioquímica en la FCEQyN. UNaM. Participa como integrante de proyectos de investigación sobre antimicrobianos de origen vegetal, y de herpes virus.

• Fernando Luis Kramer.

Ing. Químico. Categoría III en el prog. de incentivos. Se desempeña como Prof. Adjunto de las Cátedras de Farmacotecnia I y II de la C. de Farmacia, de la UNaM. Posee amplia experiencia en su disciplina. Realizó numerosos cursos sobre su especialidad y de postgrado. Co-director de distintos proyectos sobre “acción biológica de extractos vegetales de plantas misioneras”.

Universidad Nacional de Misiones. Módulo de Bioquímica y Farmacia. Cátedra de Microbiología e Inmunología. Mariano Moreno 1375 (3300). Posadas, Misiones, Argentina. Tel. Fax: 3752-435118. (diskega@fceqyn.unam.edu.ar o diskega@yahoo.com.ar).

Recibido: 07/04/06.

Aprobado: 19/06/08.

• Gladis Jerke

Bioquímica. Magíster en Tecnología de Alimentos. Investigador categoría IV. JTP en las cátedras de Microbiología e Inmunología (Licenciatura en Genética), Microbiología (Farmacia). Prof. Adj. Catedra Higiene y Sanidad (Farmacia) en la FCEQyN. (UNaM).

Rev. Cienc. Technol.
Año 10 / N° 10a / 2008 / 30-33

NUEVAS LOCALIDADES PARA *BIOMPHALARIA TENAGOPHILA* (GASTEROPODA, PLANORBIDAE) EN LA PROVINCIA DE MISIONES, ARGENTINA

R. E. Stetson.

NEW LOCATIONS FOR *BIOMPHALARIA TENAGOPHILA* (GASTEROPODA, PLANORBIDAE) IN MISIONES PROVINCE, ARGENTINA

ABSTRACT

Biomphalaria tenagophila d'Orgigny, 1832 planorbid snail is a potential intermediary host of *Schistosoma mansoni*. To carry out an appropriate epidemiological surveillance of Schistosomiasis in the Province, updated information about snail populations distribution is required. For such purpose, since 1981, the Ministry of Public Health of the Misiones carried out periodic samplings in different freshwater habitats to detect *B. tenagophila* populations.

KEY WORDS: *Biomphalaria tenagophila*, distribution, Misiones, Argentina.

RESUMEN

Biomphalaria tenagophila es uno de los caracoles planorbídeos que pueden actuar como huésped intermediario del *Schistosoma mansoni*. Motivo por el cual y a los efectos de llevar a cabo una adecuada vigilancia epidemiológica de la Esquistosomiasis en el área provincial, se requiere contar con información actualizada de la distribución de las poblaciones de estos caracoles. A tal efecto el Ministerio de Salud Pública de la Provincia viene realizando muestreos periódicos en distintos cuerpos de agua desde el año 1981.

PALABRAS CLAVES: *Biomphalaria tenagophila*, distribución, Misiones, Argentina.

INTRODUCCIÓN

La esquistosomiasis es una helmintiasis que afecta a 200 millones de habitantes en el mundo, siendo de este modo la parasitosis que ocupa el segundo lugar luego de la Malaria.

Si bien no es una epidemia propia de nuestro país existe en Brasil [1, 2, 3, 4] y el foco más próximo estaría a 17 kilómetros de Puerto Iguazú.

Conociendo la existencia en la provincia de moluscos que actúan como huéspedes intermediarios en otras partes de Sudamérica, el Programa de Investigación de la Esquistosomiasis del Ministerio de Salud Pública viene realizando estudios desde el año 1981 en la Provincia de Misiones, con el objeto de conocer las especies de *Biomphalaria* sp. que puedan servir de huéspedes intermediarios del *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 y determinar su ubicación geográfica.

Luego de más de 10 años de inactividad, el programa retomó sus investigaciones, con la firma de un convenio con la Entidad Binacional Yacyretá 1997.

Los estudios realizados hasta la fecha permitieron constatar que la única especie que podría servir de huésped intermediario para *Schistosoma mansoni*, es *B. tenagophila* y que en un periodo de 22 años se han encontrado nuevas localidades para esta especie.

Con los datos obtenidos se elaboró un mapa actualizado de la distribución provincial, que permite el control

permanente de las mismas, a los efectos de la vigilancia epidemiológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de trabajo consistió en salidas a campo en un área comprendida entre las localidades de Posadas y Puerto Iguazú, sobre la cuenca del Río Paraná y Apóstoles y San Javier sobre el Río Uruguay.

Se realizaron muestreos de arroyos y distintos cuerpos de agua, que presentaron condiciones ecológicas adecuadas para el desarrollo de moluscos gasterópodos del Género *Biomphalaria*.

La colecta se realizó con coladores de malla metálica de 30 cm de diámetro con mango de plástico de un metro de longitud, de 2 mm de apertura, con el mismo se revisó el fondo hasta los 10 cm. de profundidad y la vegetación palustre, sumergida y flotante, hasta un metro desde la orilla.

Los moluscos colectados fueron acondicionados en recipientes plásticos con papel de filtro humedecido y transportados al laboratorio de Malacología del Programa de Esquistosomiasis, donde se procedió a la identificación de los mismos de acuerdo a la metodología descripta [5, 6, 7, 8, 9].

Los trabajos de campo se desarrollaron con salidas bimestrales, previo análisis cartográfico para la selección de los sitios de estudio.

En cada sitio de estudio se llenó una planilla en la que se registró la profundidad, el tipo de margen, la profundidad media, tamaño del cuerpo de agua, y de vegetación, temperatura ambiente, del agua y el pH.

Con los datos obtenidos se elaboró un mapa actualizado de la distribución de los moluscos de interés, que permitirá conocer la dinámica poblacional y realizar la vigilancia epidemiológica, analizando la posible infestación con larvas cercarias de *Schistosoma mansoni*.

Los datos logrados permitieron reconocer la presencia de una de las tres especies de interés sanitario como huésped intermediario de la *Schistosoma mansoni* en América del Sur y el Caribe, *Biomphalaria tenagophila*, vector de la esquistosomiasis en Brasil.

Del análisis del material colectado desde 1997 hasta el 2002 se pudo obtener dos tipos de información:

1. Sitios donde se confirmó la presencia de *Biomphalaria tenagophila*, Mapa 1.
2. Listado de sitios donde también se pudo reconocer otras especies de moluscos que compartían el hábitat con *B. tenagophila*, Tabla 1.

Según una publicación [10], *B. tenagophila* había sido encontrada en tres sitios en los Departamentos: Capital, Candelaria y Libertador General San Martín, ahora se amplió a quince ubicados en los departamentos de Eldorado, Iguazú, sobre la cuenca del Río Paraná, Apóstoles y San Javier en la cuenca del Uruguay.

Otros gasterópodos encontrados en los trabajos de campo pertenecen a las familias Ampullaridae, Cochiopidae, Ancyliidae, Planorbidae, Thiariidae, Lymnaeidae y Physidae.

La información obtenida es parcial ya que falta conocer la malacofauna de interés sanitario en el resto de la provincia, fundamentalmente las zonas limítrofes con Brasil.



FIGURA 1. Sitios donde se han encontrado *B. tenagophila*. Referencias: 1) Destacamento Prefectura en Nemesio Parma en el Dep. Capital; 2) Lagunas y Zanjones de la costa del Río Paraná en Posadas Dep. Capital; 3) A° Zaimán en el Dep. Capital; 4) A° Garupá en el Dep. Capital; 5) Arroyito Destacamento de Prefectura Candelaria; 6) A° San Juan en el Dep. Candelaria; 7) Laguna del Puerto de Santa Ana en el Dep. Candelaria; 8) A° Tabay en el Dep. Libertador Gral. San Martín. 9) Represa Cueva Mini próximo A° Piray Mini, en el Dep. Eldorado. 10) Lago de la Represa Uruguái en el Dep. Iguazú. 11) Laguna Salvinia Dep. San Javier; 12) Laguna Staquievik Dep. San Javier; 13) Laguna Itacaruaré Dep. San Javier; 14) Laguna Chaikouski Dep. Apóstoles; 15) Laguna Tarnousky Dep. Apóstoles.

Tabla 1: Presencia de *Biomphalaria tenagophila* y otros moluscos en la provincia de Misiones.

Tipo de moluscos	Sitio N° 4 A° Garupá	Sitio N° 6 A° S. Juan	Sitio N° 7 Puerto S. Ana	Sitio N° 8 A° Tabay
Clase: Gastropoda				
Subclase: Orthogastropoda Ponder & Linderberg, 1996				
Orden: Pulmonata Cuvier, 1814				
Familia: Planorbidae Rafinesque, 1815				
<i>Biomphalaria tenagophila</i> (d'Orbigny, 1835)	*	*	*	*
<i>Biomphalaria intermedia</i> (Paraense & Deslandes, 1962)	*	*	*	*
<i>Drepanotrema lucidum</i> (Pfeiffer, 1839)	*		*	*
<i>Drepanotrema heloicum</i> (d'Orbigny, 1835)	*		*	*
Familia: Lymnaeidae Rafinesque, 1815				
<i>Pseudosuccinea columella</i> (Say, 1817)	*			
Familia: Physidae Fitzinger, 1833				
<i>Aplexa (Stenophysa) marmorata</i> (Guilding, 1828)	*			*
Familia: Ancyliidae Rafinesque, 1815				
<i>Hebetancyclus moricandi</i> (d'Orbigny, 1837)	*			
<i>Uncancyclus concentricus</i> (d'Orbigny, 1835)	*	*		
Orden: Architaenioglossa Haller, 1890				
Familia: Ampullaridae Gray, 1824				
<i>Pomella (Pomella) americanista</i> (Ihering, 1919)		*		*
Clase: Bivalvia				
Subclase: Heterodonta Neumayr, 1884				
Orden: Veneroidea H. & A. Adams, 1856				
Familia: Corbiculidae Gray, 1847				
<i>Cobicula fluminea</i> (Müller, 1774)	*			

CONCLUSIÓN

La presencia de *Biomphalaria tenagophila* en el área provincial la convierte en una zona de riesgo para la radicación de un foco autóctono de esquistosomiasis. Esto se magnifica con el flujo de inmigrantes brasileños, que pueden venir infestados de las áreas endémicas del Brasil.

Se suma a ello el lago de la Represa Yacyretá que al embalsar los arroyos, crea un ambiente ecológico propicio para el desarrollo de poblaciones de este tipo de moluscos.

Teniendo en cuenta lo antes dicho, los Departamentos con mayor riesgo hasta la fecha son los de Apóstoles y San Javier, debido a la proximidad con Brasil.

Se hace necesario, completar el mapa malacológico en los Departamentos Concepción, 25 de Mayo, Guaraní, San Pedro y Manuel Belgrano y realizar una vigilancia permanente de los moluscos y de las personas provenientes de áreas epidémicas del país limítrofe, a los efectos de proceder adecuadamente e impedir la radicación o la proliferación de la parasitosis en la Provincia.

Los sitios más vulnerable para la radicación de un foco endémico autóctono de esquistosomiasis, sobre la cuenca del Río Paraná en la provincia es el Balneario Salto Tabay, ubicado en el Departamento: Libertador General San Martín, debido a que constituye un balneario con amplia afluencia humana y un área natural (modificada), que contiene inclusive una población aborigen con baja recursos sanitarios y una mastofauna que podría servir de reservorio del *Schistosoma mansoni* en caso de una infestación del área. Cabe destacar que si bien el balneario cuenta con sanitarios debidamente instalados los mismos suelen estar clausurados en temporadas bajas y que los pescadores y asistentes ocasionales suelen defecar a campo abierto en proximidades a los cuerpos de agua. Además el sitio señalado es visitado por conductores que provienen de lado brasileño y que pueden vehicular cargas parasitarias y contaminar el medio, como ocurriera en el último foco establecido en el Estado de Paraná (Brasil).

CONSIDERACIONES BIOLÓGICAS

La presencia de *Biomphalaria tenagophila* estuvo asociada frecuentemente a las raíces de camalote (*Eichornia rassipes*) y en algunas ocasiones a otras especies palustres.

La profundidad del agua no fue un obstáculo para el encuentro de poblaciones ya que existían plantas flotantes que las albergaran.

Hasta la fecha no se encontraron especímenes infestados con *Schistosoma mansoni*, sí con otros tipos de cercarias del tipo Xiphidiocercaria (cercarias con cola simple y con estilete) [11].

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Personal Técnico del Programa de Investigación de la Esquistosomiasis en la Provincia de Misiones que colaboró con el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barreto, M. P.

Movimentos migratorios e sua importância na epidemiologia de doenças parasitárias no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1: 91–102. 1967.

2. Barreto, M. L.

Geographical and socioeconomic factors relating to the distribution of *Schistosoma mansoni* infection in an urban area of north-east Brazil. Bull WHO 69: 93–102. 1991.

3. Carvalho, O. S.; Rocha, R. S; Massara, C. L.

1988. Primeiros casos autóctones de esquistosomose mansoni em região do noroeste do estado de Minas Gerais. Rev. Saúde Públ 22: 237–239.

4. Marques, A. C.

Migrações internas e as grandes endemias. Rev. Brasil Malariol D Trop. 31: 137–158. 1979.

5. Paraense, W. L.

Biomphalaria occidentalis sp. N. from South America (Molusca Basommatophora Pulmonada). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 76(2): 199–211, abr/jun. 1981.

6. Castellanos, Z.; Landoni, N. A.

1981. Molusca Gasteropoda, Limneidae. En: Ringuelet, R. A. (ed) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina. FECIC, Buenos Aires, 15(5), pp. 53–82.

7. Fernández, D.

1981. Molusca Gasteropoda, Physidae. En: Ringuelet, R. A. (ed) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina. FECIC, Buenos Aires, 15(5), pp. 85–92.

8. Fernández, D.

1981. Molusca Gasteropoda, Ancyliidae. En: Ringuelet, R. A. (ed) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina. FECIC, Buenos Aires, 15(7), pp. 99–114.

9. Castellanos, Zulma A.

1991. Molusca Gasteropoda, Planorbidae. En Castellano Z. (ed) Fauna de Agua Dulce de la República Argentina. FECIC, Buenos Aires, 15(8), pp. 1–51.

10. Rumi, A.

La familia Planorbidae (Rafinisque, 1815) en la República Argentina. Fauna de agua dulce de la Rep. Arg. Vol. 15, Fac. 8, La Plata, Rep. Arg. p. 1–51. 1991.

11. Ostrowski, M.

Trematoda. Familias: Strigeidae, Diplostómidae, Clinostomidae, Schistosomátidae, Spirorchidae y Bucephalidae. Faun. de agua dulce de la Rep. Arg. Vol. 9, Fac. 1, La Plata, Rep. Arg. p. 1–55. 1992.

Recibido: 01/03/04.

Aprobado: 17/04/08.

• Roberto E. Stetson.

Profesor en Biología. Titular SemiExc FCEQyN de la UNaM.

Licenciado en genética (UNaM), Mgter. en Educación Psico-Informática, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2001.

Dirección Proyectos Investigación. Jefe del Programa de Investigación de la Esquistosomiasis, Jefe del Programa de Estudio de los Animales Venenosos de la Provincia de Misiones, Jefe del Programa de Monitoreo Ambiental, todo dependiente de la Dirección de Saneamiento Ambiental del Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

Cátedra de Biología Animal, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Félix de Azara 1552, C.P. 3300, Posadas, Misiones, Argentina. Teléfono Fax: 03752-422186.

E-mail: stetson@fceqyn.unam.edu.ar.

Programa Animales Venenosos, Ministerio de Salud Pública de Misiones. Hospital Baliña, Ruta 12 S/Nº. C.P. 3300, Posadas, Misiones, Argentina. Teléfono: 03752-458284.

E-mail: msp_investigaciones@msp.misiones.gov.ar.

ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MEDIOS SELECTIVOS PARA LA RECUPERACIÓN DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN EMBARAZADAS

Marina Quiroga, Oscar Álvarez, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Esteban Pereyra, Marta Vergara.

COMPARATIVE STUDY OF TWO SELECTIVE MEDIA IN THE RECOVERY OF *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* IN PREGNANT WOMEN

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the performance of two selective media in the recovery of *Streptococcus agalactiae* (GBS) isolated from anorectum and vaginal introitus swabs of pregnant women between 35 and 37 weeks gestation.

The swabs were cultured in selective Todd Hewitt broth containing colistin (10 µg/ml) and nalidixic acid (15 µg/ml) (TH-CoNa) and Todd Hewitt broth containing colistin (10 µg/ml) and gentamicin (8 µg/ml) (TH-GeNa), following conventional methods.

A total of 16 (5.88%) strains of GBS were isolated from 272 patients. Of those, 16/16 (100%) were recovered on TH-CoNa and only 2/16 (12.5%) on TH-GeNa.

Based on these findings, TH-GeNa should not be considered an acceptable alternative to TH-CoNa for the detection of GBS colonization in pregnant women.

