

Revista Uruguaya de Patología Clínica

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE PATOLOGÍA CLÍNICA
CASILLA DE CORREO 6147

DIRECTOR

Walter Allalón
Av. Italia s/n Hospital de Clínicas P1
11.600, Montevideo. Uruguay
allalón@internet.com.uy

COMITE CONSULTIVO

Lucas Acosta
Cristina Bazet
Roberto De Bellis
Luis Borche
Luis Calegari
Ismael Conti
Carlos Ghiggino
Luis Hierro
Nelson Reissenweber
Ricardo Roca
Felipe Schelotto
David Sempol

COMISION DIRECTIVA

Presidenta:
Silvia Pigni
Vice presidente:
Ramón Suarez
Secretaria General:
Cristina Mier
Tesorera:
Blanca Steffano
Secretaria de Actas:
Raquel Ballesté

Editorial

El artículo científico como elemento multiplicador del conocimiento nos exige día a día mayores responsabilidades en la publicación de esta revista, órgano oficial de la Sociedad Uruguaya de Patología Clínica.

En las últimas páginas de este volumen se indican las normas de publicaciones corregidas a las exigencias internacionales de una revista arbitrada al respecto, que otorga un mejor reconocimiento al artículo científico y por ende a esta publicación.

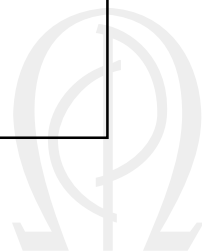
La honestidad, la ética y la exigencia científica reflejada en los artículos constituyen una forma más de incrementar el acervo científico nacional y su reconocimiento internacional.

E
d
i
t
o
r
i
a
l

LA SOCIEDAD URUGUAYA DE PATOLOGÍA CLÍNICA ESTÁ AFILIADA A LA WORD ASSOCIATION OF PATHOLOGY (WASP),

A LA ASOCIACIÓN MÉDICA DEL URUGUAY (INTEGRANTE DE LA AGRUPACIÓN UNIVERSITARIA DEL URUGUAY)

Y A LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA (ALAPAC)





Sumario

| | |
|---|-----------|
| Editorial | 1 |
| Relación entre el contenido tumoral de Receptores Esteroideos y los niveles circulantes de Prolactina, IGF-1 y Hormona de Crecimiento en pacientes con cáncer mamario..... | 5 |
| Delgado L(1)(2), Alonso O(3), Alonso I(1), Artagaveytia N(2) (4), Alvarez B(3), Román E(4), Garófalo E(4), Sabini G(1), Roca R(2), Musé IM(1). | |
| Análisis de anticuerpos ANTIHLA en 7 poblaciones de insuficientes renales crónicos en lista de espera para trasplante renal. | 13 |
| Toledo R. Alvarez I., Bengochea M., Carretto E. Laboratorio de Histocompatibilidad B.N.O.T Facultad de Medicina M.S.P. Montevideo Uruguay. | |
| Bacteriuria por Enterococcus faecium resistente a la Vancomicina. Primera comunicación en Uruguay de Enterococcus faecium resistente a los glicopéptidos. Revisión. | 23 |
| Bazet C(*), Soca A(**), Bono C(**), Velazquez JL(*), Bentancourt S(**). | |
| Endolimax nana (Wenyon & O'Connor,1917) (Amoebida, Endamoebidae) su presencia en la casuística del Hospital de Clínicas, consideraciones sobre su papel patógeno. | 35 |
| Salvatella,R; Eirale,C.; Balleste,R. | |
| Sección informativa | 45 |
| Normas de presentación de manuscritos a la Revista. | 46 |





Relación entre el contenido tumoral de Receptores Esteroideos y los niveles circulantes de Prolactina, IGF-1 y Hormona de Crecimiento en pacientes con cáncer mamario.

Delgado L⁽¹⁾⁽²⁾, Alonso O⁽³⁾, Alonso I⁽¹⁾, Artagaveytia N⁽²⁾⁽⁴⁾, Alvarez B⁽³⁾, Román E⁽⁴⁾, Garófalo E⁽⁴⁾, Sabini G⁽¹⁾, Roca R⁽²⁾, Musé IM⁽¹⁾.

(1) SERVICIO DE ONCOLOGÍA CLÍNICA, HOSPITAL DE CLÍNICAS, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) DEPARTAMENTO BÁSICO DE MEDICINA, HOSPITAL DE CLÍNICAS, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(3) CENTRO DE MEDICINA NUCLEAR, HOSPITAL DE CLÍNICAS, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(4) LABORATORIO DE RECEPTORES HORMONALES, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

CORRESPONDENCIA A:

DRA. LUCÍA DELGADO

SERVICIO DE ONCOLOGÍA CLÍNICA, HOSPITAL DE CLÍNICAS

AVDA. ITALIA S/N, MONTEVIDEO 11600, URUGUAY.

TELÉFONO/ FAX: (598-2) 487 20 75

EMAIL: LDELGADO@HC.EDU.UY

RECIBIDO 31/7/2001, REVISIÓN RECIBIDA 4/9/2001, ACEPTADO 10/9/2001

RESUMEN

Además de los estrógenos, la prolactina (PRL), el factor de crecimiento insulino símil tipo 1 (IGF-1) y la hormona de crecimiento (GH), parecen jugar un papel importante en la regulación del crecimiento del cáncer mamario.

El objetivo del presente estudio fue determinar si el contenido tumoral de receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) está relacionado con los niveles séricos de PRL, IGF-1 y hGH en pacientes con cáncer de mama.

Se estudiaron 90 pacientes portadoras de cáncer mamario primario. Se midieron los niveles séricos preoperatorios de PRL (n=90), GH (n=89) e IGF-1 (n=45) mediante estudios radioinmunológicos y se determinó el contenido de RE y de RP mediante la técnica de competición usando ligandos radiactivos (método DCC). La significación estadística de la asociación entre las variables fue calculada mediante el test de Spearman.

Se encontró una correlación negativa significativa entre los niveles de PRL y de RE (p=0.011). Asimismo se documentó una correlación negativa entre los niveles de IGF-1 y los de RE (p=0.002) y RP (p=0.018).

Estos resultados están a favor de la importancia de la PRL en la regulación de los RE y sugieren que IGF-1 puede tener un papel significativo en la regulación de la expresión de ambos receptores esteroideos en el cáncer mamario. Así, tanto los niveles de PRL como los de IGF-1 pueden ser factores a tomar en cuenta en la predicción de la hormonosensibilidad del cáncer mamario.

Palabras claves: receptor de estrógenos, receptor de progesterona, prolactina, hormona de crecimiento, IGF-1, cáncer de mama.



ABSTRACT

In addition to estrogens, Prolactin (PRL), Insuline-like growth factor 1 (IGF-1) and Human Growth Hormone (GH) seem to play an important role in the growth regulation of breast cancer.

The aim of the present study was to evaluate if estrogen and progesterone receptor (ER, PR) contents of breast carcinomas were related to serum levels of PRL, GH and IGF-1.

We studied 90 patients with primary breast cancer. Preoperative serum measurements of PRL (n=90), GH (n=89) and IGF-1 (n=45) were performed by radioimmunologic methods. ER and PR tumor levels were determined by binding assay using radioactive ligands (DCC method). Statistical association was assessed by the Spearman test.

We found a significant negative correlation between PRL and ER levels ($p=0.011$). Furthermore, a significant negative correlation was also observed between IGF-1 and ER levels ($p=0.002$), and with PR levels ($p=0.018$).

These findings are in favour of the importance of PRL in ER regulation and suggest a possible role for IGF-1 in the regulation of both receptors in breast cancer. Therefore, both PRL and IGF-1 serum levels may be factors to consider when evaluating hormone sensitivity in breast cancer patients.

Key words: estrogen receptors, progesterone receptors, prolactin, human growth hormone, IGF-1, breast cancer.

INTRODUCCION

Además de los estrógenos, la prolactina (PRL), la hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento insulino símil tipo 1 (IGF-1), tienen propiedades mitogénicas sobre líneas celulares de cáncer mamario e interactúan con los estrógenos para controlar la proliferación de las células tumorales estrógeno-dependientes. Más aún, varios estudios demuestran que estos ligandos y sus receptores específicos pueden ser expresados por las células tumorales mamarias humanas y por lo tanto que PRL, GH e IGF-1 pueden tener un papel autócrino/parácrino, además del endócrino en el cáncer mamario humano (1-10).

En los últimos años, gran parte de los estudios sobre la relevancia clínica de PRL, GH e IGF-1 en el cáncer mamario han evaluado los niveles circulantes de estos ligandos en pacientes portadoras de esta enfermedad y en controles sanas, así como su valor pronóstico, con resultados discordantes (11-22)

En contraste, el valor pronóstico de la determinación del receptor de estrógenos (RE) y del receptor de progesterona (RP) a nivel tumoral ha sido bien documentado, siendo la presencia y niveles de estas proteínas, un indicador de pronóstico favorable (23,24). Más aún, el nivel de RE y RP en el cáncer mamario constituye el principal factor predictivo de la eficacia de la hormonoterapia en esta enfermedad, tanto en el contexto adyuvante como en el tratamiento de los estadios avanzados (25-29).

El objetivo del presente estudio fue determinar si el contenido tumoral de receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) está relacionado con los niveles séricos preoperatorios de PRL, IGF-1 y GH en pacientes con cáncer de mama. Los resultados obtenidos actualizan reportes preliminares (19,22), con un mayor número de pacientes e incluyendo determinaciones de IGF-1.



PACIENTES Y METODOS

Pacientes

Se estudiaron 90 pacientes portadoras de cáncer mamario primario con confirmación histológica y que otorgaron su consentimiento informado para participar en el estudio. La edad mediana fue 59 años (rango: 32-85 años). La mayoría de las pacientes fueron postmenopáusicas (n=66; 73%).

Fueron excluidas del estudio las pacientes portadoras de condiciones capaces de modificar los niveles de PRL, GH o IGF-1 (ej: tratamiento en los 6 meses previos a la incorporación al estudio con neurolépticos, morfina, hormonas tiroideas, corticosteroides, anticonceptivos orales; antecedentes de ooforectomía, diabetes mellitus, embarazo o lactancia en los 6 meses previos).

Dosificaciones de PRL, GH e IGF-1

Las muestras de sangre fueron obtenidas el día previo a la cirugía y entre las 9:00 AM y 11:00 AM para evitar las variaciones hormonales diurnas. El suero fue separado dentro de las 2 horas siguientes a la extracción y almacenado a -20°C hasta el análisis, en general dentro de los 15 días siguientes.

Las dosificaciones de los niveles séricos de PRL y GH fueron realizadas mediante radioinmunoensayo (RIA) de doble anticuerpo utilizando kits comerciales (DPC, Los Angeles, CA). Las determinaciones de IGF-1 fueron llevadas a cabo mediante ensayo inmunoradiométrico (IRMA) utilizando un kit comercial (Cis Bio International, Francia). Las variaciones intra e inter-ensayo fueron 3.2% y 7.5% para PRL, 2.8% y 5.3% para GH, 2.1% y 6.4% para IGF-1. En todos los casos las determinaciones fueron realizadas por duplicado. Mientras que la PRL fue determinada en todas las pacientes, la GH fue determinada en 89 pacientes y el IGF-1 en las últimas 45 pacientes incorporadas al estudio.

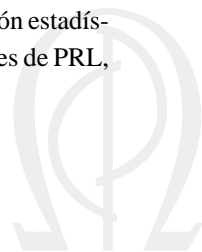
Contenido tumoral de RE y de RP

Los especímenes de tumores mamaros obtenidos durante la intervención quirúrgica fueron almacenados inmediatamente a -80°C .

El contenido tumoral de RE y RP se determinó mediante la técnica de competición (método DCC) usando como ligandos tritados, 17 β estradiol y ORG 2058 (Amersham, UK), de acuerdo al método previamente descrito (8). Los resultados fueron expresados en fmol/mg de proteína citosólica. Para ambos receptores, fueron consideradas positivas las muestras cuyo contenido fue superior a 10 fmol/mg de proteína.

Análisis estadístico

La significación estadística de las diferencias entre grupos se calculó mediante el test de Mann Whitney y el test de Chi cuadrado para el análisis de las variables cuantitativas y cualitativas respectivamente. Con la finalidad de calcular la significación estadística de las asociaciones entre los niveles de receptores y los niveles circulantes de PRL, GH e IGF-1 se utilizó el test de Spearman.



RESULTADOS

1- Relación entre el contenido tumoral de Receptores Esteroideos y los niveles circulantes de PRL y GH.

En la tabla 1 se muestra la distribución de las pacientes según el estado menopáusico y de los receptores de estrógenos y de progesterona. Si bien los tumores RE+/RP+ fueron más frecuentemente observados entre las pacientes premenopáusicas, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por otra parte, el porcentaje de pacientes con RE-/RP- fue el mismo en pre y postmenopáusicas.

Tabla 1. Distribución de las pacientes (n=90) según el estado menopáusico y de los receptores esteroideos.

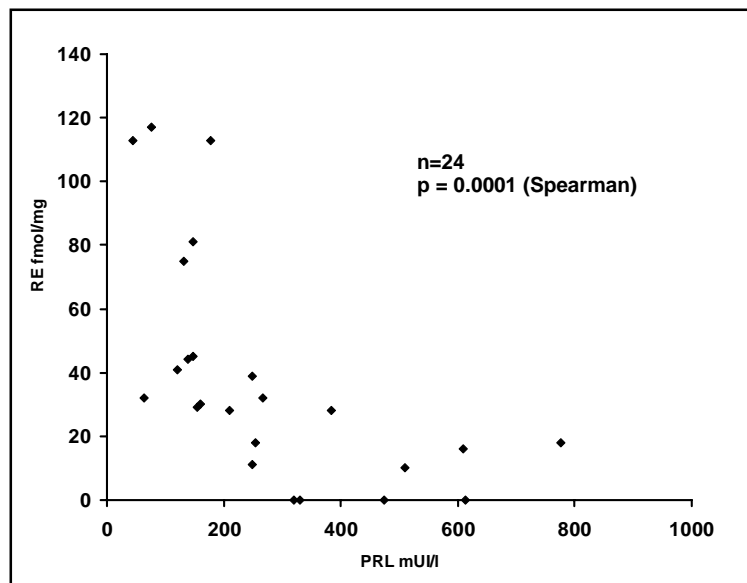
| Estado menopáusico | RE+RP+ | RE+RP- | RE-RP+ | RE-RP- |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Pre menopáusicas (n=24) | 71% | 12% | 0% | 17% |
| Postmenopáusicas (n=66) | 51% | 30% | 2% | 17% |

Tabla 2. Niveles séricos de PRL y de GH en relación al estado de los receptores esteroideos.

| Hormona | RE-RP- | RE+RP-/RE-RP+ RE+RP+ |
|---------------|---------------|-------------------------|
| PRL mUI/l (1) | 426 (320-612) | 204 (136-283) (2) |
| GH ng/ml (1) | 0.80 (0-2.5) | 0.85 (0-1.9) |

(1) mediana (Q1-Q3)
(2) p=0.0003

Figura 1. Niveles Séricos de PRL y Niveles de RE en Pacientes Premenopáusicas con Cáncer de Mama



En las pacientes con tumores RE-/RP- se encontraron niveles de PRL significativamente más elevados comparados con aquéllos observados en las pacientes portadoras de tumores con al menos un receptor positivo ($p=0.0003$). No se observaron diferencias en los valores de GH (Tabla 2).

