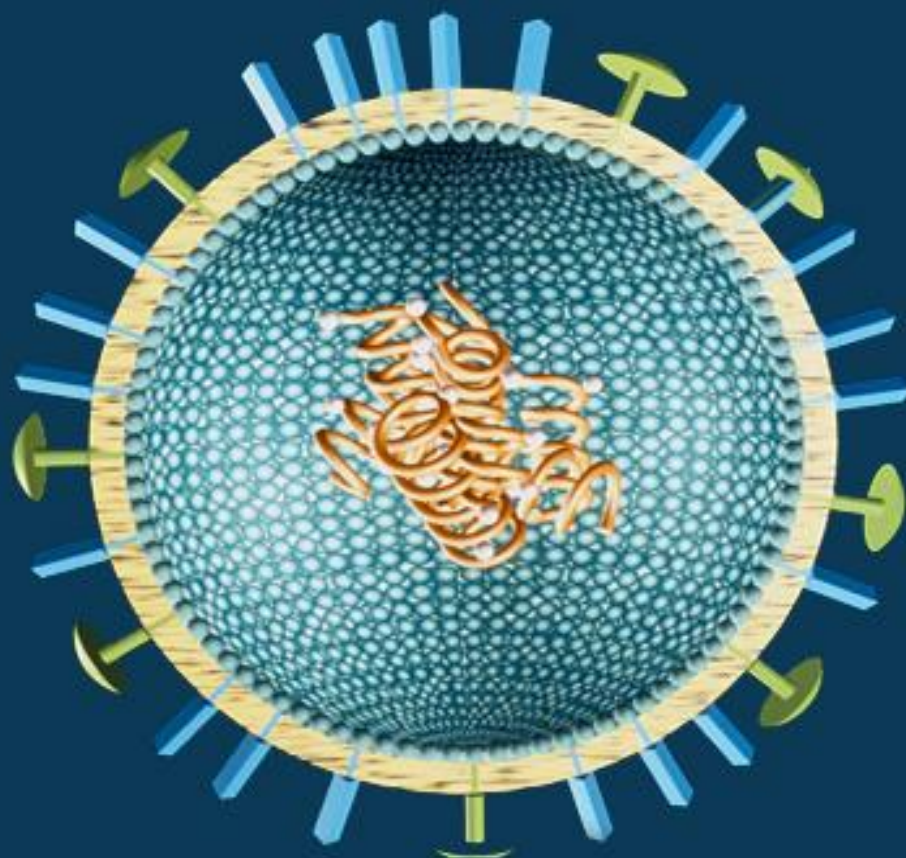




# Revista del Instituto de Medicina Tropical



ISSN 1996-3696  
Diciembre 2017  
Volumen 12 - Número 2  
Asunción - Paraguay

© 2017

**Revista del Instituto de Medicina Tropical**

**ISSN 1996 – 3696**

**Asunción – Paraguay**

**Tirada semestral**

**Versión electrónica disponible en:**

[www.imt.edu.py](http://www.imt.edu.py)

<http://scielo.iics.una.py>

<http://www.ins.gov.py/revistas/index.php/revistaimt>

*Revista del Instituto de Medicina Tropical* (ISSN 1996-3696) es una revista de publicación semestral, de distribución libre y gratuita, publicada por el Instituto de Medicina Tropical. Número inaugural publicado el 15 de diciembre de 2007. Dirección para correspondencia y suscripción Avda. Venezuela casi Florida. Tel/Fax. (+595 21) 292 164. Asunción – Paraguay.

Foto portada: Copyright Sanofi Pasteur

Los trabajos y opiniones que se publican en la revista son de exclusiva responsabilidad de los autores. La revista se reserva todos los derechos sobre los mismos.

La revista está integrada a **SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ON LINE (SciELO)**. <http://scielo.iics.una.py>

# Revista *del* Instituto *de* Medicina Tropical Asunción - Paraguay

Dr. Oscar Merlo Faella  
**Director General**

Dra. Nidia Mendoza  
**Directora Médica**

Prof. Dr. Antonio H. Arbo Sosa  
**Editor**

Biol. Gabriela Sanabria  
**Secretaria Técnica de Edición**

---

## [COMITÉ EDITORIAL]

---

**Dr. Silvio Apodaca** Instituto de Medicina Tropical  
**Dr. Gustavo Benítez** Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción - Instituto de Medicina Tropical.  
**Dra. Nidia Cáceres de Mendoza** Instituto de Medicina Tropical.  
**Dr. Carlos Kunzle** Universidad del Pacífico - Instituto de Medicina Tropical  
**Dra. Dolores Lovera** Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción - Instituto de Medicina Tropical.  
**Prof. Dra. Celia Martínez de Cuellar** Universidad Nacional de Asunción - Instituto de Medicina Tropical  
**Dra. Rosa Mayor** Instituto de Medicina Tropical.  
**Dr. Hernán Rodríguez** Instituto de Previsión Social - Instituto de Medicina Tropical  
**Dra. Cristina San Miguel** Universidad Nacional de Asunción - Instituto de Medicina Tropical