KEY WORDS: *Streptococcus agalactiae*, selective media, pregnant women.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el comportamiento de dos medios selectivos en la recuperación de *Streptococcus agalactiae* (SGB) de hisopados anorectales e introito vaginales obtenidos de embarazadas entre la 35 a 37 semanas de gestación.

Los hisopados fueron cultivados según métodos convencionales en caldo selectivo Todd Hewitt conteniendo colistina (10 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml) (TH-CoNa) y caldo selectivo Todd Hewitt conteniendo colistina (10 µg/ml) y gentamicina (8 µg/ml) (TH-GeNa).

Dieciséis (5,88%) cepas de SGB fueron aisladas de 272 pacientes. El 16/16 (100%) de las cepas fueron recuperadas de TH-CoNa, y solo el 2/16 (12,5%) de TH-GeNa.

Basado en estos hallazgos, el TH-GeNa no debería ser considerado una alternativa aceptable para detectar la colonización por SGB en mujeres embarazadas.

PALABRAS CLAVE: *Streptococcus agalactiae*, medios selectivos, embarazadas.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus agalactiae emerge como patógeno neonatal en los años 70 y desde entonces representa la causa principal de infección bacteriana del recién nacido en países desarrollados [1].

SGB forma parte de la flora normal del tracto gastrointestinal desde donde en forma intermitente puede colonizar el área perianal y la vagina [2]. Esta colonización del tracto genital es un hecho importante, en especial en las gestantes, por la posibilidad de transmisión al recién nacido [2].

Este microorganismo es el principal agente etiológico de la sepsis neonatal precoz y está implicado en la producción de complicaciones obstétricas como la ruptura prematura de membrana, parto pretérmino, corioamnionitis, endometritis, infección de herida quirúrgica postcesárea,

infección urinaria, sepsis puerperal, entre otras [1, 2, 3, 4]. La infección precoz se asocia en un 90% de los casos con la colonización materna por SGB, con factores de riesgo perinatales y con la ausencia de anticuerpos contra el mismo [2, 5].

Debido a la importancia de SGB como patógeno en neonatos y gestantes, desde 1996 se recomendó realizar cultivos de tamizaje (screening) en las embarazadas entre las semanas 35-37 de gestación, tanto de la región vaginal como ano rectal y el uso de medios de cultivo adecuados. El uso de medios selectivos mejora la recuperación de SGB de muestras provenientes del tracto vaginal y ano rectal, al inhibir la flora acompañante [5].

Sin las medidas de prevención, el 50% de los recién nacidos de madres portadoras de SGB son colonizados al momento del nacimiento, desarrollando el 1-2% una infección

clínica en las primeras horas de vida o aun después de los 7 días posteriores. Las infecciones clínicas como neumonías, sepsis o meningitis se presentan en un 25% de los nacidos pretérmino con una mortalidad cercana al 10%. La mitad de los recién nacidos que sobreviven desarrollan secuelas como alteraciones visuales, auditivas e incluso mentales [1, 2, 6]. Con la aplicación de las medidas de prevención, la incidencia de esta infección y la mortalidad asociada se han reducido sensiblemente [2].

La tasa de colonización para SGB en gestantes presenta variaciones según el área geográfica [2, 5, 7]. Diversos autores [3, 6, 8, 9] postulan que estas diferencias dependen no solo de la población en estudio (grupo étnico, edad, área geográfica, etc.) sino también de los medios y técnicas de cultivo utilizados y de las áreas anatómicas de las que se toma la muestra.

Entre los medios de cultivo selectivos recomendados para el procesamiento de muestras genito-rectales de mujeres embarazadas se encuentran el caldo Todd Hewitt suplementado con colistina (10 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml) (TH-CoNa) y el caldo Todd Hewitt suplementado con gentamicina (8 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml) (TH-GeNa) [10].

En el año 2005, un laboratorio nacional (Laboratorios Britania) inició el desarrollo de estos medios de cultivos selectivos para su posterior comercialización, solicitando su ensayo a la Cátedra de Bacteriología de la FCEQyN, entre otros grupos, con el fin de evaluar el rendimiento de los mismos.

A partir de dicha solicitud, se establecieron como objetivos de este trabajo, comparar la sensibilidad para la recuperación del SGB de los dos medios de cultivo selectivos experimentales, TH-CoNa y TH-GeNa, a partir de muestras provenientes de gestantes entre 35 y 37 semanas de gestación y a partir de cepas salvajes que forman parte de la colección de la Cátedra de Bacteriología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio a partir de muestras clínicas

Desde junio del 2005 a marzo del 2006 se estudiaron 272 muestras de mujeres embarazadas, entre las 35–37 semanas de gestación que concurrían a sus controles obstétricos en el Hospital Ramón Madariaga, Periférico 17 y Policlínico Víctor Reck de Posadas, Hospital de área de Aristóbulo del Valle y Hogar Belén de Garupá.

Se obtuvieron hisopados del introito vaginal (sin utilización de espéculo) y ano rectal. Los hisopos obtenidos se colocaron en medio de transporte Cary Blair hasta su procesamiento en el laboratorio de la Cátedra de Bacteriología de la FCEQyN.

Las muestras se sembraron en caldo Todd Hewitt suplementado con colistina (10 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml) (TH-CoNa) y paralelamente en caldo Todd Hewitt suplementado con gentamicina (8 µg/ml) y ácido nalidixico

(15 µg/ml) (TH-GeNa).

Luego de 18 a 24 horas incubación a 37°C en aerobiosis, los caldos se transfirieron a placas de agar base Columbia suplementado con 5% de sangre humana (AS) con posterior incubación en microaerofilia a 37°C por 24 horas.

Las colonias beta o gamma hemolíticas compatibles con SGB se identificaron mediante pruebas bioquímicas convencionales: catalasa, pirrolidonil-amino-peptidasa, bilis esculina, hidrólisis de hipurato y prueba de CAMP. La confirmación serológica de los aislamientos se realizó mediante técnicas de aglutinación con partículas de látex (Phadebact *Streptococcus* test).

Estudio cuantitativo de cepas de colección

Se procedió a estudiar 22 cepas de SGB seleccionadas al azar, y conservadas en agar blando (caldo nutritivo más 7/000 de agar-agar).

A fin de corroborar su pureza y viabilidad, las cepas se recuperaron en placas de AS, las que se incubaron durante 24 hs a 37°C en microaerofilia.

A partir de cultivos de 24 horas se realizaron suspensiones, hasta alcanzar una concentración equivalente al 0,5 de Mac Farland, en caldo TH-CoNa y TH-GeNa de cada una de las cepas a estudiar. Los caldos se incubaron en estufa a 37°C en aerobiosis durante 24 horas.

Posteriormente se realizó una dilución 1/10000 y se procedió a la siembra de 3 µl de cada uno de los caldos en placas de AS, con una incubación posterior en microaerofilia a 37°C por 24 horas.

RESULTADOS

En 16 de las 272 muestras de hisopados genito-rectales se detectó SGB.

El medio TH-CoNa permitió la recuperación de 16/16 (100%) de los aislamientos, mientras que en el medio TH-GeNa solo se recuperaron 2/16 (12,5%) de los mismos.

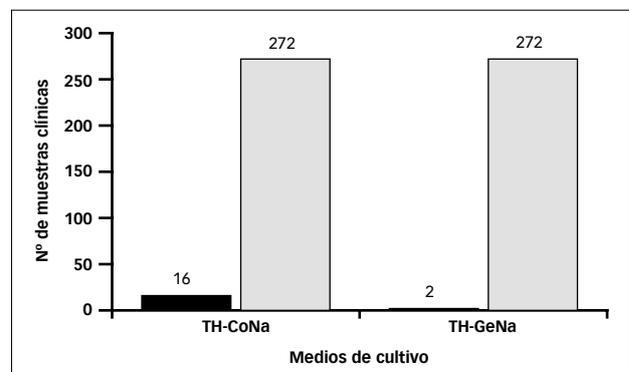


FIGURA 1. Frecuencia de aislamiento de *Streptococcus agalactiae* según medio de cultivo utilizado.

Referencias: TH-CoNa: caldo Todd Hewitt suplementado con colistina (10 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml), TH-GeNa: caldo Todd Hewitt suplementado con gentamicina (8 µg/ml) y ácido nalidixico (15 µg/ml), ■ Muestras positivas, □ Total de muestras clínicas.

Por lo que, con el medio TH-CoNa la frecuencia de colonización detectada fue del 5,88%, mientras que no superó el 0,74% en el medio TH-GeNa. (Figura 1).

Todas las cepas de colección de SGB sembradas en el medio TH-CoNa desarrollaron en AS con recuentos entre 10^7 – 10^9 UFC/ml (datos no mostrados), no así en el medio TH-GeNa, a partir del cual ninguna de las cepas mostraron desarrollo en AS.

DISCUSIÓN

La importancia de la pesquisa de SGB en mujeres embarazadas radica en la posibilidad de prevenir la infección del recién nacido. Su reconocimiento permite la instauración de la profilaxis intraparto (PIP) y de este modo interrumpir la transmisión vertical reduciendo su incidencia (6).

Los estudios de prevalencia de SGB en embarazadas muestran tasas variables de portación, dependiendo de la población estudiada, la ubicación geográfica, la región anatómica de obtención de la muestra (vaginal y/o anal) y el medio de cultivo utilizado (selectivo o no selectivo) [3].

Se han propuesto varios medios de cultivo selectivos para la identificación de SGB, mostrando cada uno distintos rendimientos según el área geográfica en donde se realizó su búsqueda [2, 3, 5, 6]. En ellos se agregan diferentes mezclas antibióticas con el objetivo de inhibir la flora acompañante presente en las muestras genito-rectales, siendo los antibióticos más utilizados gentamicina, colistina, ampicacina y ácido nalidíxico, entre otros.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el TH-CoNa es el que mejor se comporta como medio selectivo para la recuperación de SGB de muestras genito-rectales. Esta mejora en la detección de SGB permitiría administrar la PIP a un 87,5% más de gestantes que no se hubieran considerado portadoras de SGB de emplearse el medio TH-GeNa.

Si bien en trabajos realizados en España [11] y Chile [3] se propone la utilización del TH-GeNa como el medio de cultivo selectivo indicado para la recuperación del SGB, estudios realizados por autores de nuestro país [6] sugieren que la concentración de gentamicina (8 µg/ml) sería inhibitoria para muchas cepas de SGB.

La controversia respecto al uso de gentamicina en medios selectivos para la recuperación de SGB ya ha sido previamente planteada [12, 13, 14, 15, 16]. Nuestros resultados soportan la posición de Gray y colaboradores [12], quienes basados en estudios realizados con gran cantidad de cepas, claramente contraindican el uso de gentamicina en medios selectivos de enriquecimiento para la recuperación de SGB.

El análisis realizado a partir de las cepas de colección también mostró una marcada diferencia entre los dos medios de cultivo utilizados, sugiriendo que el número de organismos presentes en las muestras genito-rectales no

sería un efecto limitante para la recuperación de SGB, sino que la recuperación estaría relacionada con la sensibilidad de cada cepa a los antimicrobianos contenidos en el medio de cultivo. Estos resultados coinciden con lo observado en diversos estudios [17, 18, 19], donde SGB muestra diferencias en la sensibilidad a gentamicina en distintas poblaciones.

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio muestra que en nuestra área geográfica, el caldo TH-CoNa es el medio de cultivo selectivo con mejor rendimiento para la recuperación de SGB a partir de muestras genito-rectales de embarazadas y que dicho rendimiento no estaría relacionado con el número de organismos presentes en las muestras, sino con la sensibilidad de cada cepa a los antimicrobianos contenidos en el medio de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. de Cueto, M; de la Rosa, M.

Prevención de la infección neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Un tema consolidado. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21(4):171–173, 2003.

2. Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO). Sociedad Española de Neonatología (SEN). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Sociedad Española de Quimioterapia (SEQ). Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria (SEMFYC). Prevención de la infección perinatal por *Streptococcus* del grupo B. Recomendaciones españolas revisadas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21(8):417–423, 2003.

3. Valdés, E.; Pastene, C.; Morales, A.; Gutiérrez, B.;

Canales, A.; Martínez, P.; Juárez, G.; Caballero, R.

Prevalencia de colonización por *Streptococcus agalactiae* (Grupo B) durante el embarazo pesquisado en medio de cultivo selectivo. *Rev Chil Obstet Ginecol* 69(2): 132–135, 2004.

4. Hernáiz, C.; Antón, N.; Alós, J.; Orden, B.; Orellana, M.;

Colombina, J.; Redondo, J. y Gómez-Garcés, J.

Significado clínico del aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de orina de pacientes de centros de salud. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22(2): 89–91, 2004.

5. Crespo Ortiz, M.; Vélez, J.

Importancia clínica del *Streptococcus agalactiae* como causante de infección. *Colombia Médica* 27:53–58, 1996.

6. García, S.; Cora, Eliseth M.; Lazzo, M.; Copolillo, E.;

Barata, A.; de Torres, R.; Vay, C.; Famiglietti, A.

Portación de estreptococo grupo B en mujeres embarazadas. *Rev. Arg. Microbiol.* 35:183–187, 2003.

7. Abarzúa, F.; Zajer, C.; Guzmán, A. M.; Beldar, C.; Beker, J.; Rioseco, O.; Oyarzún, E.

Determinación de la portación de *Streptococcus agalactiae* (Grupo B) en embarazadas durante el tercer trimestre mediante inmunoensayo. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 67(4): 293–295, 2002.

8. Nizet, V.; Craig, R.

Factores de virulencia de Streptococcus grupo B con importancia en infecciones neonatales. Asociación Argentina de Microbiología, Boletín N° 14. Enero, 2000.

9. Hansen, S. M.; Sorensen, U. B.

Method for quantitative detection and presumptive identification of group B streptococci on primary plating *J Clin Microbiol.* 41(4): 1399–1403, 2003.

10. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. A public health perspective. *MMWR* 45: 1–24, 1996.

11. Bosch, J.; Murillo, S.; Rico, M.; Salgado, M.

Utilidad de un medio selectivo disco–caldo para la detección de *Streptococcus* del grupo B en la vagina. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 16(2): 83–84, 1998.

12. Gray, B. M.; Pass, M. A.; Dillon, H. C. Jr.

Laboratory and field evaluation of selective media for isolation of group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 9 (4): 466–470, 1979.

13. Dunne, W. M.; Holland–Staley, C. A.

Comparison of NNA agar culture and selective broth culture for detection of group B streptococcal colonization in women. *J. Clin. Microbiol.* 36 (8): 2298–2300, 1998.

14. Fenton, L. J.; Harper, M. H.

Evaluation of colistin and nalidixic acid in Todd–Hewitt broth for selective isolation of group B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 9 (2): 167–169, 1979.

15. Persson, K. M.; Forsgren, A.

Antimicrobial susceptibility of group B streptococci. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 5 (2): 165–166, 1986.

16. Persson, K. M.; Forsgren, A.

Evaluation of culture methods for isolation of group B streptococci. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 6 (2): 175–177, 1987.

17. González, J. J.; Andreu, A.

Grupo de Estudio de Infección Perinatal. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Sensibilidad a antimicrobianos del *Streptococcus* del grupo B de transmisión vertical. Estudio multicéntrico. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22 (5): 286–291, 2004.

18. Betriu, C.; Gómez, M.; Sánchez, A.; Cruceyra, A.;

Romero, J.; Picazo, J. J.

Antibiotic resistance and penicillin tolerance in clinical isolates of group B streptococci. *Antimicrob. Agents Chemother* 38 (9): 2183–2186, 1994.

19. Berkowitz, K.; Regan, J. A.; Greenberg, E.

Antibiotic resistance patterns of group B streptococci in pregnant women. *J. Clin. Microbiol.* 28 (1): 5–7, 1990.

Recibido: 30/08/06.

Aprobado: 14/12/07.

• Marina Quiroga¹

Bioquímica; Especialista en Microbiología Clínica; Doctora de la Universidad de Buenos Aires, área Microbiología; Profesora Adjunta Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría III Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

(miquiroga@fceqyn.unam.edu.ar,

marinaquiroya@fceqyn.unam.edu.ar).

• Oscar Álvarez¹

Bioquímico; Ayudante ad–honorem Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM.

• Eduardo Pegels¹

Licenciado en Bioquímica; Especialista en Microbiología Clínica; Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría III Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

• Patricia Oviedo¹

Bioquímica; Magíster en Gerenciamiento y Administración en Sistema de Salud; Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría IV Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

• Esteban Pereyra²

Médico; Especialista en Ginecología y Obstetricia; Jefe Sector de Internación Maternidad Hospital Dr. Ramón Madariaga, Posadas, Misiones.

• Marta Vergara¹

Bioquímica; Master Internacional en Bacteriología y Micología; Especialista en Educación Superior; Profesora Titular Cátedra de Bacteriología, Carrera de Bioquímica, FCEQyN, UNaM; Categoría II Sistema de Incentivos Docentes–Investigadores.

1– Cátedra de Bacteriología. FCEQyN. Universidad Nacional de Misiones. Av. Mariano Moreno 1375 (3300). Posadas. Misiones. Argentina.