Además, se encontró una correlación negativa significativa entre los niveles circulantes preoperatorios de PRL y el contenido tumoral de RE ($r_s = 0.54, p=0.011$). Dicha correlación fue mejor en las pacientes premenopáusicas ($r_s = 0.80, p=0.0001$) (Figura 1). No se observó correlación entre los niveles circulantes de PRL y el contenido tumoral de RP.

2- Relación entre el contenido tumoral de Receptores Esteroides y los niveles circulantes de IGF-1.

Se estudiaron 45 pacientes cuya edad mediana fue 60 años (rango 38-82). La distribución de las mismas de acuerdo al estado menopáusico y de los receptores se muestra en la Tabla 3. Sólo 7 de las 45 pacientes fueron premenopáusicas. La proporción de pacientes con ambos receptores negativos fue similar.

En el grupo de pacientes portadoras de tumores RE-/RP- los niveles séricos de IGF-1 fueron significativamente más elevados que los observados en el grupo de pacientes portadoras de tumores con al menos un receptor positivo ($p=0.001$) (Tabla 4).

Asimismo se documentó una correlación negativa entre los niveles séricos de IGF-1 y el contenido tumoral de RE ($r_s = 0.70, p=0.002$) y de RP ($r_s = 0.50, p=0.018$) (Figuras 2 y 3).

Tabla 3. Distribución de las pacientes con determinaciones del nivel sérico de IGF-1 ($n=45$) según el estado menopáusico y de los receptores esteroideos.

| Estado menopáusico | RE+RP+ | RE+RP- | RE-RP+ | RE-RP- |
|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Pre menopáusicas ($n=7$) | 86% | 0% | 0% | 14% |
| Postmenopáusicas ($n=38$) | 55% | 24% | 5% | 16% |

Tabla 4. Niveles séricos de IGF-1 en relación al estado de los receptores esteroideos.

| Hormona | RE-RP- | RE+RP-/RE-RP+ RE+RP+ |
|-----------------|---------------|-------------------------|
| IGF-1 ng/ml (1) | 200 (185-288) | 118 (91-150) (2) |

(1) mediana (Q1-Q3)

(2) $p=0.001$



Figura 2. Niveles Séricos de IGF-1 y Niveles de RE en Pacientes con Cáncer Mamario

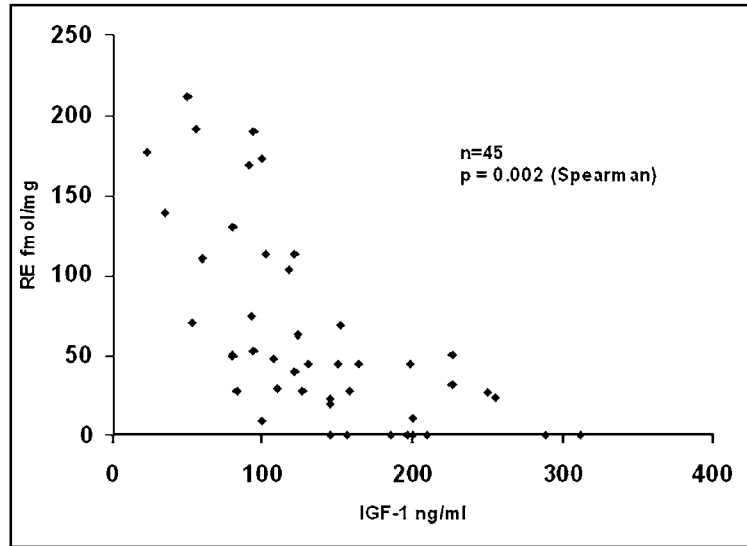
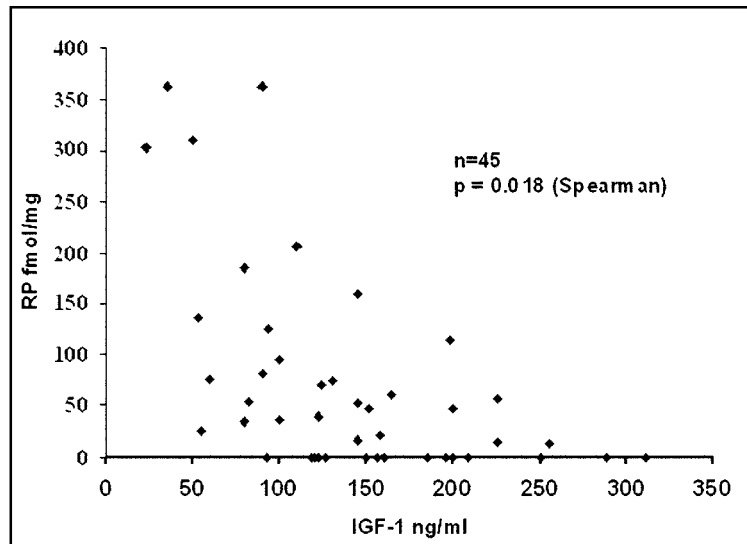


Figura 3. Niveles Séricos de IGF-1 y Niveles de RP en Pacientes con Cáncer Mamario



DISCUSION

El hallazgo de niveles más elevados de PRL en pacientes con tumores RE-RP- y de una correlación negativa entre los niveles séricos de PRL y los tumorales de RE constituyen observaciones interesantes dado el valor pronóstico y predictivo de la respuesta a la endocrinoterapia de los niveles tumorales de RE (25-29). Estos resultados confirman los previamente documentados por nuestro grupo en reportes preliminares, con un número menor de pacientes (19,22), y están de acuerdo con los comunicados por Marugo y colaboradores (30). Con respecto a la relación entre los niveles preoperatorios de PRL y el contenido tumoral de RP los resultados comunicados son controvertidos (19,22,30).



En el presente estudio no se encontró correlación entre los niveles de PRL y los de RP. No hemos encontrado en la literatura estudios que hayan comunicado la relación entre los niveles circulantes de GH o IGF-1 y los de RE o RP. Nuestros resultados sugieren un papel significativo de IGF-1 en la regulación de la expresión de los receptores esteroideos en el cáncer mamario. En el presente estudio se documentaron mayores niveles de IGF-1 en pacientes con tumores RE-/RP- y una correlación negativa entre los niveles séricos de IGF-1 y los de RE y los de RP.

Estos resultados están a favor de la importancia de PRL en la regulación de RE y sugieren que IGF-1 puede tener un papel significativo en la regulación de la expresión de ambos receptores esteroideos en el cáncer mamario. Así, es posible postular que tanto los niveles de PRL como los de IGF-1 pueden ser factores pronósticos y a tomar en cuenta en la predicción de la hormonosensibilidad del cáncer mamario.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente subvencionado por la Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, Montevideo, Uruguay.

BIBLIOGRAFIA

1. Wennbo H, Tornell J. The role of prolactin and growth hormone in breast cancer. *Oncogene* 2000; 19(8):1072-6.
2. Vonderhaar BK. Prolactin involvement in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999; 6(3):389-404.
3. Dupont J, Le Roith D. Insulin-like growth factor 1 and oestradiol promote cell proliferation of MCF-7 breast cancer cells: new insights into their synergistic effects. *Mol Pathol* 2001; 54(3):149-54.
4. Dupont J, Karas M, Le Roith D. The potentiation of estrogen on insulin-like growth factor 1 action in MCF-7 human breast cancer cells includes cell cycle components. *J Biol Chem* 2000; 275(46):35893-901.
5. Manni A, Pontari M, Wright C. Autocrine stimulation by prolactin of hormone responsive breast cancer growth in cultures. *Endocrinology* 1985; 117:2040-43.
6. Pilichowska M, Kimura N, Fujiwara H, Nagura H. Immunohistochemical study of TGF-alpha, TGF-beta1, EGFR, and IGF-1 expression in human breast carcinoma. *Mod Pathol* 1997; 10:969-75.
7. Perlino E, Tommasi S, Moro L, Bellizzi A, Marra E, Casavola V, Reshkin SJ. TGF-beta1 and IGF-1 expression are differently regulated by serum in metastatic and non-metastatic human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2000; 16:155-60.
8. Ginsburg E, Vonderhaar BK. Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer cells. *Cancer Res* 1995; 55:2591-95.
9. Clevenger CV, Chang WP, NGOW, et al. Expression of prolactin and prolactin receptor in human breast carcinoma. Evidence for an autocrine/paracrine loop. *Am J Pathol* 1995; 146:695-705.
10. Decouvelaere C, Peyrat JP, Bonnetterre, et al. Presence of the two growth hormone receptor messenger RNA isoforms in human breast cancer. *Cell Growth Differ* 1995; 6:477-83.
11. Cohen AD, Cohen Y, Maislos M, Buskila D. Prolactin serum level in patients with breast cancer. *Isr Med Assoc J* 2000; 2(4):287-9.
12. Love RR, Rose DR, Surawics TS, et al. Prolactin and growth hormone levels in premenopausal women with breast cancer and healthy women with a strong family history of breast cancer. *Cancer* 1991; 68:1401-05.
13. Emerman JT, Leahy M, Gout PW, et al. Elevated growth hormone levels in sera from breast cancer patients. *Horm Metabol Res* 1985; 17:421-24.
14. Jernstrom H, Barrett-Connor E. Obesity, weight change, fasting insulin, proinsulin, C-peptide, and insulin-like growth factor-1 levels in women with and without breast cancer. *J Womens Health Gend Based Med* 1999; 8(10):1265-72.
15. Peyrat JP, Bonnetterre J, Hecquet B, Venin P, Louchez MM, Fournier C, Lefebvre J, Demaille A. Plasma insulin-like growth factor 1 (IGF-1) concentrations in human breast cancer. *Eur J Cancer* 1993; 29(4):492-7.
16. Dowsett M, McGarrick GE, Harris AL, et al. Prognostic significance of serum prolactin levels in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1983; 47:763-69.

17. Holtkamp W, Nagel GA, Wander HE, et al. Hyperprolactinemia is an indicator of progressive disease and poor prognosis in advanced breast cancer. *Int J Cancer* 1984; 34:323-8.
18. Bhatavdekar JM, Shah NG, Balar DB, et al. Plasma prolactin as an indicator of disease progression in advanced breast cancer. *Cancer* 1990; 65:2028-32.
19. Garófalo EG, Alonso O, Roman E, et al. Receptores de estrógenos, receptores de progesterona y niveles de prolactina en el cáncer mamario. *Revista Española de Medicina Nuclear* 1993; 12:123-28.
20. Delgado L., Alonso O., Alonso I., Alvarez B., Artagaveytia N., Muse I., Sabini G. Prolactin and growth hormone levels in breast cancer: are both indicatives of disease status and response to therapy? Libro de Synopses del Seminar on nuclear techniques for the detection and management of cancer 1996: IAEA E1-SR-197/33.
21. Bhatavdekar JM, Patel DD, Karelia NH, et al. Prognostic significance of plasma prolactin in breast cancer. Comparison with the expression of c-erb B2 oncoprotein. *Eur J Surg Oncol* 1993; 19:409-13.



Análisis de anticuerpos ANTI HLA en 7 poblaciones de insuficientes renales crónicos en lista de espera para trasplante renal

Toledo R. Alvarez I., Bengochea M., Carretto E. Laboratorio de Histocompatibilidad B.N.O.T Facultad de Medicina M.S.P. Montevideo Uruguay.

CORRESPONDENCIA: DR. ROBERTO TOLEDO

LABORATORIO DE HISTOCOMTABILIDAD BNOT, HOSPITAL DE CLÍNICAS.P4

AVDA. ITALIA S/N, MONTEVIDEO 11600, URUGUAY

TELÉFONO/FAX (598-2) 487 74 72

RECIBIDO 29/06/2001, REVISIÓN RECIBIDA 31/10/2001, ACEPTADO 08/11/2001

RESUMEN

Es un objetivo mundial de los Laboratorios de Histocompatibilidad realizar la evaluación inmunológica de los pacientes en lista de espera para trasplante. Desde 1987 el Laboratorio de Histocompatibilidad del Banco Nacional de Organos y Tejidos ha trabajado en el monitoreo inmunológico (búsqueda de anticuerpos reactivos contral panel = PRA) y clasificación en grupos de riesgo de rechazo de éstos pacientes en el Uruguay. La presencia de anticuerpos HLA (Human leucocyte antigen) influye negativamente en la sobrevida del injerto.

Hemos estudiado desde 1987 al 2000 1236 pacientes, habiendo aplicado la técnica de microlinfocitotoxicidad contra panel celular HLA clase I tipificado para la búsqueda de Anticuerpos.

Analizando los distintos estudios a través del tiempo, se ha visto predominio femenino de la población sensibilizada, así como disminución progresiva en el porcentaje de pacientes inmunizados concomitantemente con la disminución del índice transfusional. Los datos obtenidos son de utilidad terapéutica para el clínico, tanto en el pre como en el post-trasplante.

Palabras Claves

Anticuerpos anti – HLA. trasplante renal. Insuficiencia renal crónica

SUMMARY

There is a world-wide objective in the Histocompatibility Laboratory which is the immunologic screening of patients in waiting list for transplantation. Since 1987 the Histocompatibility Laboratory of B.N.O.T, has worked in the screenings (PRA) and their clasification in diferent rejection risk groups in Uruguay.

The presence of HLA antibodies has a negative influence on graft survival. Since 1987 to 2000, we have typed for antibody research 1236 patients with the microlinfocitotoxicity technique againts celular HLA class I panel. During a long time, those diferents studies were analized and sensibilizated female population predominance was seen, thus a progressive percentage of immunized patients decrease,simultaneously with disminish transfusional index. This information is important for the clinical in the pre and post-transplant.

Key Words

Anti - HLA antibody. kidney transplant. Kidney cronic disease.



INTRODUCCIÓN

Se conoce en la literatura y en nuestro medio el rol trascendente de los anticuerpos HLA en los trasplantes de órganos sólidos, sobretodo riñón (1) y corazón (2). La importancia es destacable a corto y a largo plazo, dado que su existencia en un paciente implica diferencias en la sobrevida del injerto. (3)

Mundialmente, en los distintos laboratorios de histocompatibilidad es de gran interés el estudio de los pacientes en lista de espera para trasplante, con el objetivo de clasificarlos en grupos de riesgo de rechazo (bajo o alto). Esto tiene importancia, dado que implica asumir conductas diferentes en la asignación del órgano a trasplantar y en el tratamiento a seguir. (4, 5).

Para ello, hemos estudiado a través del tiempo varias poblaciones en espera de trasplante renal, lo que nos ha permitido obtener datos de nuestros pacientes que son de mucha utilidad en el monitoreo inmunológico de los mismos(8). Son de bajo riesgo los pacientes que reúnen un conjunto de factores a saber: P.R.A cercano a cero, alto nivel de compatibilidad HLA con el donante, transfusiones nulas o escasas, en un paciente con bajo nivel de respuesta inmunitario.

Son de alto riesgo aquellos enfermos que poseen factores tales como: P.R.A. mayor a 20%, nivel de compatibilidad mínimo donante receptor, politransfundidos, sexo femenino, retrasplantados, sujeto con alto nivel de respuesta inmune

La sola presencia de anticuerpos preformados en el receptor contra los antígenos concretos del donante, en el momento de realizar el injerto, contraindica en forma absoluta el trasplante, dado que si se llevara a cabo se produciría un rechazo hiperagudo irreversible(7)

Por otra parte, la presencia de anticuerpos en el receptor, aunque no sea contra los antígenos del donante, pone de manifiesto un status respondedor inmunitario que implica respuestas inmunes frecuentes e intensas y si es trasplantado aparecerán mayor número de rechazos, que requerirá tratamiento supresor mas intenso, muchos de ellos serán refractarios al mismo y sobrevivirá menos el injerto en relación a otro paciente que no esté sensibilizado. (16)

MATERIAL Y MÉTODOS

La lista de espera para trasplante renal es Nacional y Unica, la registra el Banco Nacional de Organos y Tejidos a punto de partida de los datos que suministran los distintos equipos de trasplante renal, legal y funcionalmente autorizados a trabajar en éste área. De los pacientes en lista poseedores de suero en el laboratorio, hemos realizado varios estudios seriados.