---

## [CONSEJO EDITORIAL]

---

- **Prof. Dr. Salvador Addario**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay.
- **Dr. Nicolás Aguayo**  
Hospital Nacional de Itaguá.
- **Dr. Felix Ayala**  
Instituto de Medicina Tropical
- **Dr. Eugenio Báez**  
Instituto de Previsión Social
- **Prof. Dr. José Bellassai**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Prof. Dra. Ana Campuzano de Rolón**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay.
- **Dra. Myriam Canas de Chirico**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Prof. Dr. Gustavo Cuellar**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay.
- **Prof. Dr. Esteban Grassi**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Dr. Adolfo Galeano**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Dr. Fernando Hamuy**  
Universidad de las Naciones Unidas. Instituto de Medicina Tropical
- **Dr. Julio Manzur**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Dr. Duilio Nuñez**  
Instituto de Previsión Social.
- **Prof. Dr. Royer Rolón**  
Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay
- **Dra. Gloria Samudio Domínguez**  
Hospital Nacional de Itaguá
- **Dra. Tania Samudio**  
Programa Nacional de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual
- **Dra. Aurelia Taboada**  
Programa Nacional de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual - Instituto de Medicina Tropical

# **Institute of Tropical Medicine**

## **Publication of Institute of Tropical Medicine**

### **Department of Public Health and Social Well-being**

Asunción - Paraguay  
Vol. 12 December, 2017 Nº 2

## **C O N T E N T**

### **Editorial**

- 01** Influenza: the changing virus  
*Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa*

### **Original Articles**

- 03** Genetic Evolution of Influenza A (H1N1) Virus pdm09 in Paraguay 2009-2016  
*Cynthia Vázquez, Shirley Villalba, María José Ortega, Andrea Gómez de la Fuente, María Liz Gamarra, Angélica Oviedo, Juan Torales, Marta Von Horoch*
- 14** Knowledge, attitudes and practices about the Oropouche, in medical students of Latin America, 2017  
*Carlos Miguel Rios-González, Ginno Alessandro De Benedictis-Serrano, Jessica F. Flores-Enríquez Alfonso David Chirino-Caicedo*
- 23** Nasal Porphyria of *Staphylococcus aureus* and its Association with Forunculosis to Repetition  
*Miryan Falcón, Mariel Brítez, Rosana Ortiz, Ma. Gloria Centurión, Carmen Barreto, Rolando Cáceres, Antonio Villalba, Elizabeth Godoy, Mario Martínez*
- 31** Good Manufacturing Practices and Risk Factors during Food Handling in the Municipal Markets of the Department of Caaguazú (2015-2016)  
*Pasionaria Ramos, Ninfa Fernández, Gladys Estigarribia, Patricia Ríos, Analía Ortíz*

### **Clinic case**

- 38** Chronic osteomyelitis of *Paracoccidioides braziliensis*  
*Juan Manuel Lambaré, Gabriela Sanabria, Aurelia Taboada, Stela Samaniego, Nielebock, Gustavo Benítez*
- 43** Instruction for authors

# **Revista del Instituto de Medicina Tropical**

**Publicación del Instituto de Medicina Tropical**

**Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social**

Asunción - Paraguay

Vol. 12 Diciembre 2017 Nº 2

## **C O N T E N I D O**

### **Editorial**

- 01** Influenza: el virus cambiante  
*Antonio Arbo Sosa*

### **Artículo Original**

- 03** Evolución Genética del Virus Influenza A(H1N1)pdm09 en Paraguay 2009-2016  
*Cynthia Vázquez, Shirley Villalba, María José Ortega, Andrea Gómez de la Fuente, María Liz Gamarra, Angélica Oviedo, Juan Torales, Marta Von Horoch*
- 14** Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el Oropouche, en estudiantes de medicina de Latinoamérica, 2017  
*Carlos Miguel Ríos-González, Ginno Alessandro De Benedictis-Serrano, Jessica F. Flores-Enríquez Alfonso David Chirino-Caicedo*
- 23** Portación Nasal de *Staphylococcus aureus* y su Asociación con Forunculosis a Repetición  
*Miryan Falcón, Mariel Brítez, Rosana Ortiz, Ma. Gloria Centurión, Carmen Barreto, Rolando Cáceres, Antonio Villalba, Elizabeth Godoy, Mario Martínez*
- 31** Buenas Prácticas de Manufactura y Factores de Riesgo Durante la Manipulación de Alimentos en los Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú (2015-2016)  
*Pasionaria Ramos, Ninfa Fernández, Gladys Estigarribia, Patricia Ríos, Analía Ortíz*