(bacterio@fceqyn.unam.edu.ar).

2– Servicio de Obstetricia. Hospital Dr. Ramón Madariaga. Av. López Torres 1177. (3300). Posadas. Misiones. Argentina.

ESTUDIO DE PERCEPCIÓN EN EL USO DE FITOFÁRMACOS OFICIALES EN ATENCIÓN PRIMARIA DE LA SALUD EN LA PROVINCIA DE MISIONES

Juan C. Falkowski, Roberto O. Tafani, Patricia Oviedo, Alicia Duarte.

STUDY OF PERCEPTION IN THE USE OF OFFICIAL HERBAL MEDICINES IN PRIMARY HEALTH CARE IN THE PROVINCE OF MISIONES

ABSTRACT

The present study carried out from three herbal medicines approved and distributed in public effectors: *Calendula officinalis* cream, *Maytenus ilicifolia* tablets and *Cecropia pachystachya* syrup constitutes a descriptive and prospective case–population, by random sampling, aimed to evaluate the perception of the user patients, and the prescriber professionals, at the beginning of the prescription and at the moment of the control. The double survey was applied by the doctor being the reagents similar to the clinical anamnesis. The survey comprised twelve reagents: six of dichotomic answer for the patient and six for the prescriber: three with closed answer and three with dichotomic answer. They recorded sociodemographic aspects, like age, sex, birthplace, residence place, education, location of clinic, etc. The size of the sample will be calculated at a reliability of 95%.

KEY WORDS: herbal medicine, perception, case–population study.

RESUMEN

A partir de tres fitofármacos aprobados y distribuidos en efectores públicos: crema de *Calendula officinalis*, comprimido de *Maytenus ilicifolia* y jarabe de *Cecropia pachystachya* el presente constituye un estudio del tipo caso–población, descriptivo y prospectivo, por muestreo aleatorio, dirigido a evaluar la percepción de los usuarios pacientes, y los profesionales prescriptores, al inicio de la prescripción y al momento del control. La encuesta doble es aplicada por el médico siendo los reactivos un marco similar a la anamnesis clínica. La encuesta está integrada por doce reactivos: seis de respuesta dicotómica para el paciente y seis para el prescriptor: tres con respuesta cerrada y tres con respuesta dicotómica. El tamaño de la muestra se calculará para un nivel de confiabilidad de 95%. Secundariamente se ha propuesto también referir la frecuencia de las RAM presentes en el grupo de casos encuestados.

PALABRAS CLAVE: fitofármacos, percepción, estudio caso población.

INTRODUCCIÓN

Los fitofármacos son medicamentos obtenidos mediante modernas tecnologías de producción industrial y que contienen un extracto estandarizado de una planta que constituye su componente biológicamente activo. Se producen en variadas formas tales como tabletas, grageas, cápsulas y líquidos [1]. Según el criterio de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) los medicamentos herbarios o fitomedicamentos se definen como: “Productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal, o combinaciones de estos, en estado bruto o en forma de preparaciones vegetales” [2]. El auge en los productos fitomedicinales ha demostrado un patrón bien definido en los últimos diez años. Este patrón surge como resultado del aumento del uso empírico de los productos junto con un creciente número de investigaciones científicas. A pesar de lo expuesto, el concepto “fitofármaco” es nuevo en Argentina y no se ha analizado que percepción presenta el público usuario ni qué nivel de conocimiento tienen los profesionales de la salud sobre estos medicamentos [1]. Por tanto objetivos

como la farmacoepidemiología y el análisis de la percepción en el uso de fitofármacos en atención primaria de la salud en la Provincia de Misiones constituyen un campo importante de investigación en el ámbito de la Salud Pública.

El Laboratorio de Especialidades Medicinales del Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones fue habilitado por la Administración Nacional de Medicamentos y Tecnología Médica en julio del 2003, contando en la actualidad, con tres fitofármacos aprobados por el ANMAT y distribuidos en efectores públicos siendo: crema de *Calendula officinalis* (Linneo), comprimidos de *Maytenus ilicifolia* (Mart. ex. Reiss) [14]. y jarabe de *Cecropia pachystachya* (Trécul) [14]. A partir de un adecuado diseño de la distribución muestral de los lotes de producción, partiendo de la premisa inicial que toda la producción es distribuida y utilizada en la Provincia de Misiones, siendo prescripta en efectores públicos de atención primaria con seguimiento de los pacientes a través de promotores comunitarios de salud; la documentación clínica permite un estudio farmacoepidemiológico con los siguientes objetivos: determinar las frecuencias de diagnósticos para los cuales son prescriptos los tres preparados oficiales; deter-

minar un índice indicador de satisfacción de prescripción y determinar un índice indicador de percepción de uso, de acuerdo a una metodología compatible con las utilizadas en la farmacoepidemiología.



FIGURA 1. Fitofármacos oficiales del Laboratorio de Especialidades Medicinales del Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo utiliza herramientas metodológicas correspondiente a estudios epidemiológicos del tipo caso-población [3], mucho más amplio en sus objetivos, pero con la mayor inclusión de sesgos que limitan su poder estadístico. No obstante se generó un sistema de medición de la percepción y satisfacción de los usuarios de este tipo de forma farmacéutica en beneficio de la evaluación del interés social percibido en los usuarios.

Se utilizó el sistema de muestreo aleatorio por conglomerados que clasifica la población en categorías excluyentes: en este caso las categorías son dadas por producto fitofármaco y zona sanitarias [3]. La distribución de la muestra [3] se ha realizado a partir de los lotes procesados por el Ministerio de Salud Pública de cada producto fitofármaco para una distribución de muestreo en zonas sanitarias calculada para: Error=5%; $z\alpha=1,96\approx 2$; $p=q=0,5$, y estratificado de acuerdo a la distribución de la población. Utilizando los algoritmos simplificados para cálculo de tamaño de muestra.

Tabla 1: Distribución de muestra Error=5%; $z\alpha=1,96\approx 2$; $p=q=0,5$, estratificado de acuerdo a la distribución de la población.

Producto fitofármaco	Tamaño del lote	Tamaño de la muestra	Zona norte	Zona centro	Zona sur	Zona capital
Crema de <i>caléndula officinalis</i>	10000 a 50000	385	89	116	65	112
Comprimido de <i>maytenus ilicifolia</i>	10000 a 50000	385	89	116	65	112
Jarabe de <i>cecropia pachystachya</i>	10000 a 50000	385	89	116	65	112

Se investigó a partir del médico de atención primaria en el momento de la consulta, mediante entrevista directa con el paciente (o con un familiar en caso de menores) y a través de la historia clínica personal de atención primaria

(con una serie determinada de atributos como edad, grado de estudio, población urbana o rural, etc.), en un Tiempo 1 previo a la prescripción indagando en el paciente premisas mediante respuesta dicotómica o de opciones cerradas. Se realizó de igual manera una forma inicial de relación de los datos que darán lugar a los índices de comparación relativa. Estos índices corresponden a herramientas metodológicas similares y derivadas de los conceptos aplicados de la epidemiología [3, 4, 5].

Índice de satisfacción de prescripción (ISATP): constituye una razón que evalúa la percepción del profesional prescriptor frente al uso de cada fitofármaco.

Tabla 2: Límites y Operaciones metodológicas aplicadas al análisis del índice de satisfacción de prescripción (ISATP) (las letras correspondientes a las variables son las que codifican el reactivo).

Tendencia índice de satisfacción de prescripción (ISATP)	Si ha existido regresión patológica o sintomática	Si fue necesario el replanteo de la terapéutica inicial por genéricos
∞	N encuestas	0
0	0	N encuestas
Intervalos de confianza	$e^{(ln (ISATP) \pm 1,96 \sqrt{1/(H+1)})}$	

La caracterización de este indicador es correspondiente con el número de observaciones en un grupo determinado con una característica determinada. –si ha existido regresión patológica o sintomática) dividido por el número de observaciones sin la característica dada. –Si fue necesario el replanteo de la terapéutica inicial por otro medicamento.

El *Índice de Percepción Positiva (IPP)* se propone a partir de la construcción de una tabla de contingencia, como un sucedáneo de la razón de desigualdad, donde se establece la probabilidad de que un paciente [4, 5] (con regresión patológica o sintomática) perciba un efecto positivo al utilizar un fitofármaco, dividida la probabilidades de que no lo perciba.

La valoración estadística de las asociaciones encontradas debe realizarse mediante el cálculo de los correspondientes intervalos de confianza.

Tabla 3: Composición de la tabla de contingencia para el cálculo de Índice de Percepción positiva (IPP).

Tabla 2x2	Variable	Dependiente
Variable independiente	Percepción positiva (I+)	Percepción negativa (I-)
Si ha existido regresión patológica o sintomática (H+)	A	B
Si no ha existido regresión patológica o sintomática (H-)	C	D

Tabla 4: Relaciones entre el valor de IPP y sus intervalos de confianza (Adaptado Altman D. Practical Statistics for Medical Research. Chatman & Hall/CRC 1999).

Valor IPP	Intervalo de confianza		Tipo de asociación
	Inferior	Superior	
1			No evidencia de asociación
Mayor de 1	>1	>1	Percepción asociada a eficacia del fitofármaco
Mayor de 1	<1	>1	No significativa
Menor de 1	<de 1	<de 1	Percepción asociada a efecto placebo del fitofármaco
Menor de 1	<de 1	>de 1	No significativa
Intervalos de confianza	$e^{(ln (IPP) \pm 1,96 \sqrt{1/(A+1/B+1/C+1/D)})}$		

Secundariamente se ha propuesto también referir la frecuencia de las RAM presentes en el grupo de casos encuestados

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Se realizaron la totalidad de las 1155 encuestas necesarias de acuerdo a la matriz de muestreo propuesta correspondiendo, por tanto, 385 casos de encuestas de las cuales 385 correspondió al uso de comprimidos de *Maytenus ilicifolia* de las cuales se excluyeron 49 (13%)— que se consignan como eliminadas por condiciones de confección, legibilidad deficiente o respuestas excluyentes que anulen el contenido [5]. En el caso de las encuestas de jarabe de *Cecropia pachystachya*, se realizaron de acuerdo a lo planeado 385 encuestas de las cuales se eliminaron 22 (6%). Respecto a las muestras de crema de *Caléndula officinalis*, se analizaron 559 sin casos de eliminación, siendo el mayor número de encuestas causada por la abundancia de casos y la mayor tendencia de uso tanto por prescripción como por demanda espontánea de los usuarios. Se analizaron por tanto 559—respetando la proporción de conglomerados— de encuestas de crema de *Caléndula officinalis* L. sin casos de eliminación.

Se realizó el análisis de frecuencias de diagnósticos asociados al uso de los diferentes fitofármacos lo que correlacionó su prescripción con algunas características de uso referente a la edad de los pacientes, por las características específicas del tipo de encuesta los diagnósticos sindrómico—sintomático. En el caso de la crema de *Caléndula officinalis* el más frecuente es eczema del pañal (36%) seguida de lesión térmica (23%). El segundo fitofármaco, de comprimidos de *Maytenus ilicifolia* presenta como mayor frecuencia diagnósticos de dispepsia (27%) y gastritis (21%). En el caso de jarabe de *Cecropia pachystachya* presentan uso frecuente; tanto en pacientes pediátricos como en adultos siendo los diagnósticos más frecuentes neumopatía crónica (50%) y síndrome alérgico de las vías superiores (20%). En general se ha constatado que, en la mayoría de los casos, la prescripción de fitofármacos utilizó el criterio de monoterapia, lo que indica un concepto general de alta eficacia por parte de los médicos prescriptores. En el caso de crema de *Caléndula officinalis* el 78% de las prescripciones encuestadas son como monoterapia; es diferente el caso de los comprimidos de *Maytenus ilicifolia* en donde solo el 35% de las prescripciones son como monoterapia, en el caso de jarabe de *Cecropia pachystachya* en los que solo el 25% de los casos corresponden a monoterapia por lo que puede interpretarse este hallazgo como una menor percepción de eficacia dada que existe tendencia entre los prescriptores a asociarlas en politerapia con otros principios genéricos.

Con respecto al indicador propuesto en el presente trabajo, y de acuerdo a la bibliografía [3, 4, 5] ISATP (índice de satisfacción de prescripción tabla); que cons-

tituye una razón que evalúa la percepción del profesional prescriptor frente al uso de cada fitofármaco, se han calculado los valores—Tabla 5—constatándose como los mejores percepción la crema de *Caléndula officinalis* que presenta una probabilidad relativa mayor a 20 de que el médico prescriptor verifique una percepción positiva en el efecto, sin criterio de replanteo de la terapéutica; este valor seguramente está basado en el hecho de que evalúa la prescripción de un fármaco de uso externo para lesiones de piel, cuya anamnesis y diagnóstico es objetivo y cuya evolución es siempre sintomática. Para el caso de comprimidos de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss. la percepción del médico prescriptor presenta valores similares; para el uso en diagnósticos de síndromes sintomáticos proteiformes como el de gastritis o dispepsia. En tanto para el jarabe de *Cecropia pachystachya*, la percepción es menor y sugiere en general un promedio del doble de probabilidad en una percepción positiva en el efecto, sin criterio de replanteo de la terapéutica; este valor seguramente es menor dado que la principal causa de prescripciones son asociadas a enfermedades respiratorias, cuyos concomitantes más frecuentes son asociados a cuadros infecciosos—aun cuando no correspondan a NAC (neumonía adquirida en la comunidad) o neumopatías infecciosas francas— simétricamente se verifica que las prescripciones presentan asociaciones con antibióticos (cercasas al 50%), siendo el fitofármaco una prescripción meramente sintomática secundaria a una prescripción etiológica, asimismo, por esta razón en los casos en que se utilizó como monoterapia, se verificó una gran tendencia en el replanteo de la terapéutica por otros grupos farmacológicos.

Tabla 5: Valores encontrados para indicadores propuestos de percepción (IPP Índice de Percepción Positiva e ISATP Índice de Satisfacción del Prescriptor).

Fitofármaco	IPP	Interv de conf.	ISATP	Interv de conf.
crema de <i>caléndula officinalis</i>	1114	83,22–14911	20,7	14,06–30,44
comp. de <i>maytenus ilicifolia</i>	24,92	1,47–420,9	36	18,51–69,53
jarabe de <i>cecropia adenopus</i>	44,94	13,01–155,174	1,92	1,56–2,35

De los valores obtenidos se constató que el producto de mayor índice de percepción positiva IPP es la crema de *Caléndula officinalis* con un valor de 1114, siendo el de mayor valor absoluto, generando un alto valor de percepción con intervalos de confianza de valores positivos lo que implica una gran asociación entre la percepción positiva del usuario con una gran percepción de mejoría atribuida al fitofármaco; este alto valor absoluto es explicable por el hecho antes expuesto de ser de uso externo. Los demás productos con valores de 24,92 para comp de *Maytenus ilicifolia* y 44,94 para el jarabe de *Cecropia denopus* implican una percepción positiva adecuada, siendo en todos los casos también con una franca asociación respecto a la percepción de mejoría dada al administrar el fármaco. Se

indagó también la aparición de RAM (reacciones adversas medicamentosas) no registrándose ningún reporte por parte del usuario o del médico prescriptor de los fitofármacos. [6, 7, 8, 9].

Cabe reiterar que por el diseño del estudio no genera el concepto de efectividad, sino el de “percepción” en el paciente; estableciendo en todos los casos si existe una asociación entre esta y la regresión patológica o sintomática, determinada por el médico prescriptor en la visita de control.

Desde este punto de vista, la Fitoterapia se considera especialmente útil en el tratamiento de afecciones leves o moderadas, así como de afecciones crónicas (Weiss, 1992; Cañigual y Vila, 1998). La medicina tradicional argentina utiliza unas 750 especies, entre autóctonas y espontáneas, la mayoría de las cuales provienen del acopio de materiales silvestres. La fitoterapia se fundamenta en la medicina popular más que en la medicina tradicional. Por un lado se advierte un arraigado, y muchas veces excluyente, uso de las plantas medicinales en las poblaciones rurales, no obstante su normatización y desarrollo de productos comerciales pueden además de dar lugar a productos eficaces al desarrollo a pequeña escala de ciclos productivos sustentables [9, 11, 12, 13]. En este entorno la Fitoterapia pasa a ser una alternativa más, muchas veces orientada por las tendencias del mercado. Pero aún en este ámbito la importancia de la Fitoterapia no deja de ser significativa. Un estudio realizado en uno de los más importantes hospitales de la ciudad de Buenos Aires reveló que, de 900 personas entrevistadas, el 55% hacían uso de la Fitoterapia, representando la principal alternativa al uso de genéricos medicamentos tradicionales [12]. Según la Legislación Argentina vigente y reglamentada desde hace unos años, los medicamentos fitoterápicos pueden ser registrados, si es posible garantizar científicamente su calidad, eficacia y seguridad, por los mismos medios utilizados para cualquier medicamento. De esta manera se constituye un mercado incipiente para especialidades fitofarmacológicas. Esta disposición, en el caso de los Fitofármacos oficiales del Ministerio de Salud Pública – a pesar de que no ubica a los fitofármacos como un bien comerciable – dado que se distribuyen gratuitamente en un modelo sanitario de demanda inducida, genera una variación exógena del número de bienes ofrecidos (con criterio ético y científico). En un área determinada de demanda de opciones terapéuticas, siendo los fitofármacos de menor costo se justifica el programa por una disminución en el costo total afrontado por el Estado.