Se realizó investigación de respuesta inmune mediada por anticuerpos en la población de insuficientes renales crónicos (año 2000) y se comparó con 6 poblaciones anteriormente analizadas.

Históricamente, realizamos 7 cortes verticales de pruebas cruzadas con sueros de pacientes en espera para trasplante renal: 1987 con 80 pacientes(p)(M1), 1990 con 104 p



(M2), 1993 con 116 p(M3), 1995 con 200 p(M4), 1997 con 198 p(M5), en 1999 con 245p(M6), y en 2000 con 293 p(M7).

Se efectuó estudio de prueba cruzada por técnica de microlinfocitotoxicidad contra panel celular HLA Clase I tipificado.

Básicamente, la prueba cruzada o cross-match investiga la existencia de Anticuerpos preformados en el suero del receptor. Consiste en el enfrentamiento del suero del receptor a un panel de linfocitos tipificados en Sistema HLA Clase I, (que en su conjunto son representativos de la gran mayoría de las especificidades del sistema). Se trabajó progresivamente, enfrentando el suero de cada receptor a 40 células HLA diferentes, pertenecientes a personas sanas no emparentadas. Cada suero se incubó 30 minutos con cada célula. Luego se agregó complemento comercial de conejo y al cabo de 1 hora se frenó la reacción por agregado de fluoroquench (bromuro de etidio-naranja de acridina). Las células vivas se tiñen de verde y las muertas de rojo. Se define como prueba cruzada positiva a aquella en la que la mortalidad celular es de 60% o mayor.

En cada caso se contó con complemento de conejo y controles positivos y negativos comerciales, comparables en los diversos cortes poblacionales realizados.

Se diagnosticó como inmunizados a aquellos con mas de 20% de positividad contra panel y como altamente inmunizados a aquellos con mas de 50%, (PRA>20 y PRA>50). Con este nivel de corte se trabaja habitualmente en los distintos laboratorios de Histocompatibilidad y a efectos de establecer comparaciones válidas los mantuvimos en los distintos estudios.

Se realizaron tests estadísticos con % y test de Chi cuadrado.



RESULTADOS

Se muestra en la Tabla 1 descripción de poblaciones, Grado de inmunización e Índice transfusional: En Fig. 1, distribución por sexo de pacientes en lista de espera, (Fig. 2) pacientes inmunizados distribución por sexo, Fig. 3 pacientes con PRA >20%, (Fig. 4)

Tabla 1.

| | POBLACION (p = Paciente) | GRADO DE INMUNIZACION | | | | INDICE TRANSFUSIONAL | |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------|-----------|-------|----------------------|----------|
| | | PRA >20% | | PRA > 50% | | Negativos C/Panel | PRA >20% |
| M1 1987 | Tot. 80 p. | 19p. | 23,7% | 8p. | 10% | 6,7 | 9,0 |
| | F. 38% | 13/19 | 68% | 5/8 | 62,5% | | |
| | M. 62% | 6/19 | 32% | 3/8 | 37,5% | | |
| M2 1990 | Tot. 104 p. | 19p. | 18,3% | 10p. | 9,6% | 2,3 | 9,5 |
| | F. 46% | 16/19 | 84% | 9/10 | 90% | | |
| | M. 54% | 3/19 | 16% | 1/10 | 10% | | |
| M3 1993 | Tot. 116 p. | 17p. | 14,7% | 6p. | 5,1% | 5,8 | 17,1 |
| | F. 36% | 10/17 | 59% | 5/8 | 62,5% | | |
| | M. 64% | 7/17 | 41% | 3/8 | 37,5% | | |
| M4 1995 | Tot. 200 p. | 22p. | 11% | 8p. | 4% | 5,2 | 9,2 |
| | F. 35% | 14/22 | 64% | 6/8 | 75% | | |
| | M. 65% | 8/22 | 36% | 2/8 | 25% | | |
| M5 1997 | Tot. 198 p. | 13p. | 6,6% | 5p. | 2,5% | N.D | 19,1 |
| | F. 40% | 9/13 | 69% | 4/5 | 80% | | |
| | M. 60% | 4/13 | 31% | 1/5 | 20% | | |
| M6 1999 | Tot. 245 p. | 23p. | 9,4% | 14p. | 5,7% | N.D. | 18,5 |
| | F. 48% | 13/23 | 56% | 9/14 | 64% | | |
| | M. 52% | 10/23 | 44% | 5/14 | 36% | | |
| M7 2000 | Tot. 293 p. | 17p. | 5,8% | 7p. | 2,4% | 2* | 7* |
| | F. 46% | 12/17 | 70% | 4/7 | 57% | | |
| | M. 54% | 5/17 | 30% | 3/7 | 43% | | |

Figura 1. Distribución por sexo de pacientes en lista de espera

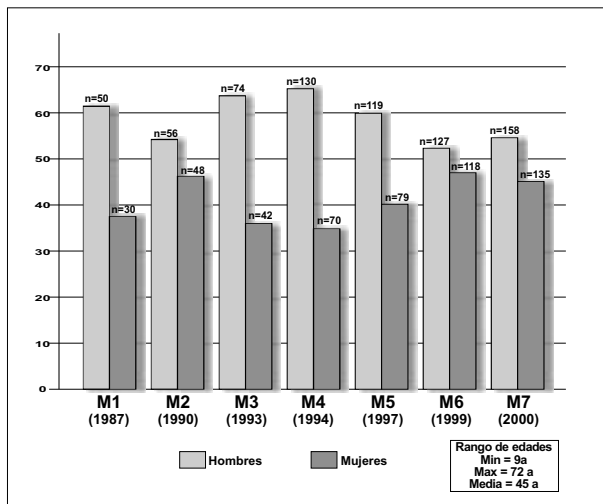


Figura 2. PACIENTE INMUNIZADOS: Distribución por sexo

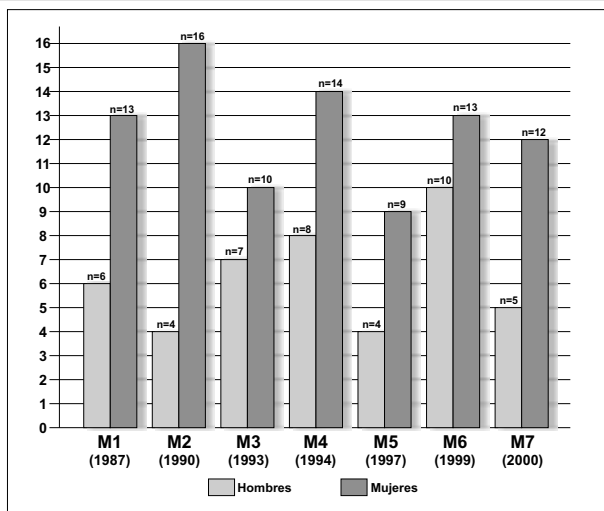


Figura 3. PRA > 20%

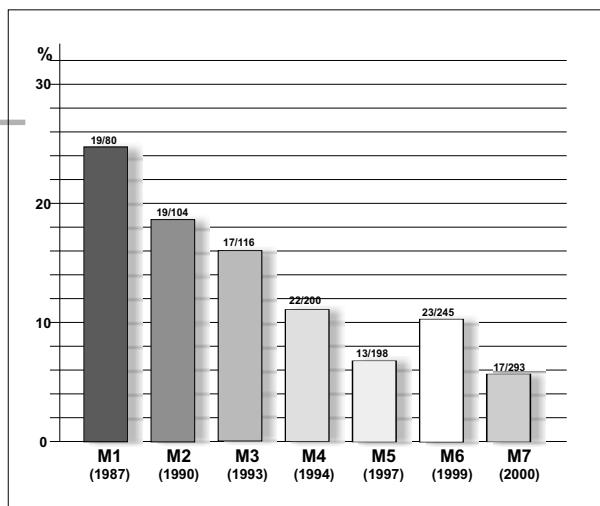
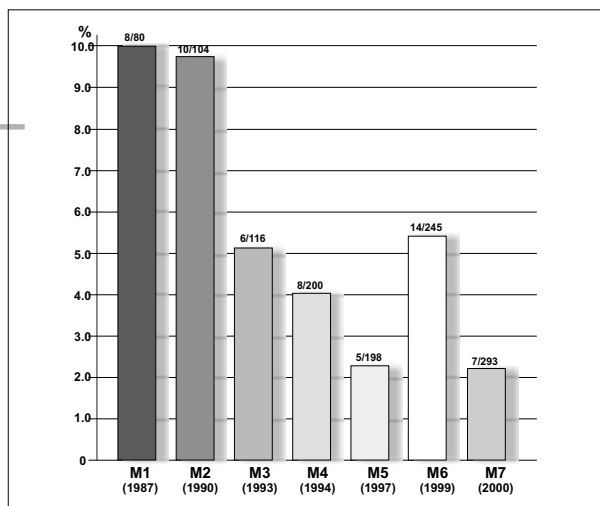


Figura 4. PRA > 50%



enfermos con PRA>50%, (Fig. 5) índice transfusional de pacientes en lista de espera. Ha aumentado el número de pacientes en espera. Este es un fenómeno universal, dado que la demanda de órganos es siempre mayor que las donaciones obtenidas, y que se ha incrementado en la población receptora el interés por el trasplante como un recurso terapéutico válido y mejorador de la calidad de vida.

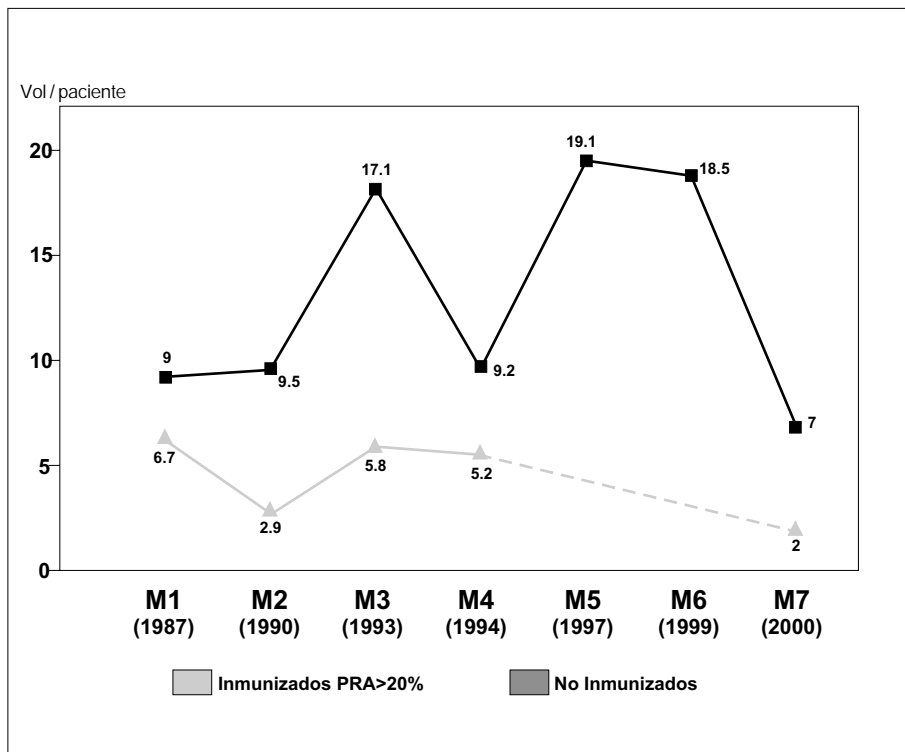
Hay una disminución en el número de pacientes inmunizados contra más del 20% y más del 50% en las 5 primeras poblaciones y en la última estudiada.

Esto se ejemplifica en una caída porcentual y absoluta de los mismos. En 1987 sobre una población total de 80 pacientes estudiados, había 19 de ellos inmunizados (23.7%), en tanto que en 2000, sobre un número total de 293 enfermos estudiados hay 17 inmunizados(5.8%).(chi cuadrado significativo 23.2)

Las mujeres son mas sensibilizadas que los hombres contra el Sistema HLA. Este es un hecho invariable en todas las muestras estudiadas, lo que revela que en la mujer, existe, en lo que refiere al Sistema HLA una mayor tendencia a la formación de anticuerpos que en el hombre. (chi cuadrados significativos)

Por otra parte, existen pacientes que pese a ser transfundidos no crean anticuerpos HLA (negativos contra panel) considerados no respondedores. Los respondedores (PRA > 20%) presentan un índice transfusional mayor (cociente volumen recibido/ numero de pacientes totales de la población analizada). Estos datos revelan la importancia que tiene el estímulo transfusional en la aparición y mantenimiento de los anticuerpos contra el Sistema HLA.

Figura 5. Índice transfusional de pacientes en lista de espera



DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

El aumento en el número de pacientes en espera es un hecho que ha venido incidiendo en la cantidad de pacientes estudiados (cada vez es mayor), y que nos ha permitido establecer números cada vez más elevados y contar con una mayor experiencia en el área (1236 pacientes desde 1987 al 2000).

En lo que respecta a la disminución porcentual de los pacientes inmunizados pensamos que esto se debe a que a través del tiempo, las distintas poblaciones han venido recibiendo menos transfusiones, por lo cual, al bajar el estímulo antigénico principal, se crean menos anticuerpos HLA.

La mujer se inmuniza más contra sistema HLA y en ese sentido, pensamos que eso puede tener 2 explicaciones plausibles.

- la mayor reactividad inmunológica del sexo femenino contra el Sistema HLA.
- la mujer puede tener otros estímulos inmunológicos por los cuales es posible formar anticuerpos.

Por ejemplo, el embarazo, que si bien en diálisis no es muy frecuente, es posible que existan eventualidades fecundantes múltiples que aunque no lleguen a término ginecológicamente, implican estímulos inmunológicos repetitivos.

El otro hecho es que la transfusión funciona más como evento inmunizante, en la medida en que se reitere con distintos donantes en un mismo paciente. Por ejemplo, los respondedores, con P.R.A.>20% son enfermos con alto índice transfusional, a diferencia de los no respondedores (negativos contra panel, pacientes que no tienen reactividad linfocitaria), los cuales tienen promedialmente menor número de transfusiones.