### **Caso clínico**

- 38** Osteomielitis crónica a *Paracoccidioides braziliensis*  
*Juan Manuel Lambaré, Gabriela Sanabria, Aurelia Taboada, Stela Samaniego, Nielebock, Gustavo Benítez*
- 43** Instrucción para los autores

# Influenza: el virus cambiante

## Influenza: the changing virus

Antonio Arbo<sup>1-2</sup>

1. Departamento de Docencia e Investigación. Instituto de Medicina Tropical.

2. Universidad Nacional de Asunción

Las epidemias de influenza causan 3 millones a 5 millones de casos severos y de 300.000 a 500.000 muertes a nivel mundial cada año, según la Organización Mundial de la salud (OMS)<sup>1</sup>. Solamente en EEUU (país con un sistema de vigilancia de referencia) se reportan 12.000 a 56.000 muertes cada año relacionadas con influenza, con la mayor carga de enfermedad en los extremos de la vida (niños menores y adultos mayores)<sup>2</sup>.

La temporada invernal en desarrollo en el hemisferio norte se está acompañando por la observación de que el número de casos de influenza que se reportan es el mayor desde el año 2009, año de la circulación de la cepa pandémica H1N1 (virus de influenza H1N1 pdm2009)<sup>2</sup>. El Paraguay, al igual que todos los países del continente no ha escapado a esa pandemia.

La colección de cepas H1N1 realizada por un grupo de investigadores nacionales Dra. Vázquez C y col<sup>3</sup> en colaboración con el Centro de Enfermedades Infecciosas de EEUU reportada en este número de la revista ha servido de base para el análisis filogenético de las mismas, que analiza las sustituciones de aas en las proteínas de superficie Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA) mostrando la circulación de cepas pertenecientes al menos a 5 grupos genéticos (5, 6, 6B, 6C, 6B.1) del virus de influenza A(H1N1)pdm09 en Paraguay desde el 2009. Aunque el análisis filogenético mostró que las cepas aisladas en el 2009 mostraban gran similitud con la cepa H1N1 contenida en la vacuna utilizada pos-2009 [virus de referencia A/California/07/2009 (H1N1)], posteriormente en los años siguientes las cepas muestran nuevas sustituciones que lo van alejando de la cepa vacunal A/California/07/2009 (H1N1). Un hecho significativo es que a partir del 2016 las cepas de influenza estudiadas pertenecen al grupo filogenético 6B.1, caracterizado por la sustitución S162N que modifica un sitio de glicosilación, lo que podría conducir a cambios en el reconocimiento antigénico. Virus de influenza del grupo emergente 6B.1, al cual pertenecen los virus de Paraguay aislados en el 2016, fueron poco inhibidos por algunos grupos de sueros humanos adultos posteriores a la vacunación. Además la media de los títulos de inhibición de sueros pediátricos pos vacunación contra algunos virus representativos del grupo 6B.1 se redujeron significativamente en comparación con los títulos contra el virus de la vacuna A/California/7/2009<sup>4</sup>. La sustitución de la cepa vacunal A/California/7/2009 por A/Michigan/45/2015 que ocurre en el 2017 puede permitir un mejor reconocimiento de los sitios antigénicos por los anticuerpos desencadenados por la administración de la vacuna de influenza.

Estas observaciones pueden ser una explicación en parte de la eficacia parcial de la vacuna en el Paraguay. Incluso en años cuando vacunas contra la influenza tienen una buena correlación con los virus de influenza circulante ("matching"), las estimaciones de

la eficacia de la vacuna se sitúan entre el 40 y 60%<sup>5</sup>. Este hecho junto a la publicación de Zost y col<sup>6</sup> quienes reportan la presencia de una particular mutación (T160K) durante el proceso de adaptación al huevo (la metodología clásica de producción de vacuna de influenza). La pérdida de un sitio de glicosilación de la hemaglutina en la cepa de la vacuna durante la adaptación de huevo, puede explicar basados en estudios en modelo animal y con sueros humanos, que los anticuerpos provocados por esa cepa vacunal neutralizaron deficientemente a los virus circulantes. Es probable que nuevas metodologías de producción de vacunas de influenza que permitan mayor estabilidad de la cepa pueda generar vacunas más eficaces.