CONCLUSIÓN

La percepción de estos productos es ampliamente favorable y correlacionada con la percepción de mejoría subjetiva, por los usuarios; tanto como la percepción favorable de los médicos prescriptores por la evaluación de regresión en las patologías de los pacientes. Esta asociación

también actúa como una medida indirecta de la eficacia de la medicación utilizada. Siendo este tipo de percepción más patente en los fitofármacos de uso externo como la crema de *Caléndula officinales* L. siendo igualmente favorable para los otros fitofármacos de uso interno. Constituyendo adecuados índices de evaluación para prever un mercado favorable para los productos en estudio y una adecuada constitución de demanda a corto plazo. La evaluación consecuente de las diferentes modelos de curva precio/demanda para constituir un producto comercial; puede por tanto, partir de una adecuada percepción del producto (los fitofármacos), debiendo no obstante aumentarse la difusión de los mismos, dado que se verificó un escaso conocimiento previo por parte de los médicos del sistema público de salud. La difusión de materiales de propaganda o difusión científica –como la que se encuentra en ejecución– favorecerá la constitución de una adecuada relación de precio demanda para la consolidación de los productos fitofarmacológicos del Ministerio de Salud Pública.

AGRADECIMIENTO

Se incluye un agradecimiento a la ONG italiana COE –Centro Orientación Educativa– y la Asociación Argentina de Fitomedicina de Buenos Aires, contando con la contribución del Gobierno de Italia y la Región de Lombardia, el cual colaboró con la financiación del Proyecto de Investigación: CIDET RESOL 16Q325.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Romero Cerecero, O.; Reyes Morales, H.** Conocimiento sobre fitofármacos en médicos de atención primaria del estado de Morelos. *Rev. Med. IMSS* 2005; 43(4): 281–286.
2. Organización Mundial de la Salud. Guías para el asesoramiento y la regulación de las medicinas tradicionales. Ginebra: OMS; 1992.
3. **Tognoni, G.; Laporte, J. R.** Principios de Epidemiología del Medicamento. Ed. Masson–Salvat. 1993.
4. **Strom, B. L.** What’s pharmacoepidemiology? Nueva York. Churchill Livingstone, 1989 3–12.
5. **Lindbladh, E.; Lyttkens, C. H.; Hanson, B. S.; Östergren, P.; Isacson, S.; Lindgren, B.** An economic and sociological interpretation of social differences in health-related behaviour: an encounter as a guide to social epidemiology. *Soc. Sci. Med.* 1996; 43: 1817–1827.
6. **Moncrieff, J.; Wessely, S.; Hardy, R.** Active placebos versus antidepressants for depression. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2004, Issue 1. Art. No.: CD003012.

7. Jan Vandenbroucke, Lancet.

“Homeopathy and the “growth of truth”, (Volume 366, Issue 9487, 27 August 2 september, pages 726–732).

8. Hróbjartsson, A.; Gøtzsche, P. C.

Intervenciones placebo para todas las afecciones clínicas (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2005. Núm. 1.

9. Frenk, J.

“El concepto y la medición de la accesibilidad”. En Salud Pública de México, 1985. Sep–oct., Vol. 27 No. 5, PP. 438–456.

10. Houghton, P. J.

The role of plants in traditional medicine and current therapy. *J. Altern Complement Med.* 1995; 1:131–143.

11. Organización Mundial de la Salud. Reporte. Promoción y desarrollo de la medicina tradicional. Conferencia internacional sobre atención primaria a la salud. Ginebra/Alma Ata URSS: OMS; 1978. p. 6–12.

12. Alonso, J.

Aplicación de los fitofármacos en la clínica diaria. México: IMSS–Farmasa Schwabe; 2001. p. 79–88.

13. Laporte, Joan Ramón

Principios Básicos de Investigación Clínica. 1993 Cap II La observación clínica y el razonamiento causal.

14. Alonso, J.; Desmachelier, C.

Plantas Medicinales Autóctonas de la Argentina –Bases Científicas para su aplicación en Atención Primaria de la Salud. Edit. Literatura of Latin America. Bs. As. 2005. ISBN 950–9725–80–3.

de Investigación Categoría iniciación. Perfeccionamiento Post Doctoral 1992, 1993, 1993, 1994, 1995. Conicet. Argentina.

• Alicia Renée Duarte¹

Subsecretaria de Prevención de Adicciones y Control de drogas. Lugar: Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones. Profesor Adjunto Regular Cátedra: Química y Bioquímica. Escuela de Enfermería, FCEQyN, UNaM.

1– Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

2– Escuela de Salud Pública, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Recibido: 03/06/08.

Aprobado: 29/07/08.

• Juan Carlos Luján Falkowski¹

Médico Farmacéutico, Magíster Gerencia y Administración en Servicios de Salud, Especialista en Farmacología Clínica Auditoría del Medicamento. Profesor Adjunto Cátedras de Química Medicinal y Fisiopatología carrera de Farmacia: Facultad de Ciencias Exactas, Qcas. y Naturales. (jcfalko@yahoo.com.ar).

• Patricia Noemí Oviedo¹

Bioquímica. Contadora Pública Nacional, Magíster Gerencia y Administración en Servicios de Salud Docente, cátedra: Bacteriología Clínica carrera de Bioquímica, FCEQyN, Programa de incentivo docente–investigadores investigadora “IV”.

• Roberto Tafani²

Philosophy Doctor (Ph.D) (University of Wales U.K. 1982) Magíster Science Economics. (University of Wales. U.K. 1978). Master en Dirección de Empresas. (Cema. argentina 1989). Profesor de la Maestría de Gerencia en Servicios de Salud. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Investigador clasificado como categoría 1 según el Sistema Nacional de Categorización Docente. Lugar de Trabajo: Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Director de Becas

Rev. Cienc. Tecnol.
Año 10 / N° 10a / 2008 / 43–48

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN UN GRUPO DE JÓVENES INGRESANTES A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Graciela A. Bonneau, Claudia Castillo, María S. Castillo–Rascón, Williams R. Pedrozo.

CARDIOVASCULAR RISK FACTORS IN A GROUP OF YOUNG UNIVERSITY STUDENTS

ABSTRACT

In the province of Misiones, cardiovascular diseases (CVD) are the first cause of mortality. We aimed to establish the frequency of major Risk Factors (RF) for CVD in isolated and combined ways, and those related to their life style and to identify the RF related for Metabolic Syndrome (MS) in a group of entering students. We worked with a population of 130 university entering students. We prepared a file with personal data, family and personal records, of CVD, high blood pressure (HBP), smoking and physical activity. Anthropometric parameters were assessed and blood pressure. 12 hour fasting blood samples were collected.

A 39% showed CVD family antecedents, 31% were smokers, 6% had high blood pressure, 12.7% increased cholesterol, 33.2% decreased HDL-cholesterol, 6.1% were overweight and/or obese, 5.8% showed abdominal obesity and 64% had sedentary habits. A 32% showed two or more of the major RF for CVD. None of these young people showed MS, however 16% had at least one RF for MS.

School and Community programs to change smoke habits and increase physical activity should be necessary to face this alarming situation..

KEY WORDS: Cardiovascular major risk factors, obesity, sedentary, metabolic syndrome.

RESUMEN

En Misiones las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) constituyen la primera causa de muerte. Nos propusimos determinar en un grupo de ingresantes universitarios la frecuencia de Factores de Riesgo (FR) mayores para ECV de forma aislada y combinada y aquellos relacionados con el estilo de vida e identificar los FR para Síndrome Metabólico (SM).

Se evaluaron en 130 estudiantes hábitos personales, antecedentes familiares, presión arterial, parámetros antropométricos y bioquímicos con 12 horas de ayuno.

El 39% presentó antecedentes familiares de ECV, 31% eran fumadores, 6% hipertensos, 12,7% colesterol elevado, 33,2% col-HDL disminuido, 6,1% tenían sobrepeso y/o obesidad, 5,8% obesidad abdominal y 64% eran sedentarios. El 32% presentó 2 o más FR de forma simultanea. Ninguno presentó SM pero el 16 % tenía al menos 1 FR.

De los hallazgos, surge la necesidad de implementar actividades educativas para prevenir el hábito de fumar e incentivar la práctica de actividad física de forma regular.

PALABRAS CLAVE: Factores de riesgo mayores para enfermedad cardiovascular, obesidad, sedentarismo, síndrome metabólico, ingresantes universitarios.

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) continúan siendo la principal causa de morbi-mortalidad a nivel mundial. Si bien hubo en la última década una reducción del número de muertes de origen cardiovascular en los países desarrollados, esto no fue así en los países de bajos y medianos ingresos donde se registró un incremento significativo de la ECV. Por lo expuesto es sumamente importante la elaboración de estrategias preventivas, actuando sobre los factores de riesgo de esta enfermedad, para reducir las elevadas pérdidas humanas, sociales y económicas que se producen [1].

En la provincia de Misiones, de acuerdo a los datos aportados por la Dirección de Estadísticas del Ministerio de Salud Pública correspondientes al año 2006, las ECV constituyen la primer causa de muerte con una razón de mortalidad proporcional del 28.34% [2].

La prevención de la enfermedad coronaria está basada en el control de diversos factores, cuya influencia en el desarrollo de esta enfermedad ha sido demostrada a través de numerosos estudios. Estos son los llamados Factores de Riesgo (FR) de la Enfermedad Coronaria. El tercer reporte del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (ATPIII), incluye como factores de riesgo al colesterol total (\geq a 200

mg/dl), tabaquismo, hipertensión arterial (presión arterial $\geq 140/90$ mm Hg o con medicación antihipertensiva), colesterol HDL disminuido (< 40 mg/dl), historia familiar de primer grado de ECV prematura (en varones antes de los 55 años y en mujeres antes de los 65 años) y edad (en varones ≥ 45 años y en mujeres ≥ 55 años), siendo los cuatro primeros modificables y los dos últimos no modificables [3].

La identificación, prevención y tratamiento oportuno de los factores de riesgo para la ECV permiten no solo mejorar la esperanza y calidad de vida sino también disminuir los costos en cuidados de salud [4–8].

El síndrome metabólico representa una constelación de factores de riesgo lipídico y no lipídico de origen metabólico como obesidad abdominal, triglicéridos elevados, colesterol HDL disminuido, presión sanguínea aumentada y glucemia en ayunas alterada [9–11]. Representa un estado en el cual coexisten alteraciones del tipo clínico, bioquímico y hemodinámico; también ha sido asociado con disfunción endotelial, hiperinsulinemia, hiperlipemia mixta, hipertensión arterial, los que muchas veces se manifiestan de forma ligera, discreta y moderada [12]. Los individuos con SM tienen el doble de posibilidades de sufrir infarto o *stroke*, y el triple de posibilidades de morir como consecuencia de estos eventos comparados con individuos sin SM [13].

Existen distintos modelos para definir el SM, en este trabajo nos basaremos en el propuesto por el ATP–III, que define al SM por la presencia de 3 o más de los siguientes criterios: medida de cintura: >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres; Triglicéridos: ≥ 150 mg/dl; HDL colesterol: <40 mg/dl en hombres y <50 mg/dl en mujeres; Presión arterial: $\geq 130/85$ mmHg y Glucemia en ayunas: ≥ 110 mg/dl [3].

La obesidad es una variable fisiológica que disminuye la utilización de la glucosa mediada por la insulina, está directamente ligada a anomalías de la presión arterial, anomalías lipídicas y aumento de insulina, así como al riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes tipo 2. Los efectos indeseables de la obesidad se relacionan no solo con el peso corporal total, sino también con la distribución de grasa corporal. La obesidad central se asocia a un riesgo mayor en comparación con la acumulación de grasa de manera difusa en el tejido subcutáneo y es un factor que contribuye a la insulino-resistencia [14, 15]. La prevalencia de obesidad se ha incrementado en la última década. El ATP–III considera a la “epidemia de la obesidad” como la principal responsable del aumento en la prevalencia del SM [3].

El estilo de vida, el exceso de comida y la inactividad física juegan un papel importante en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. La actividad física regular reduce la resistencia a la insulina, mejora la tolerancia a la glucosa, reduce el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2 y ECV. Estos efectos se producen a través de una reducción selectiva de la grasa visceral, mejoría de la resistencia periférica a la insulina y de la función cardio-

vascular [15].

Nos propusimos determinar en un grupo de jóvenes ingresantes a la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones la frecuencia de FR mayores para ECV de forma aislada y combinada y aquellos relacionados con el estilo de vida, además identificar los FR para SM, dado que no existen antecedentes en este grupo poblacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los meses de febrero y marzo del año 2001 se trabajó con una población de 130 jóvenes ingresantes a la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, con edades comprendidas entre 18 y 20 años; 79 mujeres y 51 varones. Se confeccionó una ficha con datos personales, antecedentes familiares, hipertensión arterial (HTA), tabaquismo y actividad física.

Se midió la circunferencia de cintura, siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud con una cinta métrica graduada, flexible e inelástica, a una distancia intermedia entre el borde inferior de la última costilla y la cresta iliaca, en un plano horizontal [16]. El peso y la talla fueron determinados con ropa liviana y sin calzado, en balanza con altímetro. La talla fue medida en posición de pie sin objetos en la cabeza, en posición de Frankfurt, con los talones juntos, los hombros relajados y ambos brazos al costado del cuerpo y al final de una inspiración profunda. Con los datos de peso y talla se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC) como peso/altura². Se consideró normopeso un IMC $\geq 18,50$ kg/m² y < 25 kg/m², sobrepeso un IMC ≥ 25 kg/m² y < 30 kg/m² y obeso un IMC ≥ 30 kg/m².

La presión arterial fue medida en posición sentada, utilizando esfigmomanómetro de mercurio, luego de 15 minutos de reposo, según normas de la American Heart Association. Se realizaron dos mediciones en el brazo derecho con intervalos de 5 minutos entre cada medición, considerando al primer y último ruido de Korotkoff como valores de la presión sistólica y diastólica, respectivamente, utilizando el promedio de las 2 mediciones. De acuerdo a los valores de la PA los individuos fueron clasificados en normotensos cuando los valores fueron $< 120/80$ mmHg, pre-hipertensos entre $120/80$ mmHg y $< 140/90$ mmHg e hipertensos si los valores fueron $\geq 140/90$ mmHg. [17, 18].

Para evaluar el nivel de actividad física se clasificó a los individuos en inactivos cuando no realizaban ninguna actividad y activo a aquellos que participaban de forma regular de un programa de entrenamiento físico.

Las determinaciones bioquímicas fueron realizadas con muestras sanguíneas obtenidas por punción venosa con ayuno de 12 horas, procesándose las muestras en el día. Colesterol Total (coeficiente de variación interensa-

yo (CVI=2,5%), Glucemia (CVI=2,38%) y Triglicéridos (CVI=2,42%) se midieron por métodos enzimáticos-calorimétricos, el Colesterol-HDL (CVI=1,24%) por precipitación selectiva con ácido fosfotúngstico, y medida enzimática del colesterol del sobrenadante. Todas las mediciones se realizaron con autoanalizador Metrolab 2100 con reactivos de Laboratorios Wiener. Se realizó Control de Calidad interno con pool de sueros preparado en el Laboratorio y Control de Calidad externo a través de controles provistos por la Fundación Bioquímica Argentina. Todos los datos fueron procesados en el programa SPSS 11.5.

RESULTADOS

En el grupo poblacional estudiado el 46% presentó al menos uno de los FR mayores para ECV.

De 2 FR presentes en forma simultánea la combinación más frecuente fue antecedentes familiares y tabaquismo y en las que presentaban 3 FR fue antecedentes familiares, tabaquismo y col-HDL disminuido.

Dentro de los FR relacionados con el estilo de vida, el sedentarismo fue el más frecuente. La obesidad abdominal solo se encontró en mujeres.

Ninguno de los jóvenes presentó SM, sin embargo el 3% tenían 2 FR para SM y el 13% uno solo. De los parámetros para SM, el más prevalente en esta población fue col HDL disminuido.

DISCUSIÓN

Diversos estudios han demostrado la presencia de factores de riesgo como tabaquismo, hipertensión e hiperlipidemia relacionados con aterosclerosis aórtica y coronaria en personas menores de 40 años [5-14]. De ello se desprende la importancia de la detección y el manejo oportuno de los factores de riesgo coronario presentes en un individuo [19-21].