Finalmente, conocer a los pacientes sensibilizados es útil para informar al clínico, por las implicancias terapéuticas que ello tiene, tanto a nivel pediátrico(6) como en adultos, dado que si bien es oneroso, en algunos medios y en algunos casos seleccionados, puede servir para adoptar decisiones vinculadas a la extracción de anticuerpos como la utilización de columnas de inmunoabsorción(11), la plasmaféresis(12) o un programa más intenso de inmunosupresión pre o post-trasplante.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Sumitran S
Clinical importance of HLA-specific and non-HLA-specific antibodies in allogeneic kidney transplantation. *Adv Nephrol Necker Hosp (United States)*, 2000, 30 p29-39
2. Rose ML
Role of antibodies in transplant-associated cardiac allograft vasculopathy. *Z Kardiol (Germany)*, 2000, 89 Suppl 9 pIX/11-5.
3. Schonemann C, Groth J, Leverenz S, et al.
HLA class I and class II antibodies: monitoring before and after kidney transplantation and their clinical relevance. *Transplantation (United States)*, Jun 15 1998, 65(11) p1519-23



4. McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI.
Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation.
Transplantation (United States), Feb 15 2000, 69(3) p319-26.
5. Glotz D, Antoine C, Haymann JP, et al.
Intravenous immunoglobulins and kidney transplantation in patients with anti-HLA antibodies.
Adv Nephrol Necker Hosp (United States), 2000, 30 p221-33.
6. Emonds MP, Herman J, Dendievel J, et al.
Evaluation of anti-human leukocyte antigen allo-immunization in pediatric cadaveric kidney transplantation.
Pediatr Transplant (Denmark), Feb 2000, 4(1) p6-11
7. Sumitran-Karuppan S. The clinical importance of choosing the right assay for detection of HLA-specific donor - reactive antibodies. *Transplantation (United States)*, Aug 27 1999, 68(4) p502-9.
8. Schonemann C, Groth J, Leverenz S, et al. HLA class I and class II antibodies: monitoring before and after kidney transplantation and their clinical relevance. *Transplantation (United States)*, Jun 15 1998, 65(11) p1519-23.
9. Braun WE
The alloimmunized patient: monitoring and therapeutics. *Am J Med Sci (United States)*, May 1997, 313(5) p279-82
10. Lieber SR, Beck ST, Persoli LB, et al.
Standardization of cellular immunoenzyme assay for anti-HLA class I antibodies evaluation: comparison with complement-dependent cytotoxicity methods.
Transplant Proc (United States), Nov 1999, 31(7) p2989-93
11. Bevan DJ, Carey BS, Vaughan RW, et al.
Modulation of anti-HLA antibody production following renal transplantation in sensitised, immunoadsorbed patients.
Transplant Proc (United States), Feb-Mar 1997, 29(1-2) p1448
12. Alarabi A, Backman U, Wikstrom B, et al. Plasmapheresis in HLA-immunosensitized patients prior to kidney transplantation. *Int J Artif Organs (Italy)*, Jan 1997, 20(1) p51-6.
13. Buscaroli A, De Sanctis LB, Iannelli S, et al. Application of Prastat ELISA in the determination of anti-HLA specificity for immunized patients awaiting kidney transplant: five years' experience. *Transpl Int (Germany)*, 2000, 13 Suppl 1 pS99-105.
14. Papassavas AC, Iniotaki-Theodoraki A, Stathakopoulou A, et al. Evaluation of HLA-class I alloantibodies using PRA-STAT and complement-dependent cytotoxicity techniques. *Transplant Proc (United States)*, May 1998, 30(3) p724-6
15. Cecka M Clinical outcome of renal transplantation. Factors influencing patient and graft survival. *Surg Clin North Am (United States)*, Feb 1998, 78(1) p133-48
16. Zachary AA, Ratner LE, Leffell MS Low levels of HLA-specific antibody: relevance, detection, and treatment. *Transplant Proc (United States)*, Feb-Mar 2001, 33(1-2) p469-70
17. Buabut B, Chiewsilp P, Patanapanyasat K, et al. Crossmatching technique facilitating kidney transplantation. *J Med Assoc Thai (Thailand)*, Sep 1997, 80 Suppl 1 pS55-61.
18. Kerman RH, Susskind B, Kerman DH, et al. Anti-HLA antibodies detected in posttransplant renal allograft recipient sera correlate with chronic rejection. *Transplant Proc (United States)*, Feb-Mar 1997, 29(1-2) p1515-6.



19. Monteiro F, Mineiro C, Rodrigues H, et al. Pretransplant and posttransplant monitoring of anti-HLA class I antibodies identifies patients at high risk of graft loss. *Transplant Proc (United States)*, Feb-Mar 1997, 29(1-2) p1433-4.
20. Piazza A, Poggi E, Borrelli L, et al. Relevance of posttransplant HLA class I and class II antibodies on renal graft outcome. *Transplant Proc (United States)*, Feb-Mar 2001, 33(1-2) p478-80
21. Piazza A, Poggi E, Borrelli L, et al. Improving screening strategies for HLA-specific antibody detection in renal transplant recipients. *Transplant Proc (United States)*, Feb-Mar 2001, 33(1-2) p391-2164.
22. Kimikawa M, Tojimbara T, Nakajima I, et al. Posttransplant antidonor antibodies and chronic rejection in renal transplantation. *Transplant Proc (United States)*, Nov 1999, 31(7) p2872-3.
23. Worthington JE, Langton A, Liggett H, et al. A novel strategy for the detection and definition of HLA-specific antibodies in patients awaiting renal transplantation. *Transpl Int (Germany)*, 1998, 11 Suppl 1 pS372-6.
24. Burke GW, Colona J, Noto T, et al. Removal of preformed cytotoxic antibody using PROSORBA (Staph Protein-A-Silica) column without immunosuppression. *Transplant Proc (United States)*, Jun 1997, 29(4) p2249-51.
25. Rodey GE, Revels K, Fuller TC Epitope specificity of HLA class I alloantibodies: II. Stability of cross-reactive group antibody patterns over extended time periods. *Transplantation (United States)*, Mar 27 1997, 63(6) p885-93.
26. Shoker A, Klassen J, Herbut B Absence of irreversible rejection in the presence of warm anti-donor-HLA class I cytotoxic IgG antibody. *Clin Nephrol (Germany)*, Feb 19 Neylan J, de Smet





Bacteriuria por *Enterococcus faecium* resistente a la Vancomicina.

Primera comunicación en Uruguay de *Enterococcus faecium* resistente a los glicopéptidos . Revisión.

Bazet C(), Soca A(**), Bono C(**), Velazquez JL(*), Bentancourt S(**).*

(*) AREA DE MICROBIOLOGÍA DEL LABORATORIO CENTRAL DEL HOSPITAL PASTEUR.

(**) CENTRO DE TRATAMIENTO INTENSIVO DEL HOSPITAL PASTEUR.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. MONTEVIDEO. URUGUAY.

CORRESPONDENCIA: DRA. CRISTINA BAZET

LABORATORIO CENTRAL DEL HOSPITAL PASTEUR.

LARRAVIDE S/N . MONTEVIDEO. URUGUAY.

E-MAIL@INTERNET.COM.UY

RECIBIDO 22/05/2001

ACEPTADO 31/07/2001

RESUMEN

El género enterococos ha adquirido en las dos últimas décadas un rol protagónico como agente de infección intrahospitalaria. Su resistencia a los antibióticos dificulta el tratamiento de las infecciones graves. En especial la resistencia a los glicopéptidos constituye para nosotros un capítulo nuevo de resistencia bacteriana, de particular interés ya que limita las opciones terapéuticas disponibles y alerta sobre las consecuencias de la presión de selección que ejerce en el medio el uso indiscriminado de ATB.

Se presenta el primer aislamiento clínico de *Enterococcus faecium* (EF) resistente a los glicopéptidos en nuestro país. Paciente que cursando postoperatorio de eventración estrangulada ingresa a CTI por neumonía nosocomial y cuadro digestivo con diarrea y vómitos. En la evolución se detecta bacteriuria mayor a 100.000 ufc/ml de orina de EF resistente a vancomicina. (CIM >256 mcg/ml) El hallazgo se catalogó exclusivamente como colonización debido a la ausencia de síntomas de infección urinaria y de piuria. La búsqueda de genes de resistencia por técnica de PCR evidenció presencia de genes Van A. Los antianaeróbicos, las fluorquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación fueron los ATB más usados en nuestro CTI en el último año. La evidencia de la circulación de estas cepas en nuestro medio debe motivar el desarrollo de políticas que combinen: el uso prudente de antibióticos, medidas de vigilancia y control de infecciones.

Palabras claves enterococos, resistencia, glicopéptidos



SUMMARY

Over the last two decades, genus enterococcus have emerged as an important hospital acquired pathogens. The glycopeptide resistance represents for us a new challenge of the antibiotic resistance knowledge, particularly interesting because of the limited choice of antibiotics for the treatment of serious enterococcal infections and warns about the consequences of the selective pressure exerted by the use of antibiotics. We report the first clinical isolate of a glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* (EF) in our country. Patient in the postoperative period of an incarcerated eventration, who needed intensive care because of nosocomial pneumonia, diarrhea and vomiting. During his evolution we isolated vancomycin resistant EF (MIC > 256 mcg/ml) from a routinely urine culture. This isolation met the criteria of colonization: urine culture > 10.000 CFUs per milliliter with normal urinalysis in a patient with no symptoms of urinary tract infection. A PCR assay detected Van A gene in this strain. Antianaerobic, fluorquinolones and third generation cephalosporins were the most used antimicrobials drugs in our ICU during the last year. In order to control glycopeptide resistant enterococcus, it is necessary to implement combination of strategies: prudent use of antibiotics, surveillance and infection control measures.

Key words: enterococcus, resistance, glycopeptides

INTRODUCCION

En las dos últimas décadas los enterococos han pasado de considerarse comensales de baja patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera causa de infección intrahospitalaria (IIH). (1) Además su capacidad de desarrollar resistencia a prácticamente todos los antimicrobianos de uso clínico le ha valido la denominación “del patógeno de los 90”. (2) La resistencia a los glicopéptidos (GP) se presenta actualmente como el gran problema de resistencia entre los cocos Gram positivos porque el arsenal terapéutico para tratar infecciones graves por enterococos resistentes se ve notablemente restringido y por el temor real de que esta resistencia pueda transmitirse a bacterias más virulentas.

Microbiología

Los enterococos son bacterias Gram positivas anaerobias facultativas, antes clasificados como integrantes del grupo D de Lancefield, desde 1994 poseen su propio género. 80-90% de las infecciones en el hombre son producidas por *Enterococcus faecalis*; *Enterococcus faecium* es menos frecuente 5-10%. (3) Existen otras 17 especies rara vez implicados en patología humana. (4)

Son bacterias ubicuas, se encuentran en agua y alimentos, integran la flora normal del hombre, animales e insectos. Residen en tracto digestivo y genital. Son más resistentes a los agentes físicos que a los químicos. (5) Las infecciones más frecuentes que producen son las urinarias, de la sangre, intrabdominales y endocarditis. Las infecciones urinarias son raras en jóvenes sanos, ocurren en añosos, debilitados, sondados y/o



tratados previamente con antibióticos (ATB). Cuando se aísla de procesos abdominales en general asociado con otros microorganismos, su significación patogénica no es clara. Las infecciones del sistema nervioso central y respiratorias son raras. Las bacteriemias son de origen urinario, abdominal, biliar, de herida quirúrgica o a partir de dispositivo intravenoso. Un tercio de las bacteriemias comunitarias desencadenan endocarditis, lo cual es raro cuando el origen es nosocomial. (6)

Los enterococos, de promedio causan el 10% de las IIH. El 60 % de ellas son severas y la mitad ocurren en las unidades de cuidado intensivo.(7) La IIH es favorecida por su hábitat digestivo, ubicuidad, por poseer resistencia innata a muchos ATB y por haber adquirido resistencia a otros tantos, por lo que sobreviven mejor que otras bacterias en ambientes donde se prodigan los ATB, por que resisten la desecación y se mantienen viables en superficies inanimadas por períodos prolongados y por todo lo cual además son fácilmente diseminados por las manos del personal. (8)

Resistencia a los antimicrobianos

Tanto el número de infecciones en aumento como la resistencia son consecuencia del uso indiscriminado de ATB, a los cuales enterococo es resistente o tienen muy escasa actividad sobre ellos como cefalosporinas de tercera generación o quinolonas fluoradas. La administración de fluoroquinolonas es un hecho demostrado que aumenta la portación fecal de enterococos y favorecen las sobreinfecciones. (9-16)

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a algunos antibióticos y pueden además adquirir resistencia a otros.

Resistencia intrínseca

Los enterococos poseen resistencia intrínseca o sea resistencia inherente a género o especie: a los beta lactámicos (BL), de bajo nivel a los aminoglucósidos, (AMG), a la clindamicina y al trimetropin-sulfamethoxazol y algunas especies de bajo nivel a la vancomicina. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de los enterococos a las penicilinas y derivados son varias veces mayores que para los estreptococos y esto es por poseer proteínas fijadoras de penicilina (PFP) de baja afinidad por estos ATB. (17) La resistencia a las cefalosporinas es la más pronunciada en este sentido por lo que son totalmente inefectivas in vivo.

Combinaciones de BL o GP y AMG adquieren sinergia bactericida aunque los enterococos posean resistencia intrínseca de bajo nivel a los AMG. Esto es debido a que la entrada del AMG a la bacteria requiere transporte oxidativo que es pobre a nivel de la membrana de los enterococos. La combinación de BL y AMG se hace sinérgica al facilitar uno la entrada del otro.

Enterococcus casseliflavus, *E. gallinarum* y *E. flavescens* son intrínsecamente resistentes a bajos niveles de vancomicina que se expresa de forma constitutiva aunque son sensibles a la teicoplanina. (18)

Resistencia adquirida

Los enterococos pueden además adquirir resistencia a los BL, AMG y GP.



A los betalactámicos: por síntesis de betalactamasas, descrita en *Enterococcus faecalis*, probablemente de originada en *Staphylococcus aureus*, poco frecuente hasta ahora aunque existe evidencia de diseminación clonal. (19-21) Pero la resistencia adquirida más frecuente a los BL es por sobreproducción de una PFP5 preexistente de baja afinidad por el ATB, lo que genera alto nivel de resistencia. (22)

A los AMG: por tres mecanismos: alteración del sitio blanco ribosomal, interferencia en el transporte o detoxificación enzimática del ATB. Los dos primeros son por mutación cromosómica y el tercero es plasmídico. La resistencia de alto nivel a los AMG es enzimática, es plasmídica transferible a otros microorganismos y constitutiva. (23) La presencia de una enzima abole la sinergia con los BL.

A los glicopéptidos: La resistencia a la vancomicina se detectó por primera vez en 1986, en Inglaterra en pacientes en hemodiálisis después de imponer régimen con vancomicina como terapia empírica en los pacientes febriles. (24,25)

Basados en su susceptibilidad a los glicopéptidos vancomicina y teicoplanina se describen fenotipos según sus genes de resistencia particulares. Los tres más relevantes son:

Van A: resistencia de alto nivel a vancomicina, CIM mayor a 64 mcg/ml inducible plasmídica transferible localizada en un trasposon. Resistente también a la teicoplanina CIM mayor de 16 mcg/ml. (25)

Van B: resistencia inducible de nivel variable a vancomicina CIM de 4 a más de 1000 mcg/ml pero sensible a teicoplanina. Transferible por conjugación. (26)

Van C: lo poseen las cepas de *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. aunque esta resistencia no es adquirida sino que es característica intrínseca.

El fenotipo Van A tiene siete genes localizados en un trasposon Tn1546 de 10.8 kb cuyo resultado final es la síntesis de precursores del peptidoglican modificados lo que impide la unión del GP. (27-29) En las bacterias sensibles el GP inhibe la síntesis de la pared celular formando complejos a nivel de las terminaciones D-alanina precursor del péptidoglican, impidiendo la formación de las uniones peptídicas. Genes Van están localizados tanto en plásmidos como en el cromosoma, en un transposón y se trasmite entre cepas o especies por conjugación. No está claro de que bacteria vancomicina resistente fue adquirido el trasposón. El origen de la resistencia aún tiene puntos oscuros aunque es claro que la producción de proteína Van A es inducible por vancomicina. Su uso para el tratamiento de infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente bien que puede haber tenido responsabilidad en la aparición de la resistencia a los GP. (3) El uso de vancomicina oral para el tratamiento de la diarrea asociada a ATB, que produce altos niveles en el intestino favorecen la colonización por especies naturalmente resistentes a los glicopéptidos (probablemente *streptomyces*) lo que podría estar vinculado al origen de la resistencia en *enterococcus*. (30) El mecanismo de acción de la proteína que desemboca en resistencia es la modificación de la D-alanina de manera que no une más vancomicina. (31) El uso de otros ATB también ha demostrado asociación significativa con los aislamientos de enterococos resistentes a glicopéptidos (ERG) como clindamicina, cefalosporinas de tercera generación y antianaeróbicos. (32-34)



La resistencia apareció casi simultáneamente en Francia, Alemania, Inglaterra, España y USA lo cual eliminaría la teoría de la diseminación clonal.