La vigilancia permanente de las cepas de influenza es fundamental pues ayudan a comprender el impacto que pudieran tener las vacunas y ayudan en la toma de decisiones referente a los componentes que deben incluir las cepas vacunales en la siguiente temporada invernal de nuestro país.

### Referencias bibliográficas

1. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. Influenza. Lancet. 2003;362:1733-1745.
2. Blantos L, Wentworth DE, Alabi N et al. Update: influenza activity-United States and worldwide, May 21-setember 23, 2017. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2017; 66:1043-51.
3. Vazquez C, Villalba S, Ortega MJ y col. Evolución Genética del Virus Influenza A(H1N1)pdm09 en Paraguay 2009-2016. Rev Inst Med Trop 2017; 12:3-13.
4. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2017 southern hemisphere influenza season. [http://www.who.int/entity/influenza/vaccines/virus/recommendations/201609\\_recommendation.pdf?ua=1](http://www.who.int/entity/influenza/vaccines/virus/recommendations/201609_recommendation.pdf?ua=1)
5. Tricco AC, Chit A, Soobiah C, et al. Comparing influenza vaccine efficacy against mismatched and matched strains: a systematic review and meta-analysis. BMC Med. 2013;11:153.
6. Zost SJ, Parkhouse K, Gumina ME et al. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strains. Proc Natl Acad Sci USA 2017; 114:12578-12583

# Evolución Genética del Virus Influenza A(H1N1) pdm09 en Paraguay 2009-2016

## Genetic Evolution of the Influenza A (H1N1)pdm09 Virus in Paraguay 2009-2016

Cynthia Vázquez<sup>1</sup>  
Shirley Villalba<sup>1</sup>  
María José Ortega<sup>1</sup>  
Andrea Gómez de la Fuente<sup>1</sup>  
María Liz Gamarra<sup>1</sup>  
Angélica Oviedo<sup>1</sup>  
Juan Torales<sup>1</sup>  
Marta Von Horoch<sup>2</sup>

1. Laboratorio Central de Salud Pública

2. Dirección General de Vigilancia De La Salud

Una cepa triple reasortante del virus Influenza A emergió en el año 2009 dando origen a una pandemia que alcanzó a Paraguay en junio del mismo año. Con el fin de investigar la evolución genética del virus influenza A (H1N1) pdm09 en Paraguay fueron analizadas las secuencias nucleotídicas del Gen de la Hemagglutininina de 20 cepas de Influenza A(H1N1)pdm09, aisladas en el Centro Nacional de Influenza de Paraguay entre los años 2009 y 2016, y secuenciadas en el Centro Colaborador de OPS/OMS en Atlanta USA. El análisis filogenético muestra la circulación de al menos 5 grupos genéticos bien diferenciados de Influenza A(H1N1)pdm09 en Paraguay desde el 2009. Solamente los virus aislados en el 2016 pertenecen al sub Grupo genético 6B.1 en el cual se encuentra la actual cepa vacunal A/Michigan/45/2015 recomendada para el hemisferio Sur desde el año 2017. Los virus circulantes en años anteriores pertenecen a grupos antigénicamente indistinguibles de la cepa vacunal previa A/California/7/2009. No se encontraron diferencias resaltantes en las secuencias de los virus, relacionadas a severidad clínica ni a distribución geográfica. Los resultados de este estudio reafirman la necesidad de una vigilancia virológica sistemática para orientar el establecimiento de estrategias adecuadas de prevención y control de la influenza

**Palabras clave:** Cepa vacunal, filogenia, vigilancia virológica.

### Abstract

A triple reassortant strain of Influenza A virus emerged in 2009, leading to a pandemic that reached Paraguay by June the same year. In order to investigate the genetic evolution of influenza A (H1N1)pdm09 virus in Paraguay, we analyzed the nucleotide sequences of the Hemagglutinin gene of 20 Influenza A (H1N1)pdm09 strains, isolated at the Paraguayan National Influenza Centre between 2009 and 2016, and sequenced at the PAHO/WHO Collaborating Center in Atlanta, USA. Phylogenetic analysis shows the



circulation of at least 5 well-differentiated genetic groups of Influenza A (H1N1) pdm09 in Paraguay since 2009. Only the viruses isolated in 2016 belong to genetic subgroup 6B.1, the same as the current vaccine strain A/Michigan/45/2015, recommended for the Southern hemisphere since 2017. The viruses circulated previous years belong to groups antigenically indistinguishable from the previous vaccine strain A/California/7/2009. No significant differences were found in sequences of the viruses, related to clinical severity or geographic distribution. The results of this study reaffirm the need for systematic virological surveillance to guide the establishment of adequate strategies for the prevention and control of influenza