En el presente trabajo se observó una alta frecuencia, 39%, de antecedentes familiares de ECV. Aunque se trata de un factor no modificable, es uno de los mejores indicadores de enfermedad coronaria en la siguiente generación, por este motivo, se debe prestar mayor atención a las personas que lo presenten y controlar los otros FR que pudieran estar asociados. El estudio CARDIA [22], al igual que otros estudios [23-26] demuestran una relación directa entre AF y presencia de FR para ECV en adultos jóvenes.

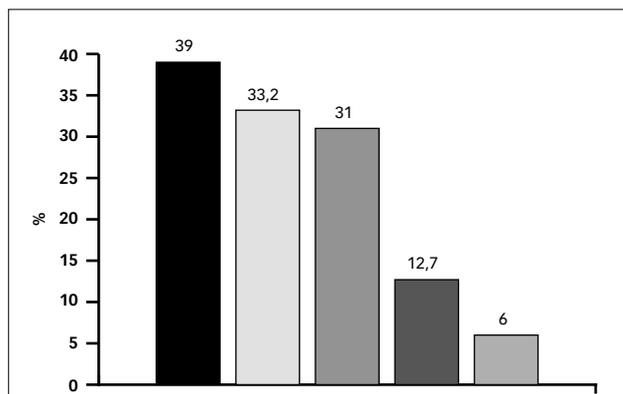


FIGURA Nº 1. Frecuencia de factores de riesgo mayores para enfermedad cardiovascular en jóvenes ingresantes a la Universidad Nacional de Misiones. Año 2001.

Referencias: AF ECV: antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, ■ AF ECV, □ col-HDL disminuido, ■ Tabaquismo, ■ Colesterol elevado, ■ HTA.

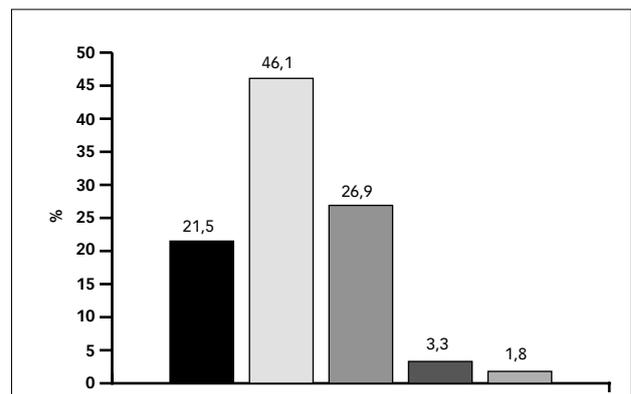


FIGURA Nº 2. Frecuencia de factores de riesgo mayores para enfermedad cardiovascular de forma combinada en jóvenes ingresantes a la Universidad Nacional de Misiones. Año 2001.

Referencias: FR ECV: factor de riesgo para enfermedad cardiovascular, HTA: hipertensión arterial, ■ sin FR ECV, □ FR ECV, ■ FR ECV, ■ FR ECV, ■ FR ECV.

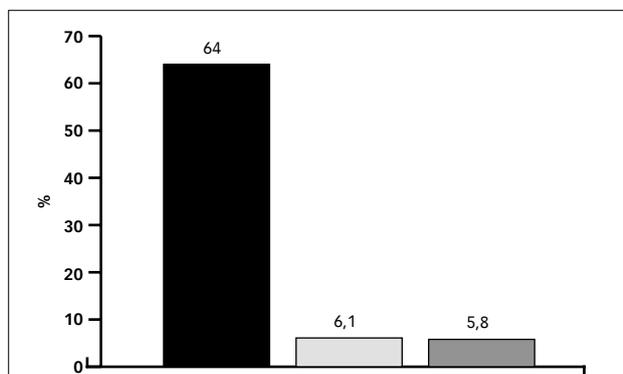


FIGURA 3. Factores de riesgo relacionados con el estilo de vida en jóvenes ingresantes a la Universidad Nacional de Misiones. Año 2001.

Referencias: FR SM: factor de riesgo para síndrome metabólico, ■ Sedentario, □ Sobrepeso y Obesidad, ■ Obesidad Abdominal.

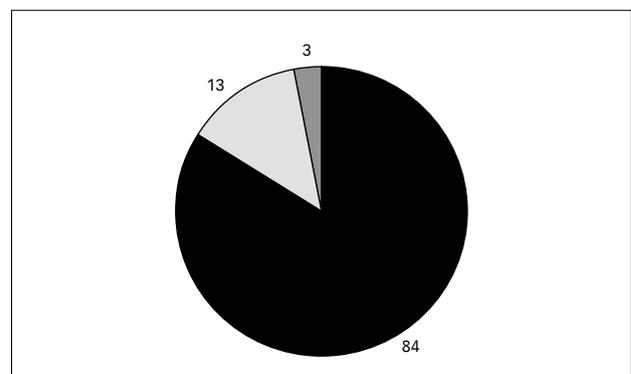


FIGURA 4. Frecuencia de factores de riesgo para síndrome metabólico en jóvenes ingresantes a la Universidad Nacional de Misiones. Año 2001.

Referencias: FR SM: factor de riesgo para síndrome metabólico, ■ FR SM, □ FR SM, ■ FR SM.

El col-HDL disminuido fue el segundo FR mayor para ECV encontrado con mayor frecuencia en esta población. Se acepta que existe una fuerte asociación inversa entre los niveles de Col-HDL y la incidencia de ECC y que aún cuando los niveles de Col-LDL están bajos, el Col-HDL es un predictor mayor e independiente de riesgo cardiovascular [14].

El 31% de los individuos estudiados eran fumadores, resultados similares a los reportados en universitarios de Mar del Plata, 27,1% [23] y en EE UU, 26% [26], e inferiores a los de Chile, 46,1% y 39,8% [24, 25]. Un trabajo realizado por la Sociedad Argentina de Cardiología (estudio FRICELA) [27] en adolescentes de 12 a 19 años refiere una frecuencia de tabaquismo del 28% y un inicio del hábito a edades tempranas. El patrón de enfermedades asociadas al tabaquismo, en Argentina, es similar al de países con población muy expuesta al mismo, siendo la causa de 40.000 muertes anuales estos resultados señalan la necesidad de concentrar los esfuerzos en la niñez y adolescencia [28].

Con respecto a la hipercolesterolemia se observó que el 12,7% de nuestros ingresantes presentaron valores elevados de Colesterol total, resultados similares a los hallados en los ingresantes a la universidad de Mar del Plata, 14,4%, Chile, 16,2% y EEUU 11,7% [23-26]. Varios estudios demuestran que el colesterol total es un factor de riesgo tanto para la población sana como para los que ya han padecido un evento coronario, siendo el beneficio mayor en estos últimos [29].

El 6% de los estudiantes universitarios presento HTA, dato relevante, teniendo en cuenta que un individuo hipertenso tiene el doble de probabilidad a sufrir un evento coronario además de problemas cerebrovasculares y complicaciones renales [30]. Estos hallazgos fueron similares en estudiantes universitarios de Mar del Plata, 7% [23] y Chile, 4,6% [24] pero difieren de otro estudio en el Centro-Sur de Chile, 12% [25] y EEUU, 1,2% [26].

El 64% de nuestros estudiantes universitarios eran sedentarios, datos similares a los hallados en Chile, 60,8%. Teniendo en cuenta que la actividad física juega un papel importante en la prevención de las ECV a largo plazo, el sedentarismo constituye un factor de riesgo para el desarrollo de las mismas. Además es importante tener en cuenta los efectos del ejercicio sobre los niveles de lípidos disminuyendo los niveles de triglicéridos e incrementando los de colesterol HDL [31].

Se encontró un 6,1% de estudiantes con sobrepeso y obesidad, cifras inferiores a las reportadas en poblaciones similares de Mar del Plata 15,5%, EEUU 27% y Chile 32,8%. Estas diferencias probablemente se expliquen porque el grupo de jóvenes de Posadas está restringido entre 18 y 20 años mientras que en los otros trabajos incluyen individuos de hasta 25 años [23-26].

La circunferencia de cintura es utilizada como indicador de obesidad abdominal, en este trabajo se encontró una prevalencia del 5,8% en mujeres, sin observarse es

factor de riesgo en varones. Nuestras cifras son inferiores a los reportados en Chile, 12,8% e inferiores a los EEUU, 1,8% pero coinciden en que la obesidad abdominal es más frecuente en el grupo de mujeres [23-26].

Diversos autores han destacado que la población universitaria es un grupo especialmente vulnerable desde el punto de vista nutricional. Se caracteriza por no respetar las cuatro comidas diarias, comer entre horas, tener preferencia por comida rápida, consumir alcohol frecuentemente y estar mucho tiempo inactivos, todos factores asociados al desarrollo de obesidad. El periodo de estudios universitarios suele ser el momento en que los estudiantes asumen por primera vez la responsabilidad de su comida. Por lo tanto se trata de un periodo de educación crítico para el desarrollo de hábitos que tienen mucha importancia en su salud futura [31, 32].

En este trabajo no se encontraron individuos con todos los componentes del SM, resultados similares a los obtenidos en Chile y EEUU sobre una población de iguales características encuentran 1% y 0,6%, respectivamente [23-26].

CONCLUSIONES

Los FR mayores para ECC encontrados con mayor frecuencia en el grupo de jóvenes ingresantes a la universidad fueron los AF, el col-HDL disminuido y el tabaquismo. El 32% presentó 2 o más FR de forma simultánea siendo la combinación más probable AF y tabaquismo. De los FR relacionados con el estilo de vida, el más frecuente fue el sedentarismo con un 64%, mientras que la obesidad general fue del 6,1% y la obesidad abdominal del 5,8%. Ninguno de los jóvenes evaluados presento SM.

De los hallazgos surge la necesidad de implementar actividades educativas a nivel escolar primario y secundario a fin de prevenir el hábito de fumar e incentivar la práctica de actividad física de forma regular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salud Mundial: Retos Actuales. Informe sobre la Salud en el Mundo. 2002. Disponible en: <http://www.who.int/evidence/bod/en/>.
2. Dirección de Estadísticas, Ministerio de Salud Pública de la provincia de Misiones. Defunciones según grupo de edad, sexo y causa de muerte. 2006.
3. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). JAMA. 285(19): 2486-2509. 2001.
4. Wallace, A. G. Fisiopatología de la enfermedad cardiovascular. En: Smith Thier. Fisiopatología. Principios biológicos de la enferme-

- dad. 1era. ed. Buenos Aires, Argentina. Edit. Médica Panamericana. 851–1000. 1986.
- 5. Coniglio, R. I.**
Atherosclerosis Coronaria: criterios para la detección de individuos de alto riesgo. *Acta Bioq. Clín. Latinoamericana*. 1994; XXVIII (4): 519–527.
- 6. Kannel, W. B.; Mc Gee, D. L.; Gordon, T.**
A general cardiovascular risk profile: The Framingham Study. *Am. J. Cardiol.* 38: 46–55. 1976.
- 7. Keys, A.**
Coronary heart disease in seven countries. *Circulation*. 41 (1): 204–211. 1970.
- 8. Multiple Risk Factor Intervention Trial.** *JAMA*. 248: 1465–1477. 1982.
- 9. Haffner, S. M.; Valdéz, R. A.; Hazuda, H. P.; Mitchell, B. D.; Morales, P. A.; Stern.**
Prospective Analysis of the insulin–resistance syndrome (Síndrome X). *Diabetes*. 41: 715–722. 1992.
- 10. Kolanowski, J.**
Pathophysiology and treatment of the obesity–related arterial hypertension. *Acta Clínica Bélgica*. 47 (14): 18–25. 1992.
- 11. Wasserman, O.; Grosso, C.**
Síndrome metabólico de riesgo vascular e hipertensión arterial. *Medicina*. 56:183–194. 1996.
- 12. Reaven, G. M.**
Síndrome X: six years later. *J. Intern. Med. Suppl.* 736: 13–22. 1994.
- 13. Isomaa, B.**
Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 4: 683–689. 2001.
- 14. Hulthe, J.; Bokemark, L.; Wikstrand, J.; Fagerberg, B.**
The Metabolic Syndrome, LDL particle size and atherosclerosis: The Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) Study. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 20(9): 2140–7. 2000.
- 15. Bloomgarden, Z. T.**
The 1st World Congress on the Insulin Resistance Syndrome. *Diabetes Care* 27 (Nº2): 602–609. 2004.
- 16. Physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Report of a WHO Expert Committee. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series. Nº 854: 429–430. 1993.
- 17. Reunión de trabajo sobre la medición de la presión arterial: recomendaciones para estudios de población.** Organización Panamericana de la Salud. 14 (5): 303–305. 2003.
- 18. National Heart, Lung, and Blood Institute.** National High Blood Pressure Education Program: Seventh report of The Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC7). *JAMA*. 2560–2572. 2003.
- 19. Daviglius, M.; Kiang, L.; Greenland, P.**
Benefit of a favorable cardiovascular risk–factor profile in middle age with respect to medicare costs. *The New England Journal of Medicine* 339:1120. 1998.
- 20. Laaksonen, D.; Lakka, H.; Niskanen, L.**
Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol.* 156:1070–1077. 2002.
- 21. Lakka, H.; Laaksonen, D. Lakka, T.**
The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle–aged men. *JAMA*. 288: 2709–2716. 2002.
- 22. Burke, G. L.; Savage, P. J.; Sprafka, J. M.; Selby, J. V.**
Relation of risk factor levels in young adulthood to parental history of disease. The CARDIA study. *Circulation*. 84(3): 1176–1187. 1991.
- 23. Giroto, Carlos A.; Vacchino, Marta N.; Spillmann, Cynthia A.; Soria, Jorge A.**
Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en ingresantes universitarios. *Rev. Saúde Pública*, 30 (6): 576–86, 1996.
- 24. Chiang–Salgado, María Teresa; Casanueva–Escobar, Víctor; Ximena Cid–Cea, C.**
Urcesino González–Rubilar. Factores de riesgo cardiovascular en estudiantes universitarios chilenos. *Salud Pública de México*. 41 (6): 35–42. 1999.
- 25. Palomo, Iván F.; Torres, Gaby I.; Alarcón, Marcelo A.; Maragaño, Patricio J.; Leiva, Elba; Mujica, Verónica.**
Alta prevalencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos en una población de estudiantes universitarios de la región centro–sur de Chile. *Rev Esp Cardiol.* 59(11): 1099–1105. 2006.
- 26. Huang, T. A.; Kempf, M.; Strother, L.; Chaoyang, R.; Lee, K.; Harris, K.**
Overweight and Components of the Metabolic Syndrome in College Students. *Diabetes Care*. 27 (12): 152–170. 2004
- 27. Paterno, C. A.**
Factores de riesgo coronario en la adolescencia. *Estudio FRICELA. Rev. Esp. Cardiol.* 56 (5): 452–458. 2003.
- 28. Programa Nacional del Control del Tabaco.** Ministerio de Salud y Acción de la Nación. 2005.
- 29. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: Final Report of the Pooling Project J. Chron. Dic.** 31: 201–306. 1978.
- 30. WHO–ISH Hypertension Guidelines Committee.** (1999). World Health Organization–International Society of Hypertension. Guidelines for the management of hypertension. *Journal of Hypertension*. 17: 151–185. 2000.
- 31. Steptoe, A.; Wardle, J.; Cui, W.**
Trend in smoking, diet, physical exercise and attitudes toward Health in European University students from 13 countries, 1990–2000. *Prev. Med.* 35: 97–104. 2002.
- 32. Arroyo–Izaga, M.; Rocandio, P.; Ansotegui–Alday, L.; Pascual–Apalauza, E.; Salces–Betiy, I.; Rebato–Ochoa, E.**
Calidad de la dieta, sobrepeso y obesidad en estudiantes universitarios. *Nutr. Hosp.* 21(6): 673–679. 2006.

Recibido: 03/06/08.

Aprobado: 03/07/08.

• Graciela Alicia Bonneau^{1,2}

Bioquímica (UNAM). Residencia en Bioquímica Clínica. Profesional Bioquímica de Planta Permanente del Laboratorio Central a cargo del sector de Hormonas y Marcadores Tumorales, Hospital Dr. Ramón Madariaga de Posadas, Misiones. Docente JTP Semiexclusiva de la materia Práctica Hospitalaria de la carrera de Bioquímica. Directora de tesinas de Grado. Docente de la Carrera de Especialista en Química Clínica Módulo “Lípidos y Lipoproteínas.” Responsable a cargo de alumnos pasantes y profesionales adscriptos.

Investigadora categoría IV Directora y Co-Directora de los Proyectos: Miembro y Fundadora del GEIFRAM (Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico de Misiones) Personería Jurídica N° A-2564.

(grabonneau@yahoo.com.ar).

• Claudia Castillo²

Bioquímica egresada de la Universidad Nacional de Misiones.

• María Susana Castillo Rascón^{1,2}

Bioquímica, (UNAM) y Magister en Salud Pública egresada de la UNNE, Bioquímica del Hospital Madariaga y Profesor Adjunto

Ordinario de Práctica Hospitalaria, FCEQyN, UNAM. Docente de la Carrera de Especialista en Química Clínica Módulo “Lípidos y Lipoproteínas” y de la Carrera de Especialista en Microbiología, Módulo “Epidemiología”. Directora y Co-Directora de Proyecto de Investigación Incentivados. Miembro de la Comisión Directiva y fundador del Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico en Misiones” (GEIFRAM).