En cuanto a otros posibles orígenes de la resistencia como sería el reservorio animal se han detectado ERG en cerdos en asociación con el uso de avoparcina, glicopéptido que promueve el crecimiento de los animales. (35-37)

Genes Van solo han sido detectados en enterococos. Ellos pueden intercambiar resistencia a gentamicina y macrólidos con otros Gram positivos vía plásmidos conjugativos, por lo tanto la resistencia a GP plasmídica tiene grandes chances de transferirse a *Streptococcus* y *Staphylococcus aureus* como ya se demostró in vitro (38,39)

Todas las resistencias pueden darse en forma independiente o estar asociadas en la misma cepa: resistencia a penicilina por sobreproducción de PFP5 y síntesis de betalactamasas y resistencia a GP y de alto nivel a gentamicina. Todo lo cual se ha visto en *Enterococcus faecium*. Las infecciones por ERG están asociadas a mayor gravedad y a mayor mortalidad.

Por lo tanto enterococo se constituye como un gran reservorio de genes de resistencia y el hecho de que sean bacterias menos virulentas que muchas no deja de inquietar ya que la adquisición de genes de virulencia también es posible.

Los factores de riesgo para adquirir una cepa de enterococo resistente a la vancomicina se pueden dividir en antimicrobianos: uso indiscriminado de ATB (40-42) y no antimicrobianos: estadía hospitalaria prolongada, severidad de la enfermedad, la proximidad con pacientes colonizados o infectados con ERG, mucositis, hemopatía maligna y la colonización intestinal.(43-47)

La colonización es 10 veces más frecuente que la infección y por regla general todos los infectados tienen colonización intestinal que puede datar de un año o más. (48) La colonización intestinal es muy importante en mantener el reservorio de ERG y además es causa favorecedora de bacteriemia ya que los colonizantes ERG poseen la ventaja de sobrevivir a pesar del uso indiscriminado de ATB, una vez que colonizan, la supresión de la flora normal por los ATB permite que ERG intraluminal alcance altas concentraciones, la traslocación del microorganismo a través de la pared del intestino puede dar lugar a la bacteriemia. Aunque esta puede ser autolimitada en el inmunocompetente, puede ser un problema en el inmunodeprimido. La mortalidad de las bacteriemias por ERG es aproximadamente 37% comparada a 16% cuando el enterococo es sensible. (49,50)

Los pacientes con diarrea son los de mayor riesgo en mantener la contaminación ambiental y por tanto la infección cruzada.

Medidas de control

El control de la diseminación de ERG incluye:

- Uso racional de los antimicrobianos. El uso prudente de ATB es la llave para la prevención. No usar ATB innecesarios, sobre todo cefalosporinas, fluorquinolonas y antianaeróbicos. Evitar uso inapropiado de vancomicina, cambiar la primera línea de vancomicina a metronidazol para el tratamiento de *Clostridium difficile*, y evitar la vancomicina en el tratamiento empírico de los neutropénicos febriles.

- Educación del staff . Todo el personal de salud debe conocer los mecanismos de transmisión de los ERG y la forma de prevención y control.
- Aislamiento estricto inmediato que incluye, precauciones de contacto y cuartos separados tanto en infectados como en colonizados. Se deben usar túnicas descartables porque está demostrado que se contaminan. (51-55)
- Política de limpieza, desinfección y antisepsia . Lavado de manos con antiséptico; los jabones sin antiséptico tienen muy poca actividad sobre para ERG por lo que deben evitarse. La clorhexidina por su acción residual es de elección. (53)
- Screening de pacientes colonizados mediante cultivo de heces o hisopado perirrectal debe realizarse en unidades donde se aisló ERG y en unidades de inmunodeprimidos. (56-58) No obstante se debe tener en cuenta que el screening de pacientes colonizados: es caro y consume tiempo por lo que hay que tener buenas razones para realizarlo. Una ventaja de conocer la colonización es para evitar la infección cruzada y disminuir la contaminación ambiental. Si la limpieza no es buena es el momento para conseguir recursos; la segunda ventaja es para persuadir a los clínicos de no usar antibióticos y es muy útil en las áreas de mayor riesgo, trasplante de hígado y leucosis . (59)

Otras medidas de control son: el registro de pacientes colonizados o infectados y la notificación a otros servicios en caso de transferencia. Pacientes conocidos que se saben tienen ERG deben aislarse hasta descartar la colonización con dos cultivos de heces negativos o perirrectales separados por 48 horas.

Tratamiento

El tratamiento de infecciones severas por enterococos a menudo requiere vancomicina o combinaciones de betalactámicos con aminoglucósidos, la resistencia de alto nivel a los AMG sumado a la resistencia a BL y GP torna a los enterococos en superbacterias de tratamiento muy difícil. Actualmente los esfuerzos se centran en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que sean efectivos contra las bacterias Gram positivas multiresistentes. Entre ellos se incluye la revisión de agentes antiguos como las nuevas fórmulas menos tóxicas de las pristinamicinas, fórmulas de glicopéptidos y quinolonas químicamente modificadas para evitar la resistencia y uso de técnicas de alternativa como el tratamiento con bacteriófagos y la tecnología genética del antisentido para anular la resistencia bacteriana. (60,61)

Antecedentes

En el Hospital Pasteur hasta el año 2000 los Enterococos aislados mostraban niveles variables de resistencia a beta-lactámicos y aminoglucósidos según la especie involucrada y 100% de sensibilidad a la vancomicina.

En el cuadro 1 se puede observar que la resistencia de alto nivel a los AMG en *Enterococcus faecalis* es elevada, siendo baja la resistencia a la ampicilina. En *Enterococcus faecium* la resistencia a la ampicilina fue elevada durante todo el período



de observación siendo variable la presentación de resistencia de alto nivel a los AMG. No se encontró ninguna cepa productora de beta-lactamasas y todas fueron sensibles a la vancomicina (62)

En diciembre de ese año se aísla de la orina de un paciente en CTI la primera cepa de *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina en nuestro medio.

Cuadro 1. Resistencia de especies de Enterococos. Vigilancia epidemiológica. Hospital Pasteur 1996 - 1999

| | E. faecalis 96/97 n: 99 | | E. faecalis 98/99 n : 98 | | E. faecium 96/97 n: 21 | | E. faecium 98/99 n: 22 | |
|-----------------------------------|----------------------------|------|-----------------------------|------|---------------------------|------|---------------------------|------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % |
| RAN* Streptomina | 41 | 41.4 | 40 | 40.8 | 11 | 52.4 | 3 | 13.6 |
| RAN Gentamicina | 33 | 33.3 | 23 | 23.5 | 8 | 38 | 1 | 4.5 |
| Ampicilina | 2 | 2.02 | 1 | 1.02 | 10 | 47.6 | 11 | 50 |

* RAN: Resistencia alto nivel

MATERIAL Y METODOS

Resumen de la historia clínica comentada de la que se obtuvo el aislamiento resistente, su identificación y susceptibilidad a los ATB.

RC sexo masculino, 58 años fumador asmático, portador de cardiopatía isquémica hipertensiva. Accidente vascular encefálico isquémico en noviembre 2000, con internación en sala de medicina por 36 horas. Diastasis de los rectos intervenido en tres oportunidades. Consulta 13/12/2000 por cuadro agudo de abdomen de 48 horas de evolución diagnósticándose eventración estrangulada por lo que es intervenido quirúrgicamente el mismo día. Cursa postoperatorio inmediato en cuidados intermedios, donde es tratado con reposición hidroelectrolítica y antibióticos: sulbactam-ampicilina, con buena evolución clínica siendo dado de alta a sala de medicina en 24 horas. En sala presenta mala evolución con fiebre, tos con expectoración mucopurulenta, foco de estertores crepitantes en base de hemitórax derecho, agregando en la evolución vómitos y diarrea. El 17/12/2000 reingresa a CTI con deshidratación, shock hipovolémico, polipnea e hipoxemia. De la valoración clínica y paraclínica se destaca: 1) insuficiencia respiratoria aguda que no requirió ARM, 2) abdomen distendido, dolor difuso a la palpación, retención por sonda naso gástrica y diarreas muy abundantes de hasta 14 deposiciones en 24 horas. Visto por cirujano se descarta cuadro quirúrgico abdominal 3) insuficiencia renal aguda con perfil prerrenal secundaria a deshidratación que mejora en la evolución, normalizando cifras de función renal. De la encuesta bacteriológica se destaca del 17/12 hemocultivos positivos a *Escherichia coli*. Con el planteo clínico de: 1º gastroenterocolitis severa que lleva a shock hipovolémico e insuficiencia renal aguda prerrenal. Diarrea de probable etiología bacteriana (*Clostridium difficile*) y 2º neumonía nosocomial bilateral se trató con reposición hidroelectrolítica,

oxigenoterapia, antibióticos orientados inicialmente al cuadro abdominal bacteriémico: metronidazol y ciprofloxacina del 17 al 19/12 en donde se cambia el metronidazol por ceftazidima por el planteo de neumonía nosocomial sin germen aislado. Aceptable evolución con mejoría de la función respiratoria, renal y sintomatología digestiva otorgándose el alta a sala de medicina el 26/12 y a domicilio el 30/12.

Urocultivo de control realizado el 25/12 desarrolla >100.000 ufc/ml de *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina. Destacamos que dicha muestra fue indicada dentro de la rutina bacteriológica que se realiza una vez por semana a todos los pacientes con cateterismo vesical en la unidad. El paciente tenía orina clara, sin sedimento y ausencia de síntomas urinarios. Por lo tanto y de acuerdo a la clasificación del CDC, modificada por Wong se consideró como una colonización urinaria, definida como bacteriuria mayor a 10.000 UFC/ml sin sintomatología y examen de orina normal. (63,64)

Respecto a la diarrea no se confirmó la participación de *Clostridium difficile*. Datos bibliográficos relacionan la diarrea por *Clostridium difficile* con los aislamientos de ERG (65)

La caracterización de la cepa aislada se realizó según esquema de Facklan (4) y la susceptibilidad a los antimicrobianos según las recomendaciones de la NCCLS. (66) La concentración inhibitoria mínima se realizó por técnica de E test para vancomicina, ampicilina, gentamicina y streptomycin. Para teicoplanina se utilizó técnica de difusión por disco. Se consideran cepas resistentes cuando los valores de CIM son iguales o mayores a: vancomicina: 32 mcg/ml, ampicilina: 16 mcg/ml, gentamicina alto nivel: 500 mcg/ml, streptomycin alto nivel: 2000 mcg/ml. Para teicoplanina se considera resistente si el halo de inhibición es igual o menor de 10 mm. La detección de beta-lactamasa se realizó por prueba de nitrocefina.

RESULTADOS

Resultados de susceptibilidad de la cepa aislada:

Vancomicina CIM: > 256 mcg/ml; Ampicilina : CIM: 128 mcg/ml, Streptomycin CIM: > 1024 mcg/ml, Gentamicina CIM: >1024 mcg/ml., Teicoplanina: halo 0 mm. Investigación de betalactamasa :negativa .De acuerdo a estos resultados la cepa se consideró resistente a los glicopéptidos vancomicina y teicoplanina, con resistencia de alto nivel a los beta-lactámicos y a los aminoglucósidos y no productora de beta lactamasa .

Enviada la cepa al **Instituto Adolfo Lutz de la ciudad de San Pablo** se confirmó la especiación y la búsqueda de genes de resistencia por técnica de PCR, demostró la presencia del gen Van A, confirmando la resistencia a la vancomicina y teicoplanina .

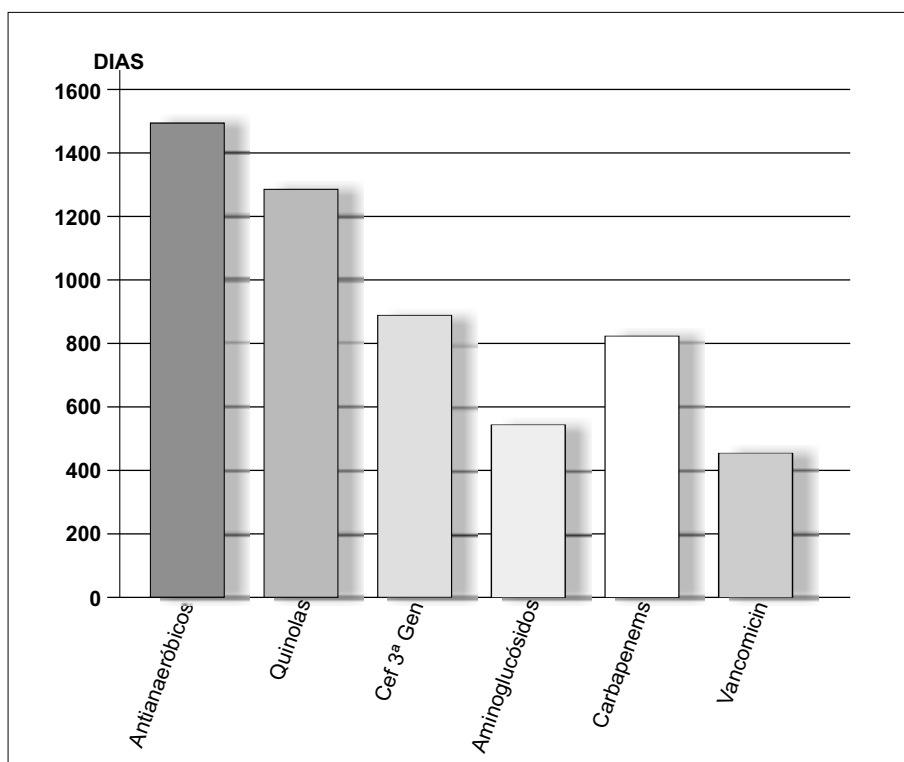
Respecto a las características de la unidad en donde se produjo el aislamiento, el CTI del hospital Pasteur es una unidad polivalente que cuenta con 22 camas, 10 de tratamiento intensivo y 12 de cuidados intermedios. Durante el año 2000 egresaron 1355 pacientes, promedio de edad de 58.34 años, promedio de estadía de 5.53 días y una tasa



de mortalidad de 24,94 %. El consumo de antibióticos de la unidad expresado en días de utilización de las drogas más frecuentemente utilizadas durante el año 2000 en la unidad de cuidados intensivos, mostró un elevado consumo de drogas antianaeróbicas, quinolonas y cefalosporinas de tercera generación. (Gráfico 1)

Gráfico 1. Consumo de ATB CTI Hospital Pasteur

Año 2000



COMENTARIOS Y CONCLUSIONES.

Basados en estas observaciones y la experiencia extranjera que evidencia que las colonizaciones aparecen antes que las infecciones; la demostración de la circulación de enterococos resistentes a los glicopéptidos en el medio aunque solo sea en etapa de colonización, así como la evidencia del consumo importante de antianaeróbicos, quinolonas y cefalosporinas, nos obliga a iniciar medidas de contención de la diseminación de ERG: Política racional de uso de ATB con disminución en el consumo de los ATB inductores, educación continua de todo el staff, presentación del caso con información y discusión y screening mensual de colonización intestinal, mediante cultivo de heces o exudado perirrectal de todos los pacientes internados en la unidad. Medidas todas que han probado ser efectivas en detener la diseminación de cepas resistentes ya que aunque los enterococcus sean microorganismos de baja virulencia, las infeccio-

nes por ERG en ciertos tipos de pacientes pueden constituir un problema insoluble con el arsenal terapéutico disponible. Por lo tanto aunque sobre el tema aún existen puntos oscuros y quedan preguntas que no podemos contestar, sí está claro que en el origen de la resistencia tuvo lugar protagónico el uso abusivo de los antimicrobianos por lo que las actividades dirigidas a promover “el uso prudente de antibióticos” deben ser consideradas prioritarias por los equipos de salud.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Sección Microbiología del Dpto. de Patología Clínica del CASMU por la colaboración en el envío de la cepa al Instituto Adolfo Lutz de la ciudad de San Pablo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Moellering RC Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin. Infections Dis* 1992 ;14: 1173 – 1178.
2. Spera RV Jr, Farber BF. Multiply resistant *Enterococcus faecium*: the nosocomial pathogen of the 1990s. *Jama* 1992; 268: 2563 – 2564.
3. Murray BE, The life and times of the *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3:46-65.
4. Facklam R, San MD, Martins L: *Enterococcus*. En Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenoever F, Molken R, (eds). *Manual of Clinical Microbiology* 7th ed Washington DC American Society of Microbiology 1999; 297-305.
5. Chadwick PR, Chadwick CD, Oppenheim BA. Report of the meeting on the epidemiology and control of glycopeptide-resistant enterococci. *J Hosp Inf* 1996; 33: 83-92.
6. Maki DG, Agger WA, *Enterococcal bacteriemia: Clinical features the risk of endocarditis and management* *Medicine* 1988, 67: 248 – 269.
7. Patterson JE, Sweeney AH, Simms M, at al. An analysis of 110 serious enterococcal infections: Epidemiology antibiotic susceptibility and out come. *Medicine* 1995; 191 – 200.
8. Noskin GA, Stosor V, Cooper I, Peterson LR. Recovey of vancomycin resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp. Epidemiol.* 1995; 16 : 577 - 581.
9. Dan M, Heshccovits A, Mirsky Luba, Gutman R. Increase in the isolation rate of enterococci from urine since the introduction of fluoroquinolones. *I. J. Inf. Dis.* 1997; 2(2) 110 – 112.
10. Hooper DC, Wolfson JP. Fluoroquinolone antimicrobial agents. *N Engl J Med* 1991; 324: 384-394.
11. Enzensberger R, Shah PM, Knothe H. Impact of oral ciprofloxacin on the faecal flora of healthy volunteers. *Infection* 1985; 13: 273-275.
12. Shah PM, Enzensberger R, Glogan O, Knothe H. Influence of oral ciprofloxacin or ofloxacin on the faecal flora of healthy volunteers. *Am J Med* 1987; 82 (suppl A): 333-338.
13. Pallares R, Puyol M, Pena C, Ariza J, Martin R, Gudiol F. Cephalosporins as risk factor for nosocomial *Enterococcus faecalis* bacteremia : a matched case – control study. *Arch Intern Med* 1993; 153: 1581 – 1586.
14. Morrison AJ, Wenzel R. Nosocomial urinary tract infections due to *Enterococcus*. *Arch Intern Med* 1996; 146: 1549 – 1551.
15. Berk SL, Verghese A, Holtsclaw SA, Smith JK. *Enterococcal pneumonia. Occurrence in patients receiving broad spectrum regimens and enteral feeding.* *Am J Med* 1983; 74: 153-154.
16. Zevros Mj, Bacon AE, Patterson JE, Schaberg DR, Kaufman CA. *Enterococcal superinfection in patients treated with ciprofloxacin.* *J Antimicrob Chemother* 1988; 21: 113-115.
17. Willianson R, Le Bouguenec C, Gutmann L, Horand T. One or two low affinity penicillin –binding protein may be responsible for the range of susceptibility of *Enterococcus faecium* by benzylpenicillin. *J Gen Microbiol* 1985; 131: 1933-40.



18. Dutka Maler S, Blaimont B, Wanters G, Courvalin P. Emergence of high level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1675-77.
19. Murray BE. β -lactamase producing enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36: 2355-59.
20. Smith MC, Murray BE. Sequence analysis of the β -lactamase repressor from *Staphylococcus aureus* and hybridization studies with two β -lactamase-producing isolates of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 2265-69.
21. Murray BE, Singh KV, Markowitz SM, et al. Evidence for clonal spread of a single strain of β -lactamase producing *Enterococcus faecalis* to six hospitals in five states. *J Infect Dis* 1991; 163:780-85.
22. Fontana R, Aldegheri M, Ligozzi M, Lopez H, Sucari A, Satta G. Overproduction of a low affinity penicillin-binding protein and high level ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 58:1980-83.
23. Eliopoulos GM. Increasing problems in the therapy of Enterococcal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1983; 12:409-412.
24. Uttley AHC, Collins CH, Naidas J, George RC. Vancomycin resistant enterococci (letter) *Lancet* 1988; 1:57-8.
25. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319: 157-61.
26. Quintilliani R Jr, Evers S, Courvalin P. The Van B gene confers various levels of self-transferable resistance to vancomycin in enterococci. *J Infect Dis* 1993; 167: 1220-3.
27. Arthur M, Molinas C, Depardieu F, Courvalin P. Characterization of Tn 1546 a Tn 3. related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium*. *BMJ* 4147. *J Bacteriol* 1993; 175: 117-27.
28. Karijama R, Kumon H, Hammerup AM, Aarestrup AM, Bogo Jensen L. Identification of a Tn 1546-like (type 2) element in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from hospitalized patients in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(3): 992-3.
29. Gholizadeh V, Courvalin P. Acquired and intrinsic glycopeptide resistance in enterococci. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16 Suppl 1: S11-7.
30. Rice L. Emergence of Vancomycin-Resistant Enterococci. *Em Infect Dis* 2001; 7(2):183-87.
31. Williamson R, Al Obeid S, Shlaes JH, Goldstein FW, Shlaes DM. Inducible resistance to vancomycin in *Enterococcus faecium*. *D 366 J infect Dis* 1989; 159: 1095-104.
32. Dever L, China C, Eng R, O'Donovan C, et al. Vancomycin-resistant Enterococci faecium in a Veterans Affairs Medical Center: Association with antibiotic usage *Am J Infect Control* 1998; 26: 40-46.
33. Quale J, Landman D, Atwood E et al. Experience with a hospital-wide outbreak of vancomycin resistant enterococci. *Am J Infect Control* 1996; 24: 327-9.
34. Edmond MB, Ober JF, Weinbaumdl et al. Vancomycin-resistant Enterococci faecium bacteremia risk factors for infection. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1126-33.
35. Klaire I, Heier H, Claus H, Reissbrodt R, Witte W. Van A-mediated high level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 125: 165-172.
36. Wittew. Selective pressure by antibiotic use in livestock. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16 Suppl 1: S 19-24.
37. Lemck R, Bulte M. Occurrence of the vancomycin resistant genes Van A, Van B, Van C1, Van C2 y Van C3 in enterococcus strains isolated from poultry and pork. *Int J Food Microbiol* 2000; 25, 60 (2-3): 185-94.
38. Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. *Clin Infect Dis* 1997;24(suppl 1) S80-4.
39. Bates J, Jordens JZ, Griffiths DT. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-R enterococcal infections in man. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 507-14.
40. Morris JG, Shay DK, Heber JN et al. Enterococci resistant to multiple antimicrobial agents, including vancomycin: establishment of endemicity in a university medical center, *Ann Intern Med* 1995; 123: 250—259.
41. Moreno F, Grota P, Crisp C et al. Clinical and molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* during its emergence in a city in Southern Texas. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 1234-1237.
42. Montecalvo MA, Horowitz H, Gedris C et al. Outbreak of vancomycin, ampicillin and aminoglycoside resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in a adult oncology unit. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1363-1367.
43. Godet B, Van Landuyt H. Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tract of hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2842-2846.
44. Wade JJ. The emergence of *Enterococcus faecium* resistant to glycopeptides and other standard agents, preliminary report. *J. hosp Infect* 1995; 30 (suppl): 483-493.
45. Shay DK, Goldman DA, Jarvis WR. Reducing the spread of antimicrobial resistant microorganisms: control of vancomycin-resistant enterococci. *Pediatr Clin North Am* 1995; 42: 703-716.

46. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Polter-Bynor G, Sherman CB et al. Outbreak of multidrug resistant *Enterococcus faecium* with transferable Van B class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1148-53.
47. Edmond MB, Oben JF, Weinbaun DL, Pfaller MA, Hwang T, Sanford MD, Wenzel RP. Vancomycin resistant *Enterococcus faecium* bacteriemia; risk factors for infection. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1126-1133.
48. Montecalvo MA, Horowitz H, Glonis C, Carbonaro C, Tenover FC, Issah A, et al. Outbreak of vancomycin, ampicillin and aminoglycosides resistant *Enterococcus faecium* in an adult oncology unit. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1363-1367.
49. Noskin GA, Peterson LR, Warren JR. *Enterococcus faecium* bacteremia acquisition and outcome. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 296-301.
50. Montecalvo MA, de Lencastre H, Carraher M, et al. Natural history of colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16: 680-685.
51. Ostrowsky B, Steinberg GT, Farr B, Sohn AH, Sinkowitz-Cochran RL, Jarvis WR. Reality check: should we try to detect and isolate vancomycin resistant enterococci patients? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22(2): 116-9.
52. Hendrix CW, Hammond JM, Swoboda SM et al. Surveillance strategies and impact of vancomycin – resistant enterococcal colonization and infection in critically ill patients. *Ann Surg* 2001; 233 (2) : 259-65.
53. Hospital Infections Control Practices Advisory Committee. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *Infect Cont Hosp Epidemiol* 1995; 16: 105-113.
54. Garner JS. Hospital Infection Control Practises Advisory Committee Guideline for isolation precautions in hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17: 53-80.
55. Boyce Jm, Mermel L, Zevros MJ et al. Controlling vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16: 634-637.
56. Chadwick PR, Oppenheim BA, Fox A, Woodford N, Morgenstern GR, Scarffe JH. Epidemiology of an outbreak due to glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* on a leukaemia unit. *J Hosp Inf* 1996; 34: 171-182..
57. Ostewsky BE, Trick WE, Solin AH et al. Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001; 10 : 344 (19) : 1427-33.
58. Weinstein cultures JW, Tallapragada S, Farrel P, Dewbry LM, . Comparison of rectal and perirectal swabs for detection of colonization with vancomycin resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 210-212.
59. Patel, Allen SL, Manahan JM, Wright AJ, Krom RA, Wiesner RH, Persing DH, Cockerill FR, Thompson RL. Natural history of vancomycin-resistant enterococcal colonization in liver and kidney transplant recipients. *Liver Transpl* 2001 7 (1) : 27-31.
60. Summers M, Misenhimer GR, Antony SJ. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* osteomyelitis: successful treatment with quinupristin-dalfopristin. *South Med J* 2000; 94 (3) : 353-5.
61. Winston DJ, Emmanouilides C, Krober A et al. Quinopristin-Dalfopristin therapy for infections due to vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. *Clin Infect Dis* 2000; 30 (5) : 790-7.
62. Bazet C, Elicabe M, Velazquez JL, Silveira P. Resistencia del genero *Enterococcus*, vigilancia epidemiologica. XIV Congreso Latinoamericano de Patologia Clinica 2000; vol 33 : 83-84.
63. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections 1988 AJIC. *Am J Infect Control* 1988; 16 : 128-40.
64. Wong AH, Wenzel R, Edmond B. Epidemiology of bacteriuria caused by vancomycin resistant enterococci, a retrospective study. *Am J Infect Control* 2000 28 : 277-81.
65. Poduval RD, Kamath RP, Corpuz M, Nonkus EP, Pitchumoni CS. *Clostridium difficile* and vancomycin resistant enterococcus : the new nosocomial alliance. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (12) : 3513-5.
66. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 7th ed. Approved Standard M2A7- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne Pa.



Endolimax nana (Wenyon & O'Connor, 1917) (Amoebida, Endamoebidae) su presencia en la casuística del Hospital de Clínicas, consideraciones sobre su papel patógeno.

Salvatella, R.; Eirale, C.; Balleste, R.

LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA. REPARTICIÓN MICROBIOLOGÍA.
DPTO. DE LABORATORIO CLÍNICO. HOSPITAL DE CLÍNICAS.
FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA.
MONTEVIDEO. URUGUAY.

CORRESPONDENCIA: DR. ROBERTO SALVATELLA
DEPARTAMENTO DE LABORATORIO CLÍNICO, REPARTICIÓN MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL DE CLÍNICAS PI
AVDA ITALIA S/N, MONTEVIDEO 11600. URUGUAY
TELÉFONO/FAX (598-2) 487 87 01
E-MAIL: SALVATER@URU.OPS-OMS.ORG

RECIBIDO 30/08/2001, REVISIÓN RECIBIDA 17/12/2001. ACEPTADA 27/12/2001

RESUMEN

Endolimax nana es una pequeña amiba enteroparasita antrópica de reservorio exclusivamente humano, con distribución cosmopolita. Su patogenidad para el hombre es un tema discutido, aunque periódicamente se notifica casos clínicos de diarreas crónicas o enterocolitis o urticarias asociadas a su presencia.

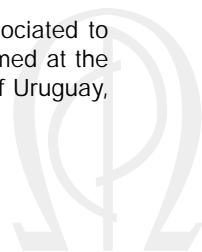
En el presente trabajo, se ilustra sobre la frecuencia, epidemiología y clínica asociada a *E. nana* en pacientes que consultaron o fueron objeto de un tamizaje por examen coproparasitario en el Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela", Facultad de Medicina, Universidad de la República Oriental del Uruguay, durante el lapso 1990-2000.

Palabras Claves: *Endolimax nana*, Amiba, Enteroparásito, Epidemiología

SUMMARY

Endolimax nana is a small anthropical enteroparasite ameba of exclusive human reservoir with cosmopolitan distribution. Its pathogenesis for men is arguable although clinical cases of chronic diarrhea or enterocolitis or urticaria associated to its presence have been periodically notified.

The present study deals with the frequency, epidemiology and clinic associated to *E. nana* in patients who consulted or a coparasite tamisage was performed at the Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, School of Medicine, University of Uruguay, between 1990-2000.



INTRODUCCIÓN

Endolimax nana (Wenyon & O'Connor, 1917) es una pequeña ameba enteroparásita antrópica, que pertenece a la Familia Endamoebidae de reservorio exclusivamente humano, con distribución cosmopolita (1,2).

Su morfología diagnóstica más frecuente es un quiste ovoide/elipsoidal de 5 por 10 u de eje, pudiendo llegar a 6 y 8 como promedio más frecuente. En los quistes maduros, que son los más comunes, es posible observar 4 núcleos (3).