• Williams Rene Pedrozo^{1,2}

Bioquímico egresado de la UNaM. Becario del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT). Becario Nacional “Ramón Carrillo-Arturo Oñativia” y premiado por la Academia Nacional de Bioquímica por su labor. Ex residente y jefe de residentes de Bioquímica. Profesional Bioquímico del servicio de Banco de Sangre del Hospital Dr. Ramón Madariaga. Miembro y Fundador del GEIFRAM (Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico de Misiones) Personería Jurídica N° A-2564.

1- Hospital Dr. Ramón Madariaga, Ministerio de Salud Pública Provincia de Misiones.

2- Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Av. Las Heras 2505. Posadas. Misiones. 3300. Teléfono: 03752-467985.

MODIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO ATEROGÉNICO EN EMPLEADOS PÚBLICOS CON CONTROL PERIÓDICO

Williams R. Pedrozo, Maria S. Castillo-Rascón, Graciela A. Bonneau.

MODIFICATION OF ATHEROGENIC RISK FACTORS IN CIVIL SERVANTS WITH PERIODIC CONTROLS

ABSTRACT

Cardiovascular disease is the first cause of death in Misiones and Argentina. A longitudinal study of major modifiable risk factors, metabolic syndrome and cardiovascular risk to 10 years, intra-individual variations of these parameters and their probable causes were performed. 121 civil servants who completed four controls and without medical records for coronary heart disease, diabetes or stroke were assessed. The frequency of subjects ($p < 0.01$) with one or more modifiable major risk factors, metabolic syndrome and high risk of Framingham caused by the appearance of 10% of coronary events and diabetes increased significantly. Smoking (19.8%) and increased triglyceride (26.2%) showed no significant variation, but blood pressure (44,3%) and abdominal obesity (37.7%) did increase significantly ($p < 0.01$) in relation to age increase and body mass index, respectively. These findings justify the appearance of diabetes and morbidity or mortality by cardiovascular disease.

KEY WORDS: atherogenic risk factors, cardiovascular disease, metabolic syndrome.

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en Misiones y en Argentina. Se realizó un análisis longitudinal de factores de riesgo mayores modificables, síndrome metabólico, riesgo cardiovascular a 10 años y se determinaron las variaciones intraindividuales de estos y sus probables causas. En este estudio fueron incluidos 121 empleados que completaron cuatro controles bianuales y no presentaban antecedentes de enfermedad cardíaca coronaria, diabetes o accidente cerebro vascular. Se incrementó significativamente ($p < 0,01$) la frecuencia de individuos con 1 o más factores de riesgo mayores modificables, síndrome metabólico y la categoría de alto riesgo de Framingham a causa de la aparición de un 10% de eventos coronarios y diabetes. El tabaquismo (19,8%) y los triglicéridos elevados (26,2%) no presentaron variaciones apreciables, en cambio se incrementaron significativamente ($p < 0,01$) la presión arterial elevada (44,3%) y la obesidad abdominal (37,7%) asociados al incremento de la edad y el aumento del índice de masa corporal, respectivamente. Estos hallazgos fundamentan la aparición de los casos de diabetes y de morbimortalidad por enfermedades cardiovasculares.

PALABRAS CLAVE: factores de riesgo aterogénico, enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del aparato circulatorio constituyen la primera causa de muerte en la provincia de Misiones, de acuerdo a los datos aportados por la Dirección de Estadísticas del Ministerio de Salud Pública provincial, correspondientes al año 2006 [1]. Es decir, nuestra provincia presenta un patrón de mortalidad similar al de países desarrollados. Sin embargo, la pirámide poblacional corresponde a una provincia joven, donde coexiste la alta tasa de mortalidad por enfermedades cardiovasculares (ECV) con una relativamente alta frecuencia de mortalidad por otras patologías como enfermedades infecciosas y parasitarias. Las tendencias demográficas y las transiciones sanitarias, junto con los cambios en la distribución de los factores de riesgo (FR), han acelerado la epidemia de enfermedades no transmisibles en muchos países en desarrollo, como Argentina, afrontando una doble carga compuesta por enfermedades transmisibles y no transmisibles. [2].

El tercer reporte del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (ATPIII), incluye como FR al colesterol total aumentado, al colesterol HDL disminuido, al tabaquismo, la hipertensión arterial, la historia familiar de enfermedad cardíaca coronaria (ECC) prematura y la edad, siendo los cuatro primeros modificables y los dos últimos no modificables. [3]. La identificación y tratamiento oportuno de los FR para la ECV permiten no solo mejorar la esperanza y calidad de vida sino también disminuir los costos en cuidados de salud. [4].

El síndrome metabólico (SM) o asociación de anormalidades metabólicas que consiste en dislipidemia, obesidad, hipertensión arterial e intolerancia a la glucosa juega un importante rol en la génesis de diabetes tipo 2 (DBT2) y ECV. [3, 5, 6].

Los FR que intervienen para el desarrollo de la aterosclerosis han sido bien definidos y estudiados por numerosos investigadores como así también la asociación entre sí y

sus efectos multiplicativos [7–10]. Sin embargo, las características de nuestra región son diferentes a las de los lugares donde se desarrollan estos trabajos, siendo importante conocer el comportamiento de los riesgos modificables, los componentes del SM y el riesgo de padecer una cardiopatía coronaria y el modo de como variaron en forma individual en nuestra población.

El presente trabajo se desarrolló como parte de un proyecto a diez años que se viene realizando desde el año 2001, sobre una población aproximada de 1000 empleados públicos de dos hospitales: Hospital “Dr. Ramón Madariaga” y Hospital de Pediatría “Dr. Fernando Barreyro” de Posadas (Misiones), destinado a evaluar sistemáticamente cada dos años los factores de riesgo cardiovascular, el síndrome metabólico y los hábitos de vida relacionados con aquellos. En el año 2007 se estudió por cuarta vez al personal del Hospital Madariaga, siendo evaluadas 280 personas mientras que en el año 2008 se hará lo propio con el Hospital Pediátrico.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- 1) determinar las variaciones intraindividuales en el tiempo de los factores de riesgo mayores modificables y del síndrome metabólico; y
- 2) evaluar probables causales de las variaciones en el grupo estudiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis longitudinal realizado se tomaron 121 casos provenientes del hospital evaluado que habían completado los cuatro controles y como criterio de exclusión al momento del inicio del estudio no presentaban antecedentes de: enfermedad cardíaca coronaria, diabetes o accidente cerebro vascular.

La PA fue medida en posición sentada, utilizando esfigmomanómetro de mercurio, luego de 15 minutos de reposo, según la American Heart Association. Se realizaron dos mediciones en el brazo derecho con intervalos de 5 minutos entre cada medición, considerando al primer y último ruido de Korotkoff como valores de la presión sistólica y diastólica, respectivamente. Las dos mediciones fueron promediadas y expresadas en mmHg. [11]

El peso, en kg, fue determinado con balanza de pie de uso clínico marca CAM, con capacidad de medición entre 5 kg a 150 kg. El paciente a ser pesado se encontraba sin calzado.

La talla, en cm, fue tomada en posición de pie, utilizando la varilla que tiene incorporada la balanza para tal fin, con el paciente sin calzado ni objetos en la cabeza en posición Frankfurt, con los talones juntos, los hombros relajados y ambos brazos al costado del cuerpo; luego de realizar una inspiración profunda.

La circunferencia de cintura, en centímetros, fue medida en el punto medio de la zona abdominal entre el último arco costal y la cresta ilíaca con una cinta métrica

inextensible. [12].

Las determinaciones bioquímicas realizadas fueron: Glucemia (Coeficiente de Variación (CV=3,47%), Colesterol Total (CV=1,96%), Uricemia (CV=2,00%) y Triglicéridos (CV=1,70%) por métodos enzimáticos colorimétricos según Trinder en autoanalizador (Metrolab 2100); Colesterol–HDL (CV=4,24%) y el Colesterol–LDL (CV=1,45%) por precipitación selectiva y medida enzimática del colesterol del sobrenadante en autoanalizador (Metrolab 2100). Se procesaron controles de calidad interno (pool de sueros preparado en el laboratorio), calibradores comerciales y sueros controles normal y patológico comerciales. Se realizó control de calidad externo a través de controles provistos por la Fundación Bioquímica Argentina.

El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS 11.5, previo ingreso de los datos en una base confeccionada en el programa Epi-Info 6.04. Se utilizó:

- a) medias y desvíos estándares; y
- b) las pruebas no paramétricas de Friedman, Cochran, U de Mann Whitney y Chi cuadrado con un nivel de significación mayor o igual al 95% ($p < 0,05$).

Criterios Clínicos

Los criterios para definir los factores de riesgo mayores modificables (CMM) para ECV fueron los del tercer reporte del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (ATPIII), que define como factores de riesgo modificables al:

- 1) colesterol total ≥ 200 mg/dl (CMCT),
- 2) tabaquismo (CMTQ),
- 3) hipertensión arterial: PA sistólica ≥ 140 , PA diastólica ≥ 90 mm Hg o con medicación antihipertensiva (CMHTA),
- 4) colesterol HDL < 40 mg/dl (CMHDL) [3].

El criterio para definir SM fue tomado del ATPIII, donde el adulto con tres o más de los siguientes parámetros fue clasificado como portador del SM:

- 1) circunferencia de cintura: hombres > 102 cm y mujeres > 88 cm. (SMOAB),
- 2) PA: sistólica ≥ 130 mmHg o diastólica ≥ 85 mmHg. (SMPA),
- 3) nivel de colesterol HDL en sangre: hombres < 40 mg/dl y mujeres < 50 mg/dl. (SMHDL),
- 4) nivel de triglicéridos en sangre: ≥ 150 mg/dl. (SMTG); y
- 5) nivel de glucemia en sangre: ≥ 110 mg/dl o en tratamiento hipoglucemiante (SMGLU). [3].

Para evaluar el riesgo a 10 años de desarrollar una cardiopatía coronaria se utilizó el score de Framingham que clasifica a los individuos en tres categorías: bajo, mediano y alto riesgo [3].

El cálculo de la Variación Intraindividual porcentual de las variables cuantitativas circunferencia de cintura (VI%cc), colesterol Total (VI%ct), Triglicéridos (VI%tg), y

colesterol HDL (VI%hdl) se realizó a través de la siguiente fórmula: (valor de variable en 2007 – valor de variable en 2001) x 100/valor de variable en 2001). Se consideró que la variación fue significativa si era mayor o menor a 3 veces la variabilidad biológica de la variable, esto es para VI%ct= \pm 15,9%, VI%tg= \pm 66%, VI%hdl= \pm 22,5%. [13] y para VI%cc= \pm 10%, VI%imc= \pm 10%.

Comité de Ética en el Estudio

Se contó con los avales de los comité de Docencia e Investigación del Hospital “Dr. Ramón Madariaga” y Hospital de Pediatría Fernando Barreyro, de la ciudad de Posadas, Misiones.

RESULTADOS

El grupo de 121 empleados públicos presentó una edad media de 50,23 \pm 7,51 años, y estuvo constituido por 96 (79%) mujeres (edad=50,75 \pm 7,24 años) y 25 (21%) hombres (edad=48,20 \pm 8,31 años). En la Tabla 1 se muestra el comportamiento a lo largo del tiempo de los CMM, el SM y sus parámetros y las categorías de riesgo del grupo estudiado.

Tabla 1: Comportamiento durante 6 años de los factores de riesgo mayores modificables, síndrome metabólico y categorías de riesgo.

	2001*	2003*	2005*	2007*	
\geq 1 CMM (%)#	68,6	68,6	66,9	79,3	
CMTQ (%)	19,0	22,3	23,1	19,8	
CMHTA (%)#	24,6	27,9	35,2	45,1	
CMCT (%)#	41,0	28,7	38,5	41,8	
CMHDL (%)#	30,3	32,8	14,8	25,4	
SMGLU (%)	10,7	8,3	8,3	7,4	
SMTG (%)	28,7	27,0	30,3	26,2	
SMHDL (%)#	59,8	67,2	39,3	53,3	
SMOAB (%)#	27,0	27,9	32,0	37,7	
SMHTA (%)#	25,4	36,9	34,4	44,3	
SMTOTAL (%)#	21,3	25,6	26,4	28,0	
Categoría de Riesgo #	Bajo (%)	50,4	48,8	47,9	37,2
	Mediano(%)	48,8	45,6	43,8	52,1
	Alto (%)	0,8	5,8	8,3	10,7

Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$).
*Año en que se realizó el estudio.

En el año 2007 se diagnostican 4 casos de diabetes tipo 2, estos individuos al inicio del estudio presentaban glucemia en ayunas alterada y eran portadores del síndrome metabólico. También, aparecen 8 casos de enfermedad cardiaca, 5 de ellos diagnosticados como angina de pecho, 2 como enfermedad de las coronarias y 1 infarto de miocardio ocurrido en un paciente diabético.

En el periodo de tiempo analizado fallecen 5 personas, 3 de ellas a causa de un infarto de miocardio o insuficiencia cardiaca, siendo las mismas portadoras de 3 o mas factores de riesgo modificable y 2 de ellas pertenecían a la categoría de alto riesgo del score de Framingham. También, dos personas se jubilan por incapacidad a causa de su ceguera por diabetes y otra con licencia prolongada debido a un accidente cerebrovascular.

En la Tabla 2 se describe la variación intraindividual del tabaquismo, no encontrándose diferencias significativas en

el hábito de fumar.

Tabla 2: Variación Intraindividual del Tabaquismo.

		Tabaquismo 2007			Total	
		No	Si	Ex		
Tabaquismo 2001	No	Recuento	73	2	0	75
		% del total	60,3%	1,7%	0%	62%
	Si	Recuento	0	16	7	23
		% del total	0%	13,2%	5,8%	19%
	Ex	Recuento	0	6	17	23
		% del total	0%	5%	14%	19%
Total		Recuento	73	24	24	121
		% del total	60,3%	19,8%	19,8%	100%

En la Tabla 3 se describe la variación intraindividual del CMHTA observándose que 28 pacientes no CMHTA en 2001 pasan a ser si CMHTA. Evaluando posibles causales de esta variación como lo podían ser el incremento del IMC o la circunferencia de la cintura, los antecedentes familiares o el aumento de la edad, solo se encontró a este último como posible causal ($U=652$, $p=0,038$).

Tabla 3: Variación Intraindividual del criterio modificable hipertensión arterial.

		CMHTA 2007		Total	
		No	Si		
CMHTA 2001	No	Recuento	64	28	92
		% del total	52,9%	23,1%	76,0%
	Si	Recuento	3	26	29
		% del total	2,5%	21,5%	24,0%
Total		Recuento	67	54	121
		% del total	55,4%	44,6%	100%

En la Tabla 4 se describen los casos de variación intraindividual que se modificaron significativamente. Al evaluar posibles causales de los mismos solo se encuentra que el aumento o descenso del peso o del IMC estarían actuando como asociación con de la VI%cc. (Peso: $U=1$, $p < 0,001$; IMC: $U=12$, $p=0,003$).

Tabla 4: Variación Intraindividual Porcentual de las variables cuantitativas circunferencia de cintura, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos y glucemia.

Variación Intraindividual Porcentual	Casos que Mejoraron % (n)	Casos que Empeoraron % (n)
Circunferencia de cintura	4,1 (5)	19 (24)
Colesterol total	10,7 (13)	15,7 (20)
Triglicéridos	1,7 (2)	15,7 (24)
Colesterol HDL	14,9 (19)	5,8 (7)

DISCUSIÓN

En el grupo estudiado, con predominio del sexo femenino y una media de edad avanzada, se observó que el porcentaje de personas con uno o más factores de riesgo mayores modificables se ha incrementado significativamente ($p < 0,01$), al igual que los demás CMM, excepto el CMTQ que no presentó variación apreciable. Al evaluar el comportamiento del SM se puede observar un incremento en la frecuencia de personas que lo presentaban siendo los componentes SMHTA y SMOAB los principales respon-

sables de este aumento. Las frecuencias actuales de SM se encuentran por encima de los reportados en la Tercera Encuesta Nacional de Salud Americana (NHANES III) en EEUU (24%) [14], la Encuesta Nutricional de Canarias (24,4%) [15] y un estudio realizado en Dean Funes, provincia de Córdoba (23,8%) [16].

Por otra parte, se observó un incremento en el número de individuos pertenecientes a la categoría de alto riesgo, probablemente por la aparición de eventos coronarios y diabetes.

Como se expone en los resultados, comienzan a registrarse los primeros eventos de enfermedad y mortalidad por ECV, desenlaces que podrían ser atribuidos a un mal control de los FR modificables y el SM.