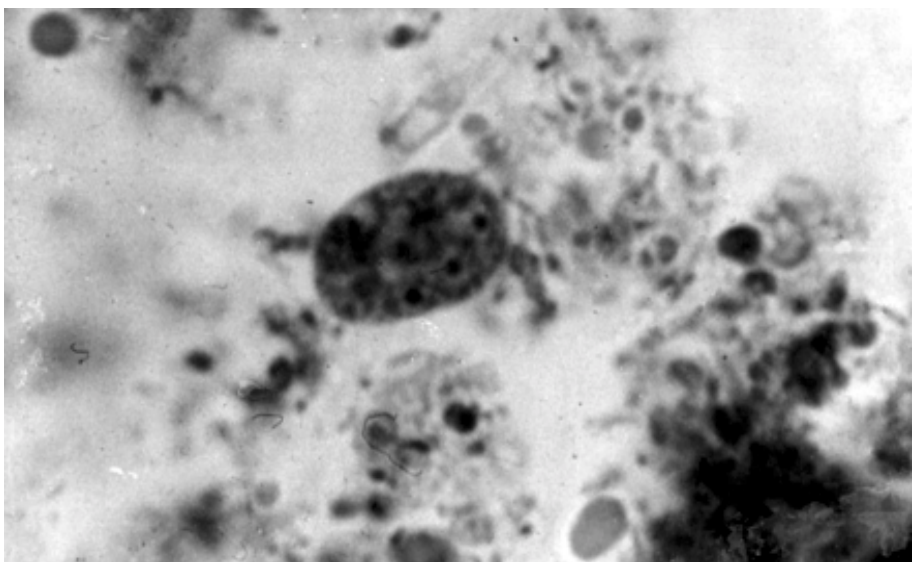
Estos núcleos, que se multiplican en el interior del quiste, en la microscopía óptica de diagnóstico, carecen de cromatina periférica, presentando cromatina cariosómica central difusa. Carecen de cuerpos cromatoideos definidos, sólo dispuestos en pequeñas granulaciones, y el glucógeno se presenta difuso. Colorean con lugol de color caoba intenso (Fig.1).

Del quiste emerge una ameba tetraquística, de inmediata reproducción por fisión en cuatro amebas metaquísticas. Estos trofozoítos, poco móviles, habitan en el lumen intestinal, sin capacidad invasiva. Los mismos, si no evolucionan a forma quística de multiplicación y resistencia al medio externo, se desintegran (4).

El ciclo fecal oral, de contaminación de alimentos y/o agua con materia fecal de portadores, cierra con la ingesta por humanos de formas quísticas infectantes.

Como toda enteroparasitosis el control de la transmisión de este agente se basa en algunas de las siguientes medidas: control ambiental, con saneamiento adecuado y provisión de agua potable; fomento de hábitos de higiene personal y ambiental; desarrollo de protección de alimentos en busca de inocuidad de los mismos e información y educación a la comunidad mediante efectores de salud, educación y comunicación social.

Fig.1.- Quiste de *Endolimax nana*, tinción tricrómica. Se pueden observar los cuatro núcleos, con cromatina y carencia de cromatina periférica, sobre citoplasma granulado. Microscopio óptico 1000X.



La patogenicidad de *E.nana* para el hombre es un tema discutido, y es considerada por algunos como un “comensal” no patógeno, cuya presencia en el intestino humano no hace otra cosa que indicar la presencia de un ciclo fecal-oral en el medio ambiente del paciente examinado. Esta posición es sostenida por la Division Parasitología del Centro de Control de Enfermedades Trasmisibles (CDC)(5) de Estados Unidos, quienes adjudican cualquier signo, sintomatología o patología clínica concomitante a razones coadyuvantes independientes, aunque resulten de un origen comun (ciclo fecal-oral)(6). Sin embargo, múltiples autores notifican periódicamente casos clínicos de diarreas crónicas o enterocolitis y cuadros urticariformes, entre otros; que se asocian a la presencia de *E.nana*, abriéndose una expectativa referida a la potencial patogenicidad que en algunos casos esta amiba pudiera suponer (7,8).

En Uruguay, su presencia fue descrita por Talice en el año 1928 (9), en diversas encuestas esta amiba fue notificada reiteradamente con variable frecuencia, para poblaciones atendidas en el subsector público o privado de salud de la ciudad de Montevideo, o en departamentos del interior (10,11,12,13,14).

En el presente trabajo, se ilustrará sobre la frecuencia, epidemiología y clínica asociada, en pacientes que consultaron o fueron objeto de un tamizaje por coproparasitario en el Hospital de Clinicas “Dr.Manuel Quintela”.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudió en el lapso 1990 al 2000, un total de 3845 pacientes con examen coproparasitario completo, consistente en examen microscópico: observación directa-enriquecimiento y examen macroscópico.

Los métodos de enriquecimientos que se utilizaron fueron: centrifugación-sedimentación (RITCHIE) (15) hasta el año 1996, y desde 1996 hasta 2000 por método PARAPACK MACRO-CON (Stool Concentration System. Meridian Diagnostics Inc. USA), siendo este último un método comercial de centrifugación-sedimentación con etil-acético (16,17).

Las muestras (directo y enriquecimiento) se procesaron con observación microscópica en suero fisiológico y en lugol parasitológico. En casos de duda morfológica o de determinación específica confusa se utilizaron coloraciones tricrómica, negro de clorazol o tiamina (18).

Se extrajeron los datos que figuraban en la solicitud del examen, tales como: edad, sexo, sintomatología o cuadro asociado.

Dado que mas del 70% de las “boletas de pedido del examen” eran incompletas (no adjuntando datos clínicos del paciente en estudio), se revisaron las historias clínicas de los pacientes, obteniéndose los datos relevantes para el estudio, tales como sintomatología y signología que motivó la consulta y por ende la solicitud del examen coproparasitario, otros exámenes paraclínicos realizados, tratamiento instituido y respuesta clínica al mismo.

Procesados y analizados los datos se formularon cuadros y gráficos para concluir las características y criterios del parasitismo por *E.nana* en nuestra casuística

RESULTADOS

En 3845 pacientes examinados, del año 1990 al 2000, se detectaron por coproparasitario un total de 426 positivos para algún tipo de enteroparásito (protozooario o helminto). (Tabla 1, Fig. 2 y Fig 3)

Tabla 1. Frecuencia de *Endolimax nana* en la Consulta coproparasitológica del Hospital de Clínicas 1999 - 2000. Departamento de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología

| Año | Ex. Totales | Ex. Positivos | Ex. Positivos E.nana |
|-------------|--------------------|----------------------|-----------------------------|
| 1990 | 408 | 28 (7%) | 6 (21,4%) |
| 1991 | 389 | 37 (10%) | 6 (21,4%) |
| 1992 | 416 | 53 (13%) | 8 (15%) |
| 1993 | 346 | 32 (9,2%) | 4 (13%) |
| 1994 | 484 | 52 (11%) | 6 (12%) |
| 1995 | 356 | 41 (12%) | 5 (12,1%) |
| 1996 | 350 | 47 (13,4%) | 4 (9%) |
| 1997 | 432 | 38 (9%) | 3 (8%) |
| 1998 | 299 | 46 (15,3%) | 4 (9%) |
| 1999 | 163 | 29 (18%) | 5 (17,2%) |
| 2000 | 202 | 23 (11,3%) | 8 (35%) |



Figura 2. Frecuencia de Exámenes Positivos en la Consulta Coproparasitológica del Hospital de Clínicas 1999-2000 Dpto. de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología.

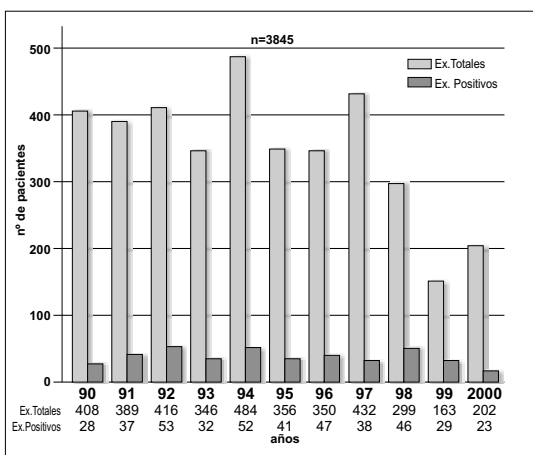


Figura 3. Frecuencia de Endolimax en la Consulta Coproparasitológica del Hospital de Clínicas 1999-2000 Dpto. de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología.

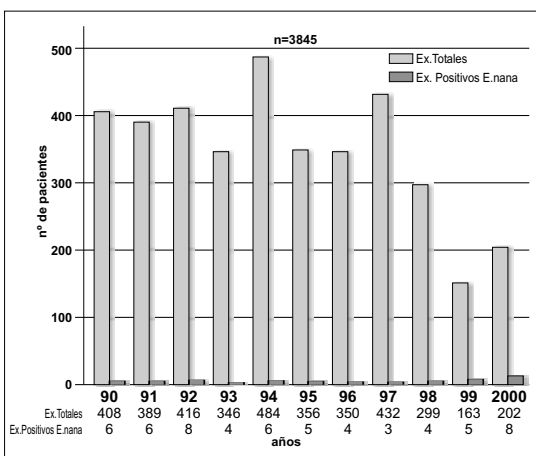
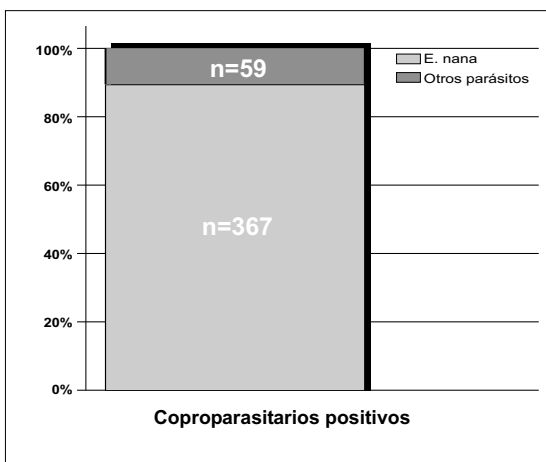


Figura 4. Frecuencia de Endolimax nana en el total de Coproparasitarios positivos (n=426). Hospital de Clínicas 1999-2000 Dpto. de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología.



En estos 426 positivos, 59 lo fueron a *E.nana*, contándose con datos clínicos de 16 de ellos, en razón de la frecuente baja calidad de llenado del pedido al laboratorio, por parte de los clínicos (Fig 3 y Fig 4).

Esto último motivó que se revisaran las 59 historias clínicas de los pacientes portadores de *E.nana*; de las mismas se recabaron los siguiente datos (Fig. 5 y Fig. 6):

Figura 5. Asociación entre Endolimax nana y la presencia de sistomatología Hospital de Clínicas 1999-2000 Dpto. de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología.

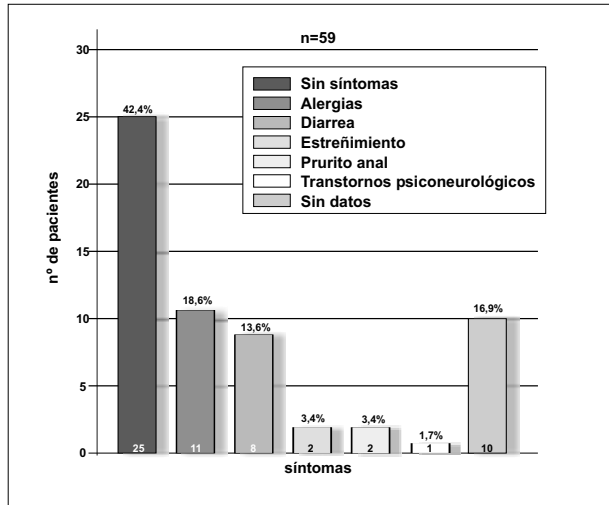
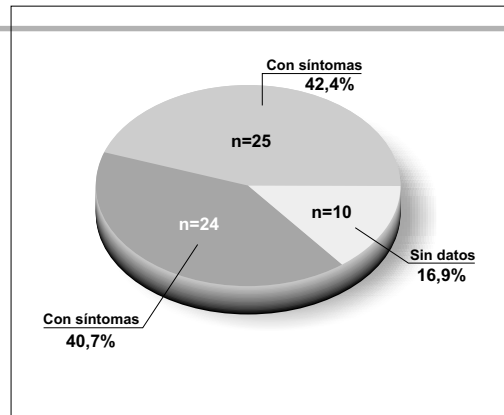


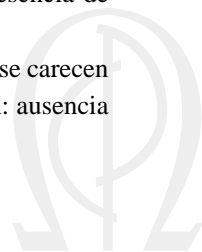
Figura 6. Frecuencia de sistomatología en pacientes con Endolimax nana. Hospital de Clínicas 1999-2000 Dpto. de Laboratorio Clínico. Sector Parasitología.



- 17 pacientes sin sintomatología, en quienes se solicitó el examen coproparasitario por la División Universitaria de la Salud (DUS) por trabajar en el Servicio de Cocina del Hospital de Clínicas. Dichos pacientes recibieron tratamiento con Metronidazol a dosis de 1,5 gr/día durante 7 días, siendo el criterio de tratamiento, la manipulación de alimentos que realizaban en su trabajo.
- 8 pacientes sin sintomatología, en quienes el examen coproparasitario se solicitó en el marco de estudios para valoración general del paciente. Ninguno de ellos recibió tratamiento específico (antiparasitario).



- 11 pacientes consultaron por diversos cuadros de tipo alérgico. 8 de estos pacientes eran portadores de: dermatitis atópica (5), psoriasis (2) y urticaria crónica(1); todos estaban recibiendo tratamiento con antialérgicos (antihistamínicos v/o y/o corticoides tópicos en forma de cremas y lociones). El motivo de consulta en estos pacientes fue la exacerbación de la sintomatología habitual, con aumento de prurito, aparición de lesiones periorales descamantes, aumento de lesiones eczematosas en manos y pliegues, entre otras. Todos los pacientes fueron asistidos en la policlínica del Dpto. de Dermatología del Hospital de Clínicas, realizándose un completo interrogatorio y examen físico y solicitándosele diversos exámenes en búsqueda de posibles focos infecciosos desencadenantes del empuje sintomático que presentaban; dentro de ellos se destaca hemograma, exudado faríngeo, exudado nasal, examen coproparasitario, examen micológico de piel y examen parasitológico de piel (en 2 de ellos). Dado que el examen coproparasitario detectó la presencia de *E.nana*, no encontrándose otras alteraciones en los exámenes paraclínicos solicitados (excepto en el hemograma: 4 pacientes portadores de una eosinofilia leve); se inició tratamiento específico con antiparasitarios, se indicó metronidazol v/o, las dosis empleadas osciló entre 1-2 grs/día y la duración del tratamiento entre 7-10 días. En todos los pacientes se constató mejoría clínica franca con pasaje de eczema activo a eczema clínicamente inactivo y en algunos casos con remisión completa de la sintomatología. Se realizó coproparasitario control a los 30 días del tratamiento, siendo el mismo negativo. Los restantes 3 pacientes que consultaron por cuadros alérgicos, no tenían antecedentes alérgicos, recibieron tratamiento antiparasitario, pero no se evidenció mejoría clínica.
- En 8 pacientes se solicitó el examen coproparasitario por la presencia de diarrea. En estos pacientes el motivo de consulta fue la presencia de diarrea crónica (con tiempo de evolución de 1 a 10 meses), las mismas se caracterizaron por el aumento del número de deposiciones con 2-5 deposiciones / día, de materias pastosas-líquidas, sin gleras, pus ni sangre. En la mayoría de los pacientes (6) se acompañó de dolor abdominal difuso. Todos los pacientes fueron estudiados en la Policlínica de Gastroenterología del Hospital de Clínicas, se solicitaron exámenes de valoración general, coproparasitario, en algunos coprocultivo(4) y fibrogastroscopía en 1 paciente por la presencia de síndrome ulceroso. Todos los pacientes recibieron tratamiento con metronidazol v/o a las dosis antes mencionadas (1-2 gr/día) durante 7-10 días. En todos ellos se comprobó mejoría clínica con desaparición de la sintomatología. Los exámenes coproparasitarios de control que se realizaron entre los 20-30 días siguientes se negativizaron.
- En 5 pacientes se detectaron otros síntomas (estreñimiento, prurito anal y trastornos del carácter), en estos pacientes no se indicó tratamiento, no pudiéndose constatar la relación existente entre esta sintomatología y la presencia de *E.nana*.
- En 10 de los pacientes con coproparasitarios positivos para *E.nana*, se carecen de datos clínicos, por diversas causas entre las que se mencionan: ausencia



de número de registro en la solicitud del examen, discordancia entre nombre y número de registro del paciente e historias no registradas en el Dpto. de Registros Médicos.