El tabaquismo no ha variado mucho en el tiempo y tampoco lo ha hecho intraindividualmente, porque tal como suele ocurrir los fumadores dejan un tiempo de fumar y luego vuelven a hacerlo. La frecuencia actual de individuos fumadores es inferior a los valores descriptos para la Nación y la provincia de Misiones en la ENFR (33,4% y 28,9%, respectivamente) [17], a lo reportado en el estudio INTERHARD (48,1%) [18] y a los trabajos realizados en La Plata (41%) [19] y Bs. As. (29,2%) [20]. Este menor porcentaje de fumadores respecto de los otros estudios podría ser atribuido a que el grupo estudiado se desempeña en un medio laboral sanitario y al predominio del sexo femenino.

El CMHTA se ha convertido en el primer FR en frecuencia, presentando un incremento significativo ($p < 0,01$) en estos 6 años de estudio. Su valor actual es superior a lo reportado en el estudio INTERHEART para Latinoamérica (29,1%) [18], a los valores de la Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (ENFR) para la Argentina (34,5%) y para la provincia de Misiones (34,8%) [17] y a los estudios realizados en La Plata (35,4%) [19] y en la provincia de Buenos Aires (41,2 %) [20]. Sin embargo se debe destacar en este punto que las metodologías para la clasificación de los individuos como hipertensos no son totalmente coincidentes entre los diferentes estudios, como así también la distribución según edad y sexo.

Al evaluar la variación del CMHTA se encuentra que el incremento de la edad sería la principal causa de esta variación, sin embargo no se debería descartar otras posibles causales hasta completar el estudio.

La frecuencia del SMOAB actual muestra un incremento significativo ($p < 0,01$) superiores al porcentaje hallado en los estudios realizados en la provincia de Córdoba (30,8%) [16] y en la ciudad de La Plata (27,9%) [19]. Analizando los casos que mejoraron y empeoraron significativamente la circunferencia de cintura, encontramos que el aumento del peso y del IMC serían la principal asociación.

El incremento significativo ($p < 0,01$) en el CMCT hasta los valores actuales es similar a lo reportado en un estudio realizado en la provincia de Buenos Aires (46,3%) [20] e inferior al porcentaje hallado en la ciudad de La Plata

(59,7%). [19] Se evaluaron como probables causales de la VI%ct a la variación del IMC y de la circunferencia de cintura y al abandono de la medicación, sin embargo ninguna de ellas estuvo implicada según los registros efectuados.

El SMTG ha presentado cambios que en el transcurso del estudio no fueron significativos, siendo los porcentajes actuales inferiores a los hallados en el estudio realizado en Dean Funes (38,1%) [16] y similares a los encontrados por el grupo de La Plata (26,7%). [19]. Evaluando la variación del IMC, la circunferencia de cintura y el abandono de la medicación como causales de la VI%tg, ninguna de ellas pudo ser considerada como causal.

La VI%hdl no pudo ser explicada por los factores capaces de modificarla como el tabaquismo, la variación del IMC o de la circunferencia de cintura, por lo que deberá seguir siendo evaluada con posterioridad.

Los casos de DBT2 diagnosticados en el transcurso del estudio presentaban al inicio, en el año 2001, glucosa en ayunas alterada y síndrome metabólico, siendo estas dos variables importantes predictoras de la enfermedad.

Otras variables como la actividad física y la alimentación que podrían estar implicadas en las variaciones de los FR, el SM y el riesgo para ECC, se encuentran actualmente en evaluación lo que junto al incremento en el número de casos estudiados, posterior a la evaluación del personal del Hospital Pediátrico, nos permitirá responder de forma más precisa el objetivo del estudio. Además, la evaluación de las variables analizadas en los trabajadores que desarrollaron DBT2 o ECC, como así también incapacidad o muerte permitirá tener un perfil más completo de cuales son los factores que se asocian en mayor forma a estos eventos.

CONCLUSIONES

Desde el inicio del estudio en el año 2001 se observa un incremento gradual de la frecuencia de los CMM para la ECV, siendo el CMHTA el parámetro que presentó el comportamiento más desfavorable. También es de señalar que en este periodo la frecuencia del SM aumentó significativamente, principalmente a expensas de la obesidad abdominal y la presión arterial elevada. Los determinantes que podrían explicar en parte este cambio son el incremento de la edad y el aumento de la obesidad general. Estos hallazgos podrían explicar la aparición de los casos de diabetes y ECV.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal de los Hospitales “Dr. Ramón Mada-riaga” y “Hospital de Pediatría Fernando Barreyro”, de la ciudad de Posadas, por la buena predisposición en la realización de los controles periódicos. Al Grupo GEIFRAM (grupo de estudio interdisciplinario de factores de riesgo aterogénico en Misiones) por su participación activa en el

desarrollo del trabajo. Al CEDIT por el otorgamiento de la beca de Investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Defunciones según grupo de edad, sexo y causa de muerte. Dirección de Estadísticas, Ministerio de Salud Pública de la provincia de Misiones. 2006.
2. Salud Mundial: Retos Actuales. Informe sobre la Salud en el Mundo. 2002.
3. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation*. 106:3143–3421. 2002.
4. Daviglius, M.; Kiang, L.; Greenland, P.; Dyer, A.; Garside, D.; Manheim, L.; Leen, P.; Rodin, M.; Lubitz, J.; Stamler, J. Benefit of a favorable cardiovascular risk-factor profile in middle age with respect to medicare costs. *The New England Journal of Medicine*. 339: 1120. 1998.
5. Laaksonen, D.; Lakka, H.; Niskanen, L.; Kaplan, G.; Salonen, J.; Lakka, T. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am. J Epidemiol*. 156:1070–1077. 2002.
6. Lakka, H.; Laaksonen, D.; Lakka, T.; Niskanen, L.; Kumpusalo, E.; Tuomilehto, J.; *et al.* The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 288: 2709–2716. 2002.
7. Smith, T. Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad. Edit Médica Panamericana. 1986.
8. Berenson, G.; Srinivasan, S.; Bao, W.; Newman, W.; Tracy, R.; Watligney, W. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N. Engl. J Med*. 338: 1650–1656. 1998.
9. Mc Hill H. Jr.; Mc Mahan, C. Atherothrombosis and Coronary Artery Disease. Fuster V. *et al.* 2º Ed. 2005.
10. Kannel, W.; Mc Gee, D.; Gordon, T. A general cardiovascular risk profile: The Framingham Study. *Am J. Cardiol*. 38:46–55. 1976.
11. Reunión de trabajo sobre la medición de la presión arterial: recomendaciones para estudios de población. Organización Panamericana de la Salud. 14(5): 303–305. 2003.
12. Farinola, M.; Rodríguez Papini, H. Utilización de la circunferencia de cintura como indicador del riesgo de padecer enfermedades asociadas a exceso de grasa intraabdominal. *Rev. Soc. Argentina de Diabetes*. 38(4): 225–231. 2004.
13. Sebastián-Gámbaro, María Ángeles; Lirón-Hernández, Francisco Javier; Fuentes-Arderiu, Xavier. Intra- and inter-individual biological variability data bank: references. Servei de Bioquímica Clínica Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain www.westgard.com/intra-inter3.htm.
14. Ford, E.; Giles, W.; Dietz, W. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 287: 356–359. 2002.
15. Álvarez, E.; Ribas, L.; Serra, L. Prevalencia del síndrome metabólico en la población de la Comunidad Canaria. *Med Clin (Barc)*. 120: 172–174. 2003.
16. Luquez, H.; De Loredo, L.; Madoery, R.; Luquez, H. (H); Senestrari, D. Síndrome metabólico: prevalencia en dos comunidades de Córdoba, Argentina, de acuerdo con definiciones ATP-III y OMS. *Fed. Arg. Cardiol*. 34: 80–95. 2005.
17. Primera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo. Ministerio de Salud de la Nación.
18. Lanas, F.; Avezum, A.; Bautista, L.; Díaz, R.; Luna, M.; Islam, S.; Yusuf, S. For the INTERHEART Investigators in Latin America Risk Factors for Acute Myocardial Infarction in Latin America The INTERHEART Latin American Study. *Circulation*. 115:1067–1074. 2007.
19. López Santi, R.; Valeff, E.; Duymovich, C.; Sancholuz, F.; Aliatta, A.; Mijailovsky, N.; Giachello, C.; Castro, L.; Becerra, C.; Gómez, C.; Riva, E.; Urrutia, M.; Costa Gil, J. Riesgo cardiovascular global de una población en un programa de prevención primaria *Rev. Fed. Arg. Cardiol*. 32: 358–367. 2003.
20. Zosi, M.; Di María, L.; Acuña, S. Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en la población general. *Fed. Arg. Cardiol*. 35:21–30. 2006.

Recibido: 17/05/08.

Aprobado: 29/07/08.

• Graciela Alicia Bonneau^{1,2}

Bioquímica (UNaM). Residencia en Bioquímica Clínica. Profesional Bioquímica de Planta Permanente del Laboratorio Central a cargo del sector de Hormonas y Marcadores Tumorales, Hospital Dr. Ramón Madariaga de Posadas, Misiones. Docente JTP Semiexclusiva de la materia Práctica Hospitalaria de la carrera de Bioquímica. Directora de tesinas de Grado. Docente de la Carrera de Especialista en Química Clínica Módulo “Lípidos y Lipoproteínas”. Responsable a cargo de alumnos pasantes y profesionales adscriptos.

Investigadora categoría IV Directora y Co-Directora de los Proyectos: Miembro y Fundadora del GEIFRAM (Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico de Misiones) Personería Jurídica N° A-2564.

(grabonneau@yahoo.com.ar).

- María Susana Castillo Rascón^{1,2}

Bioquímica, (UNaM) y Magíster en Salud Pública egresada de la UNNE, Bioquímica del Hospital Madariaga y Profesor Adjunto Ordinario de Práctica Hospitalaria, FCEQyN, UNaM. Docente de la Carrera de Especialista en Química Clínica Módulo “Lípidos y Lipoproteínas” y de la Carrera de Especialista en Microbiología, Módulo “Epidemiología”. Directora y Co-Directora de Proyecto de Investigación Incentivados. Miembro de la Comisión Directiva y fundador del Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico en Misiones” (GEIFRAM).

- Williams Rene Pedrozo^{2,3}

Bioquímico egresado de la UNaM. Becario del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT). Becario Nacional “Ramón Carrillo–Arturo Oñativia” y premiado por la Acade-

mía Nacional de Bioquímica por su labor. Ex residente y jefe de residentes de Bioquímica. Profesional Bioquímico del servicio de Banco de Sangre del Hospital Dr. Ramón Madariaga. Miembro y Fundador del GEIFRAM (Grupo de Estudio Interdisciplinario de Factores de Riesgo Aterogénico de Misiones) Personería Jurídica N° A-2564.

(wrpedro@yahoo.com.ar).

1– Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (UNaM).

2– Laboratorio Central Hospital Madariaga, Ministerio de Salud Pública de Misiones.

3– Becario del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT).

GUÍA PARA AUTORES

I. ALCANCE DE LA REVISTA

1) La Revista de Ciencia y Tecnología (Rev. cienc. tecnol.) publica artículos originales que representan una contribución para el desarrollo científico-tecnológico. Incluye trabajos de investigación básica y aplicada y de desarrollo tecnológico, revisiones bibliográficas de alto impacto, notas técnicas y, eventualmente, estudios de casos que por su relevancia ameriten publicarse¹.

2) Las áreas de incumbencia de la revista son las ciencias exactas, químicas y naturales con su correspondiente tecnología. La decisión última sobre la incumbencia de un artículo presentado, quedará a cargo del Consejo de Dirección (CD).

3) Los autores interesados en publicar artículos en la Rev. cienc. tecnol., deberán enviar sus trabajos de acuerdo con las normas que se estipulan más abajo.

4) Los artículos sometidos para publicación no deberán tener "Derechos de Autor" otorgados a terceros, a la fecha de envío del artículo. Caso contrario, el autor deberá gestionar, ante quien corresponda, la autorización por escrito para su nueva publicación en la Rev. cienc. tecnol.

5) Los conceptos y opiniones vertidos en los artículos publicados y del uso que otros puedan hacer de ellos, son de exclusiva responsabilidad de los autores, la cual se asume con la sola presentación del artículo enviado por los autores para su publicación. Los artículos se publicarán en castellano o inglés, con resúmenes, títulos y palabras clave en ambos idiomas.

II. PRESENTACIÓN Y REVISIÓN DE ARTÍCULOS

6) Los idiomas oficiales de la Rev. cienc. tecnol. son castellano e inglés. Los manuscritos en castellano deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Diccionario y la Gramática de la Lengua Española de la Real Academia Española en sus últimas ediciones. Se debe evitar el uso de términos en otros idiomas, si existe uno equivalente en castellano. Los manuscritos en inglés deberán ajustarse a las normas y usos gramaticales que establece el Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, aplicándose, aquí también, lo expresado respecto del español.

7) El manuscrito se presentará en formato electrónico como archivo tipo Word, anexo por correo electrónico a

la dirección: recyt@fceqyn.unam.edu.ar. El autor deberá presentar copia impresa con la última versión corregida de su artículo, en las oficinas del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CIDEt)², para facilitar la edición. Todas las comunicaciones con los autores (revisión y aceptación de artículos) se realizarán por correo electrónico.

8) Los trabajos presentados para publicar serán sometidos a una primera evaluación interna de incumbencia, calidad general y categoría a cargo del CD y posteriormente a una evaluación externa de pertinencia y calidad científica por miembros del Consejo de Edición, (CE). El CE está integrado por reconocidos especialistas en los temas de incumbencia de la Rev. cienc. tecnol.

9) El proceso general de evaluación consiste en una exhaustiva revisión crítica de los contenidos y la estructura del artículo, la recomendación, o no, de su publicación y eventuales correcciones.

10) El CD se reserva el derecho de rechazar el trabajo por no ajustarse a las áreas involucradas, no cumplir las normas establecidas o no poseer la calidad científica requerida. También se reserva el derecho de realizar modificaciones menores de edición para una mejor presentación final del trabajo.

11) El CD notificará al autor la aceptación o rechazo del artículo. De ser necesario, le solicitará que realice las modificaciones recomendadas para proceder a los trámites pertinentes previos a su publicación.

12) Los autores deberán realizar las correcciones y modificaciones requeridas por el CD y el CE en el plazo de 30 días. Los autores podrán solicitar al CIDEt aclaraciones a las correcciones. El CD decidirá sobre el particular, y realizará la revisión del trabajo modificado.

13) La aceptación del trabajo en su forma definitiva será comunicada por escrito a los autores. A partir de este momento no se aceptarán modificaciones, salvo solicitud explícita y fundamentada al CD.

14) Los trabajos originales quedarán en poder del CIDEt, se publiquen o no.

III. NORMAS DE ELABORACIÓN DE ORIGINALES

15) Los artículos completos deberán tener como máximo 6.000 palabras, 12 figuras y hasta 20 páginas. El CD podrá aceptar trabajos de mayor extensión en casos especiales. Las notas técnicas no deberán superar las 10

1- Un artículo se considera trabajo cuando representa el resultado y las conclusiones de una investigación completa. Este tendrá categoría de nota técnica cuando trate de cuestiones como calibraciones, propuestas metodológicas, opiniones sobre normas, resolución de problemas operativos, etc.

2- Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales - Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552 (3300) Posadas, Misiones, Argentina.

páginas. En todos los casos deberá utilizarse letra tipo Arial tamaño 11 puntos, y formato de hojas tipo A4, numeradas en el margen inferior derecho, con interlineado doble, sin separación automática de sílabas al fin de línea y con los cuatro márgenes de 2,5 cm.

16) Las tablas y figuras deberán insertarse en el texto del artículo y deberán ubicarse lo más cerca posible del sitio en el que son mencionadas. De acuerdo con su tamaño, podrán presentarse por separado, correctamente identificadas. Las figuras escaneadas deberán estar en formato TIFF y EPS, con 300 dpi de resolución. El CD podrá pedir a los autores, una vez aceptado el trabajo, que entregue las imágenes y los gráficos del artículo, con el formato, tamaño, dimensiones, resolución, etc. necesarios para la edición.

17) Los artículos científico-técnicos se organizarán siguiendo el esquema general en orden sucesivo: título en castellano, nombres del (los) autores, nombres y direcciones de la institución a la que pertenecen, título en inglés, resumen y palabras clave en inglés, resumen y palabras clave en castellano. Posteriormente, en el idioma que corresponda, introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, (juntos o separados), conclusiones, lista de abreviaturas (si corresponde), agradecimientos, referencias y apéndices o anexos (si corresponde).

18) Título en castellano: deberá ser breve (no mayor de 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en inglés.

19) Autores: se colocarán los autores separados por punto y coma, situando primero el o los apellidos seguidos de una coma, y a continuación, el primer nombre e inicial del segundo con un punto.

20) Dirección: debajo de los autores se indicará la institución a la que pertenecen o dónde fue llevado a cabo el trabajo. Si los autores pertenecen a distintas instituciones, luego de cada nombre se colocará un número entre paréntesis, estableciéndose así la referencia a las instituciones y sus respectivas direcciones. Se sugiere incluir los nombres de las secciones y dependencias imprescindibles. Señalar, entre paréntesis, las direcciones electrónicas personales.

21) Título en inglés: deberá ser breve (no mayor de 15 palabras), conciso y reflejar aspectos específicos del trabajo. Deberá corresponderse con el título en castellano.

22) Resumen en inglés (abstract): deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en castellano.

23) Palabras clave en inglés (Key words): el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma inglés, que servirán para catalogarlo en las bases de datos.³

24) Resumen en castellano: deberá ser una condensación de todas las partes del trabajo en 150 palabras como máximo, sintetizando los objetivos, los métodos, los resultados y las conclusiones. Debe corresponderse al contenido del Resumen en inglés.

25) Palabras clave en castellano: el artículo deberá contener 5 palabras clave en idioma castellano, que servirán para catalogarlo en las bases de datos.³

26) Introducción: debe presentar claramente el tema, haciendo solamente referencia a los antecedentes bibliográficos de interés. Los objetivos y las hipótesis deberán estar adecuadamente explicados.

27) Materiales y Métodos: el trabajo deberá describir en forma completa los materiales y metodologías utilizados. Las normas reconocidas deberán ser citadas pero no explicadas. Las técnicas publicadas deberán presentar en forma resumida sus características principales y las referencias correspondientes. Deberán detallarse todas las modificaciones efectuadas a cualquier norma o técnica.⁴

28) Resultados y Discusión: estas dos secciones podrán incluirse juntas o separadas. Los resultados se expondrán con estilo conciso y fácilmente entendible. La discusión de los resultados incluirá la comparación con resultados previos (propios o de otros autores, con las referencias correspondientes). Se deberá evitar la duplicación de información en tablas y gráficos.

29) Conclusiones: deben presentarse en párrafos cortos y concretos. No deben hacer referencia a trabajos futuros ni a hipótesis no incluidas en el trabajo.

30) Agradecimientos: podrán incluirse a los organismos que financiaron el trabajo, así como a los colaboradores y al personal técnico o especializado, especificando las tareas realizadas por cada uno. Como referencia institucional de los autores se colocará el nombre completo de la entidad y la sigla entre paréntesis, por ejemplo, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

31) Referencias: las citas bibliográficas deberán consignarse con números correlativos colocados entre corchetes o paréntesis, de tamaño igual al del texto. El texto puede incluir nombres de autores, pero conjuntamente figurar el número de referencia bibliográfica correspondiente. En el ítem correspondiente, se consignarán según el orden en que aparezcan en el texto. No se incluirán referencias que no figuran en el texto. Las referencias se colocarán según el estilo de la disciplina correspondiente, figurando, en todos los casos: apellido e iniciales de los nombres de los autores en ese orden; nombre de la publicación periódica completo o con las abreviaturas oficiales; volumen; número, páginas inicial y final, año de publicación⁵. En el caso de libros: nombre; capítulo; editorial, páginas y año de edición. Las

3- Si la disciplina que trata el artículo posee tesauros publicados, se sugiere utilizarlos para la definición de las palabras clave.

4- El criterio general es que con los datos de este ítem se pueda replicar correctamente el trabajo experimental.

5- Además de las que poseen signatura, se podrán colocar referencias inéditas o en prensa (indicando la revista en que se publicarán), comunicaciones personales y páginas web.

páginas web deberán tener la fecha de consulta.

Ejemplos orientativos:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P y Wharton D. *Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set*. Appl. Environm, Chem. 48: p. 993-998.1994.

2. Cole, R.J. y Cox R.H. *Handbook of Toxic Fungal Metabolites*. Assoc.Press, New York. p 356-379.1981.

3. Cotty, P.J. *Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus*. K.A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1-27.1994.

4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell.edu/data-sets/crops/9X100> (verified 30 Nov. 1998).

32) Apéndices o Anexos: se reservan para detallar técnicas originales utilizadas o análisis teóricos que impedirían seguir fluidamente el trabajo si se incluyeran en el texto. Las tablas de los apéndices pueden llevar números correlativos con los del texto o comenzar otra numeración.

33) Figuras: las figuras (gráficos, cuadros, fotografías, otros) deberán numerarse correlativamente en orden de aparición en el texto y deberán incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la figura. Las imágenes y fotografías se designarán como figuras.

34) Tablas: las tablas deberán numerarse correlativamente según su orden de aparición en el texto y en forma independiente de las figuras. Deberán incluir un título explicativo en su parte superior. De ser necesario se agregarán al pie notas explicativas para detallar abreviaturas, signos, medidas, otros, de tal manera que el lector pueda comprender su contenido sin recurrir al texto.

35) Fórmulas: las fórmulas y expresiones matemáticas deberán ser escritas dejando dos espacios sobre, debajo y entre cada una de ellas. Las fórmulas se ajustarán al margen izquierdo y serán numeradas correlativamente y entre paréntesis sobre el margen derecho. Debe quedar definido el significado y las unidades utilizadas en cada término de las expresiones.

36) Unidades: debe utilizarse el sistema internacional de unidades (SI).

37) Presentar además:

- Un título resumido del trabajo, de 9 palabras como máximo.

- Datos de los autores: apellido y Nombres; Título de Grado; Estudios de Posgrado; Cargo / Posición en el lugar de trabajo; Categoría en el Sistema de Incentivos a los Docentes – Investigadores (si es argentino) o similar.

GUIDE FOR CONTRIBUTORS

I. SCOPE OF THE JOURNAL

1) The Science and Technology Journal (Rev. cienc. tecnol.) publishes original articles which represent a contribution to scientific and technological development. It includes basic and applied research and technological development works, bibliography reviews of high impact, technical notes, and occasionally, case studies deserving being published because of their relevance¹.

2) The areas of coverage of the Journal are the exact, chemical and natural sciences with their corresponding technology. The ultimate decision about the pertinence of an article submitted, will be in charge of the Board of Director (BD).

3) Contributors interested in publishing articles in the Rev. cienc. tecnol. will submit their work in accordance with the norms specified below.

4) The articles submitted for publication should not have "copyright" granted to third party, to the date of submission of the article. If so, the contributor will have to obtain, before whom it may concern, the written authorization for this new publication in the Rev. cienc. tecnol.

5) The concepts and opinions expressed in the articles published and the use others could make of them are of exclusive responsibility of the contributors, which is assumed from the contributors solely submitting the article for its publication. The Journal will be published in Spanish and English, with titles, abstracts and keywords in both languages.

II. SUBMISSION AND REVIEW OF ARTICLES

6) The official languages of the Journal are Spanish and English. The manuscripts in Spanish will follow the grammar rules and usage established by the latest edition of the Diccionario de la Real Academia Española. Terms in foreign languages must be avoided, if an equivalent expression in Spanish exists. The manuscripts in English will follow the grammar rules and usage established in the Longman Dictionary of Contemporary English 4th Edition, being applied here what is mentioned about the Spanish language.

7) The manuscript will be submitted in electronic format as a Word file, as e-mail attachment, to recyt@fceqyn.unam.edu.ar. The autor must present 1 (one) printed copy of the last version of the article, to the Centro de Investi-

gación y Desarrollo Tecnológico (CIDeT)², to facilitate its edition. All communications with the authors (revision and articles acceptance) will be done by email.

8) The works for publication will be submitted to a first internal evaluation of pertinence, general quality and category in charge of the BD, and subsequently to an external evaluation of relevance and scientific quality by members of the Editing Board (EB). The EB is made up of well-known specialists in their corresponding fields from the Rev. cienc. tecnol.

9) The general process of evaluation consists of a detailed critical review of the contents and the structure of the article, the recommendation or not of its publication, and occasional corrections.

10) The BD reserves the right to reject the work which does not belong to the areas involved, does not follow the norms established or does not have the scientific quality required. Also, it reserves the right to carry out minor modifications of edition for a better final presentation of the work.

11) The BD will notify al author the acceptance or rejection of the article. If necessary, they will be requested to carry out the modifications suggested to proceed to the pertinent procedures prior to publication.

12) Contributors will carry out the corrections and modifications required by the BD and the EB within 30 days. Contributors will be able to request explanations for the corrections to the CIDeT. The BD will decide in this case, and will carry out the review of the rewritten work.

13) The acceptance of the work in its definitive form will be communicated to the contributors in written form. Since then, modifications will not be accepted, except explicit and justified request before the BD.

14) The original works will remain at the CIDeT, whether published or not.

III. MANUSCRIPT WRITING RULES

15) The maximum number of words for each article is 6.000 words, 12 figures and up to 20 pages. The BD could accept longer contributions in special cases. The technical notes should not be over 10 pages. In all cases, Arial font 11, and sheet size A4 should be used, numbered on the right lower margin, double spaced and the four margins of 2.5 cm.

1- An article is considered a piece or work when it presents the result and the conclusions of a complete research work. This will have the category of technical article when it treats issues like calibrations, methodological proposals, opinions on norms, resolution of operative problems, etc.

2- Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552 (3300) Posadas, Misiones, Argentina.

16) Tables and figures will be inserted in the text and located as close as possible to the place where they are mentioned. According to their size, they could be presented separately, appropriately identified. The scanned figures will be in TIFF and EPS, and with 300 dpi of resolution. The BD could ask contributors, once the work has been accepted, to submit the figures and the graphs of the article, with the format, size, dimensions, and resolution, etc., necessary for editing.

17) The scientific-technical articles will be organized following the general plan in successive order: title, names of contributor/s, names and addresses of their institution, title, abstract, summary, keywords in English, summary and keywords in Spanish. Afterwards, in the corresponding language: introduction, materials and methods, results and discussion (together or separate), conclusions, list of abbreviations (if pertinent), acknowledgements, references and appendices or attachments (if pertinent).

18) Title in Spanish: it will be brief, (no longer than 15 words), concise and it will reflect specific aspects of the work. It will correspond to the title in English.

19) Contributors: names of contributors will appear separated by semicolons, mentioning surname/s first followed by a comma, next the first name and initial of the middle name followed by a stop.

20) Address: under the name of the author, the name of the institution of the contributor or the place where the work was carried out will appear. If they belong to different institutions, a number between brackets after each name will indicate their institutions and their respective addresses. The inclusion of the names of essential departments/organizations is recommended. Also, personal e-mail addresses will be included between brackets.

21) Title in English: it will be brief (no more than 15 words), concise and will reflect specific aspects of the work. It will correspond to the title in Spanish

22) Abstract in English: the abstract will reflect the content of the work written in English.

23) Key words: key words must be expressed in English.³

24) Summary in Spanish (resumen): all parts of the work will be condensed into no more than 150 words, summarizing the objectives, the methods, the results and the conclusions. It will correspond to the abstract in English

25) Key words in Spanish (palabras clave): the article will include 5 key words in English and Spanish which will make it possible to catalogue it in the databases³.

26) Introduction: it will clearly present the topic, making reference only to bibliographic references of interest. The objectives and hypotheses of the work will be prop-

erly described.

27) Materials and Methods: the contribution will thoroughly describe materials and methods used. Well-known rules will be cited only but not explained. The published techniques must briefly present the main characteristics and the corresponding references. Modifications made to any technique will be fully detailed.⁴

28) Results and Discussion: both sections can be included together or separately. The results will be shown with a concise and easily comprehensible style. The discussion of the results will include the comparison with previous results (own or of other authors' results, with the corresponding references). Duplication of information in charts and graphs will be avoided.

29) Conclusions: they will be presented in concrete short paragraphs. They will refer neither to future works nor to hypotheses not included in the work.

30) Acknowledgements: organisms financing the work may be included, as well as collaborators, and specialized or technical personnel, specifying the task performed by each of them. In the contributor's affiliations, the full name of the entity with its acronym between brackets, for example, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) will be admitted.

31) References: the bibliography will be mentioned and numbered with the number between round or square brackets, with the same font of the text. Names of authors may be included in the text but together with the corresponding bibliographic reference number. In the corresponding item, they will be mentioned in the order of appearance in the text. References not used in the text will not be included. As regards the reference format, they will appear according to the corresponding disciplines, appearing in all cases, the surname and the initials of the names of the authors will be mentioned in this order; full name of the journal or their official abbreviations; issue, number, first and last pages, year of publication⁵. In the case of books: name; chapter; publisher, page number and editing year. Web pages will contain date of access.

Guiding examples:

1. Atanassov, Z; Zheringe, P and Wharton, D. *Evaluation of Wheat Response to Fusarium Head Blight Bases on Seed Set*. Appl. Environm, Chem.48: p. 993-998. 1994.

2. Cole, R.J. and Cox, R.H. *Handbook of Toxic Fungal Metabolites*. Assoc. Press, New York. p 356-379. 1981.

3. Cotty, P. J. *Agriculture, Aflatoxins and Aspergillus in The genus Aspergillus*. K.A. Powll, Editor. Plenum Press, New York. p 1-27.1994.

4. National Agricultural Statistics Service (1997) Crops county data [Online]. Available at <http://usda.mannlib.cornell>.

3- If the article belongs to a discipline with publisher tesauri, they should be used for the definition of key words.

4- General criteria assumes with data from this item experimental work could appropriately replicated.

5- Besides the ones having catalogue number, unpublished references or in press (indicating the journal where they will be published), personal communications and web pages will possibly be added.

edu/data-sets/crops/9X100 (verified 30 Nov. 1998)

32) Appendices or Attachments: they are reserved to give details on original techniques used or theoretical analyses which could hamper understanding of the work, should they be included in the text. The tables in the appendices can follow the numbering of the text or they can have a different numbering.

33) Figures: (diagrams, graphs, photographs and others) will have a running numbering in the order they appear in the text and they should include a brief explanatory title below. Photographs will be considered figures.

34) Tables: they will have running numbers according to the order in which they appear in the text and independently from the figures. They will include an explanatory title above them. If necessary, footnotes will appear to give more details about abbreviations, signs, measures and others, in such a way that the reader can understand their

content without going to the text.

35) Formulae: formulae and mathematical expressions will be written leaving double space over, below and between them. Formulae will be on the left margin and they will have running numbering between brackets on the right margin. The meaning and the units used will be clearly defined in every term of the expressions.

36) Units: the international system of units (IS) must be used.

37) Also submit:

- A summarised title of the work in no more than nine words.

- Contributors' details: Surname and Names; Graduate Degree; Post-Graduate Studies; Place of Work; Position; Category in the Incentive System – Researchers (if he/she is Argentinean) or alike.

**CONFIRMACIÓN DE AUTORÍA Y DERECHOS DE PUBLICACIÓN
al presentar un trabajo, completar y enviar por fax a la revista**

Fecha: _____

Los autores del trabajo titulado:

confirman a través de sus firmas al final del texto que:

1. este trabajo no fue enviado para publicación a ninguna otra revista científica;
2. cada autor leyó y aprobó el trabajo enviado;
3. si el trabajo pudiera afectar los derechos humanos, o ser causa de un eventual daño al medio ambiente, a los animales y/o a las generaciones futuras, los autores deberán informar las previsiones tomadas para evitar riesgos emergentes y garantizar el buen uso y manejo de la información,
4. eventuales contenidos del texto o figuras u otras partes del manuscrito tomados de otras publicaciones están debidamente citados y en caso necesario, los permisos para publicaciones de tales partes son de responsabilidad de los autores;
5. en el caso específico de la Investigación Biomédica, los investigadores deben conocer y realizar las salvaguardas previstas en todos los requisitos éticos, legales y jurídicos, establecidos en las normas bioéticas nacionales e internacionales¹,
6. los autores no tienen conflictos personales, financieros u otro tipo de conflictos de intereses y no han realizado ningún acuerdo que pueda interferir con el acceso a los datos de la investigación.

Nombre completo	Firma	Dirección electrónica

**CONFIRMATION OF AUTHORSHIP AND PUBLICATION REGULATIONS
When submitting a manuscript, please complete and fax to the journal**

Date: _____

The authors of the manuscript entitled:

by signing at the end of this text, certify that:

1. This article has not been previously published and is not under consideration for publication elsewhere;
2. All authors have seen and approved the manuscript being submitted,
3. If the article affects the human rights in any way, or is a reason of possible damage to the environment, animals and/or future generations, the authors will have to inform the precautions taken to avoid consequent risks and to guarantee the good use and managing of the information,
4. Contents of the text or figures or other parts of the manuscript taken from other publications should be declared when submitting; and in such a case, the permissions for publications of those parts are the author's responsibility;
5. In the specific case of the Biomedical Research, the investigators must know and be sure about all the ethical, legal and juridical requirements, established in the national and international bioethical procedures²,
6. The authors have no personal, financial or another type of conflicts of interests and have not assumed any agreement that could interfere with the access to the information of the research.

Full Name	Signature	e-mail

1- Nacionales: Disposición ANMAT 5330/97. Internacionales: Código de Núremberg, Declaración de Helsinki y sus modificaciones, Declaración Universal sobre Genoma Humano y Derechos Humanos aprobada por la Conferencia General de la UNESCO, del 11 de noviembre de 1997.
2- National: ANMAT 5330/97 file. International: Núremberg Code; Helsinki's declaration with modifications, Universal Declaration about Human Genome and Rights proved by UNESCO General Conference; on November 11th, 1997.