Por orden de frecuencia, las manifestaciones clínicas más frecuentemente asociadas al diagnóstico coproparasitario de *E.nana* fueron manifestaciones alérgicas (18.6%), diarrea (13.6%), estreñimiento (3,4%), prurito anal (3,4%), y nerviosismo (1,7%).(Fig 4).

Ello representa un total de 40.7% de pacientes parasitados con *E.nana* que presentaron sintomatología, mientras que el 42.4% fueron asintomáticos, careciendo de datos al respecto en el 16.9% restante (Fig. 6).

No hubo significancia del estudio de prevalencia en relación a edad o género.



COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

El parasitismo intestinal por *E.nana*, existe en Uruguay, y su presencia en nuestra casuística no estuvo ausente en ninguno de los 10 años de trabajo examinados.

Su prevalencia en el grupo examinado, es relativamente baja, tal como baja es la prevalencia general de las enteroparasitosis en esta población.

E.nana, es una de las Endamoebidae más frecuentes junto a *Entamoeba histolytica/dispar* y *Entamoeba coli*, y así se presenta en múltiples encuestas y casuísticas del Uruguay, y a lo largo del siglo.

Su asociación con sintomatología y patogenicidad no es clara, pero existen elementos que llevan a otorgarle algún tipo de rol en el cuadro que motiva la consulta coproparasitológica del paciente.

Tal sintomatología consiste de forma más frecuente en nuestra casuística en manifestaciones alérgicas o diarrea; en estos 2 grupos de pacientes se pudo comprobar la desaparición parcial o total de la sintomatología y signología que motivó la consulta, luego de instaurado un tratamiento antiparasitario específico, sin mediar otras medidas terapéuticas. De ello se desprende el posible rol patógeno que estaba ocupando *Endolimax nana* en los pacientes, ya sea exacerbando sintomatología alérgica o cambiando las formas de presentación de dermatitis en pacientes con antecedentes de atopías de larga data o por la aparición de sintomatología digestiva baja (diarrea).

De lo expuesto es posible concluir:

- *E.nana* existe y existió en nuestro medio, con un reservorio humano de entidad pequeña en población general.
- *E.nana* puede ser considerado un «comensal», como se mostró en esta casuística el 42,4% de los pacientes con *Endolimax nana* no presentaron síntomas ni signos, siendo solicitado el examen coproparasitario en virtud de la ocupación de los pacientes o en el marco de exámenes de valoración general; pero para considerarlo como tal (comensal) se debe interpretar correctamente la sintomatología y diagnóstico coproparasitario, junto a la totalidad de factores potencialmente causantes o coadyuvantes del cuadro clínico examinado.
- Pero indudablemente debe tratarse al paciente con tratamiento antiamibiano, ante la ausencia de otras causas de la sintomatología, sospecha evidente de ciclo «oral-fecal», o sintomatología persistente.

Endolimax nana puede ser considerada «comensal» y su presencia en el intestino del hombre denuncia una carencia de higiene ambiental que debe ser corregida. Pero, en algunas circunstancias y en algunos pacientes puede comportarse como un patógeno capaz de causar enfermedad, malestar y una baja en la calidad de la vida del paciente, ameritando estudio y tratamiento del caso, en una interpretación individual del médico tratante.



BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Talice,R.V.: Amibiasis. An.Fac.Med.Montevideo,22:307,1937.
- 2.- Beaver P.C. Amebas que habitan el aparato digestivo. Parasitología Clínica. 2ª Ed. 11:113-150, 1992.
- 3.- OPS: Protozoarios intestinales comunes en el humano. Diagramas de los ciclos de vida. Ed.OPS, Guías de Adiestramiento, PNSP/87-26, Washington DC, 1987.
- 4.- OPS: Morfología de estadios de diagnóstico de parásitos del hombre. Ed.OPS, Guías de Adiestramiento, PNSP/ 87-28, Washington DC, 1987.
- 5.- USA/CDC. Parasitic Disease Division. Amoebas (en línea). CDC, 2001: (5 pantallas)(Consulta 28 may.2001). Disponible en: <http://www.cdc.gov>
- 6.- Osimani,J.J.: Parasitología Médica. Ed.Lib.Médica, Montevideo, 1982.
- 7.- Veraldi,S.; Schinachi-Veraldi, R.; Gasparini,G. Urticaria Probably caused by *Endolimax nana*. Int J Dermatol. 30 (5):376, 1991.
- 8.- Alarcon-Segovia,D.; Abud,,MC. Parasitic rheumatism by *Endolimax nana*. J Reumathol 12 (1):184-185; 1985.
- 9.- Talice,R.V.: Enfermedades parasitarias del hombre y parásitos de interés médico. Ed.SMU, Montevideo, 1944.
- 10.- Osimani,J.J.: Parasitosis intestinales en la ciudad de Montevideo. Rev.Urug.Pat.Clinica, 1:51, 1963.
- 11.- Centurión,R.; Borba,N.; Chauvié,L. et al.: Proyecto "Ramón Trigo". Encuesta coproparasitológica en una población rural. Uruguay 1998. Rev.APS, 32:21, Montevideo, 1998.
- 12.- Eirale,C.; Salvatella,R.; Fazzio,S.: Frecuencia de Endamoebidae (amibas enteroparásitas) en una población hospitalaria. Lab.al Día,4: 55, Montevideo, 1999.
- 13.- Sanabria,S.; Basmadján,Y.; De Mello A. et al.: Enetroparasitosis en población mutal. Lab.al Día,4: 54, Montevideo, 1999.
- 14.- Acuña,A.; Fernández,A.; Mañana,R et al.: Enteroparasitosis en población hospitalaria. Lab.al Día,4: 54, Montevideo, 1999.
- 15.- Ritchie,LS. An Ether Sedimentation Technique for rutine Stool Examination,. Bull. U.S. Army Med Dept. 8:326, 1948.
- 16.- Garcia,LS.; Shimushi,R. Comparison of Clinical Results for the use of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the Formalin-Ether Sedimentation Technique Performed on Poliviny Alcohol Preserved Specimens. J Clin Microbiol, 13:709- 713, 1981.
- 17.- Yang,J.; Bullock,SL.; Melvin,DM;; et al. Ethyl Acetate as a Substitute for Diethyl Ether in the Ether-Formalin Sedimentation Technique. J Clin Microbiol 10: 852-853, 1989.
- 18.- Salvatella,R.; Eirale,C.: Examen coproparasitario. Metodología y empleo. Revisión técnica metodológica. Rev.Méd.Uruguay,12(3):215,1996.



SECCION INFORMATIVA

Durante el XIV Congreso Latinoamericano de Patología Clínica, V Congreso de Patología Clínica, VIII Congreso Uruguayo de Patología Clínica, I Jornadas Latinoamericanas de Residentes en Patología Clínica y III Encuentro de Medicina Transfusional del MERCOSUR realizada del 26 al 29 de octubre de 2000 en Montevideo- Uruguay, el COMITÉ CIENTÍFICO DEL CONGRESO integrado por los Dres Ana María García, María Albini, Inés Álvarez, Luis Borche, Carlos Krull, Jorge Mirabal, José Russi y David Sempol entre los trabajos presentados (Revista Uruguaya de Patología Clínica, 33, 2000) otorgó los siguientes premios:

PREMIO SUPAC- RELAB

“Hemostasis and genetic studies in deep vein trombosis” de los Dres L U Yamamoto (1), R Aun (2) y M Vainzot (3,4) del (1) Laboratorio de Coagulación HC-FMUSP, (2) Servicio de Cirugía Vascul ar FMVSP, (3) Centro de estudios del Genoma Humano IBUSP y (4) Departamento de Neurología FMUSP, San Pablo, Brasil.

“Evaluación de desempeño de los medidores de glucosa en sangre” de los Dres R. San Martín, G. Cabrera, C. Mier, C Muslera, M Lopez(*) y R. Hermo del Departamento de Laboratorio Clínico, Repartición Bioquímica, (*) División Universitaria de la Salud (DUS), Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay (Mención Especial)

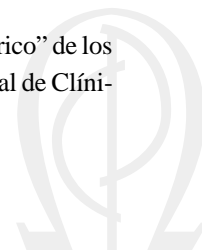
PREMIO SUPAC- ROCHE

“Anticuerpos antifosfolipídicos y proteína z” de los Dres B. Steffano de Perdomo (1), R. Forastiero (2) M. Martinuzzo (2) y L Kordich (3) del (1) CEDIHT, Montevideo, Uruguay, (2) Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina y (3) Facultad de Ciencias Exactas, UBA, Buenos Aires, Argentina.

PREMIO SUPAC – SIGMA (COMPARTIDO)

“Lipoproteínas (a) y riesgo aterogénico en pacientes en hemodiálisis crónica con estenosis y/o fibrosis vascular aórtica” de los Dres. A. Olascoaga(1), J. Ventura(2), N. Tavella(3); C. Romero(3), A. Petraglia(2), A. Baz(2), L. Muñoz(2), M. Andujar(1), M. Garau(3) y W. Alallón(1) del (1) Departamento de Laboratorio Clínico, (2) Centro de Nefrología, (3) Departamento de Cardiología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina. Montevideo, Uruguay

“Diferencial transferrina – albúmina (DTA) en el estudio del metabolismo férrico” de los Dres M. Rován y L. Borche del Departamento de Laboratorio Clínico Hospital de Clínicas Facultad de Medicina. Montevideo, Uruguay



Normas de publicación de manuscritos de la Revista Uruguay de Patología Clínica

El envío de un trabajo para su publicación en la Revista Uruguay de Patología Clínica implica la aceptación de las siguientes normas:

1.-

El original debe estar escrito en español, mecanografiado a doble espacio y de un solo lado del papel de formato carta estándar. Vendrá acompañado siempre de una copia y del disquete correspondiente. Podrán publicarse trabajos en otros idiomas cuando a juicio de la Dirección de la Revista sea de interés o conveniente.

El trabajo debe ir acompañado de una carta de presentación con la firma del autor que figura en la correspondencia, la cual debe contener, N° de Fax y/o mail. Debe especificar que el trabajo ha sido elaborado respetando las recomendaciones internacionales sobre investigación clínica o de corresponder sobre investigación en animales.

2.-

El artículo deberá contener: a) Título del trabajo; b) Nombre completo de los autores e Instituciones donde participan y patrocinio o donaciones para realizar el trabajo, de corresponder; c) Resumen en español e inglés de hasta 250 palabras; d) Palabras clave; e) Introducción; f) Material y Métodos; g) Resultados; h) Discusión, Comentarios, Conclusiones; i) Agradecimientos (de corresponder); j) Bibliografía

3.-

a) Las gráficas, mapas y otros dibujos deben ser tratados con una tinta negra sobre papel y fondo adecuados, preferentemente de color blanco. Pueden enviarse los originales o su reproducción fotográfica de calidad apropiada para su reproducción. Se identificarán con su número y no se incluirán en las páginas del texto original enviado.

b) Las fotografías macro y microscópicas deben ser presentadas en papel brillante. Todas las ilustraciones tendrán una nitidez y legibilidad aceptables, en el tamaño correspondiente al texto definitivo. Se identificarán con número y no se incluirán en las páginas del texto original enviado. Las correspondientes leyendas o títulos irán en otra hoja aparte y tendrán la máxima concisión posible.

c) Los cuadros llevarán en su parte superior un número de orden, independiente del orden de las ilustraciones y por debajo de dicho número, un título breve.

4.-

Únicamente podrán incluirse en la lista de referencias bibliográficas los trabajos citados en el texto e identificados en ambos lugares por un número, independiente del orden alfabético de los respectivos autores.

Las referencias bibliográficas: **a)** artículos de revista se indicarán en la siguiente forma



y orden: Apellido del autor y a continuación las iniciales del nombre; en caso de varios autores la separación entre uno y otro estará indicada sólo por una coma. Nombre completo del artículo. Nombre abreviado de la publicación. Año. Número del volumen. Número de la primera y última páginas separadas por un guión. Se usarán números arábigos.

Ejemplo:

3. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reagent. *J Biol Chem* 1994; 177: 751-66.

b) En el caso de libros, los datos bibliográficos se ceñirán al siguiente orden: Nombre de autor o autores, según detalles indicados para artículos de revistas. Volumen o volúmenes consultados, en números romanos, si la obra consta de más de un volumen; número de la edición si existe más de una. Nombre de la obra. Nombre de la ciudad. Nombre completo de la editorial. Año. La abreviatura del número de la edición y el nombre de la ciudad estarán escritos en español (este último, si fuera diferente al nombre original).

Ejemplo:

12. Kaplan LA, Pesce AJ (editores). Vol I, 2ª ed. *Clinical Chemistry; theory, análisis and correlation*. San Louis: Mosby Co., 1984.

En el caso de tratarse de un capítulo de un libro, proceder de acuerdo al ejemplo siguiente: Hartes M (eds.). *Progress in prolactin physiology and pathology*. Amsterdam: Elsevier, 1978, 361-70.

c) Congresos, Conferencias, Reuniones se indica el o los autores, títulos, N° del evento, evento, lugar, fecha.

Ejemplo:

Fruchart JC, *Mechanisms of the Rypolipidemie action of fibates*. 11th International Symposium on Atherosclerosis, París, 10 / 1997.

d) Artículos en formato electrónico se indica: Autores, título del artículo, abreviatura de la revista (designación del tipo de recursos). Fecha publicación, Volumen (número de páginas o pantallas) Obtenido de: Dirección URL.

Ejemplo:

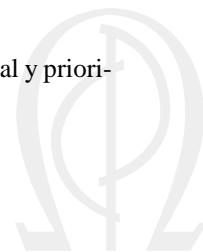
Morse SS. Factors in the emergente of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* (serie online) 1995 Jan-Mar; 1 (1): (24 seriens) Available from: URL:<http://www.cdc.gov/neidod/EID/eid.htm>.

5.-

Los trabajos tendrán una extensión máxima de 12 páginas de la Revista, incluyendo resúmenes, cuadros, ilustraciones y bibliografía. Por encima de ese número de páginas los trabajos no serán publicados, salvo autorización expresa de la Dirección de la Revista. Tampoco se publicarán trabajos con un número excesivo de cuadros o ilustraciones, sin que ello implique ningún juicio de valor científico.

6.-

Los artículos a publicarse en esta Revista tendrán exclusividad en lo nacional y prioridad con respecto a su publicación en el extranjero.



7.-

Las opiniones vertidas en los trabajos publicados en la Revista expresan exclusivamente el punto de vista de los autores. Los artículos serán evaluados por el Comité Editorial, que valorará forma y contenido del mismo. De ser tenido en cuenta será enviado a doble arbitraje, del cual se desprenderá **1) Aceptado 2) Publicado**, previa revisión y su aceptación **3) Rechazado**. El motivo del rechazo será notificado a los autores.

Los trabajos que no cumplieran con los requisitos indicados en los numerales 1 al 5 inclusive, serán devueltos por una vez para su corrección; si ésta no resultara satisfactoria, el trabajo será rechazado.

Todas estas normas están ajustadas a los requisitos publicados en N Engl S Med 1997; 336 (4):309-315, Requisitos uniformes para los manuscritos enviados a las revistas biomédicas.