**Key words:** Vaccine strain, phylogeny, virological surveillance

Fecha de recepción: 09/10/2017

Fecha de aceptación: 15/11/2017

**Correspondencia:**

Dra. Cynthia Vázquez

cynthiavlm@yahoo.com

Laboratorio Central de Salud Pública

## Introducción

Los virus de la influenza (VI) sufren continuamente cambios genéticos, ya sea mediante sustituciones puntuales de aminoácidos (aas) denominados deriva antigénica, o por intercambio de segmentos completos, para evadir la presión del sistema inmune del huésped y adaptarse a nuevos huéspedes<sup>1</sup>. En el año 2009, la circulación de una cepa triple reasortante de Influenza A (A/H1N1pdm2009), desplazó a las previamente circulantes, y ha estado evolucionando continuamente desde entonces hasta la actualidad<sup>2-4</sup>. Los cambios experimentados en los aas del virus pueden alterar sus características antigénicas, su virulencia y su sensibilidad a los antivirales<sup>5</sup>.

La infección por Influenza A(H1N1)pdm09 es principalmente una enfermedad del tracto respiratorio superior leve y autolimitante. El espectro de presentación clínica varía desde casos asintomáticos hasta neumonía viral primaria que resulta en dificultad respiratoria aguda, falla multiorgánica y muerte.<sup>6</sup> La patogenicidad del virus de la influenza depende de la función de las proteínas virales y de la respuesta inmune del huésped,<sup>7</sup> de modo que tanto factores virales como del huésped inciden en la patogénesis de la gripe.

El análisis filogenético basado en los cambios de nucleótidos que conducen a sustituciones de aas en las proteínas de superficie Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA) del VI, en conjunto con los análisis antigénicos, son realizados como parte de la vigilancia virológica, a fin de monitorear el impacto en la severidad de los casos y realizar recomendaciones apropiadas sobre las cepas a ser incluidas en las vacunas anuales<sup>8</sup>. Desde su primera detección en Paraguay, en junio de 2009, el VI A(H1N1)pdm09 ha circulado en el país todas las temporadas siguientes, ocasionando tanto casos de enfermedad tipo influenza (ETI) en pacientes ambulatorios como Infecciones respiratorias agudas graves (IRAG) en hospitalizados.

El objetivo de este trabajo es estudiar la diversidad genética del segmento HA de los virus influenza A (H1N1) 2009 circulantes en Paraguay entre 2009 y 2016

## Materiales y métodos

Se estudiaron muestras representativas de pacientes provenientes de diferentes regiones del Paraguay, captados por la Vigilancia Centinela de ETI e IRAG entre los años 2009 y 2016. Fueron seleccionados 20 pacientes con diagnóstico confirmado de VI A(H1N1)pdm09, 11 de ellos ambulatorios con ETI y 9 hospitalizados con IRAG, a fin de investigar diferencias en la secuencia genómica de los virus aislados a partir de sus muestras. Los datos clínicos y demográficos de los pacientes fueron obtenidos de las fichas epidemiológicas completadas en los centros asistenciales.

Fueron analizadas las secuencias nucleotídicas del Gen HA de las 20 cepas de VI A(H1N1)pdm09, detectadas por RT-PCR en Tiempo Real y aisladas en el Centro Nacional de Influenza (CNI) de Paraguay entre los años 2009 a 2016; y posteriormente secuenciadas en el Centro Colaborador de OPS/OMS en Atlanta USA (CDC). Todas las secuencias, incluidas las de referencia fueron tomadas de la base de datos "Global Initiative on Sharing All Influenza Data" (GISAID EpiFlu™). Las secuencias fueron alineadas con cepas de referencia y editadas mediante el programa Bioedit y la aplicación Muscle. El análisis filogenético fue realizado por el método neighbor-joining utilizando el programa MEGA 6<sup>9</sup>. Las sustituciones de aminoácidos y variaciones en los sitios de glicosilación fueron tabuladas utilizando la aplicación Cubit, comparando con el virus vacunal A/California/07/2009 (H1N1).

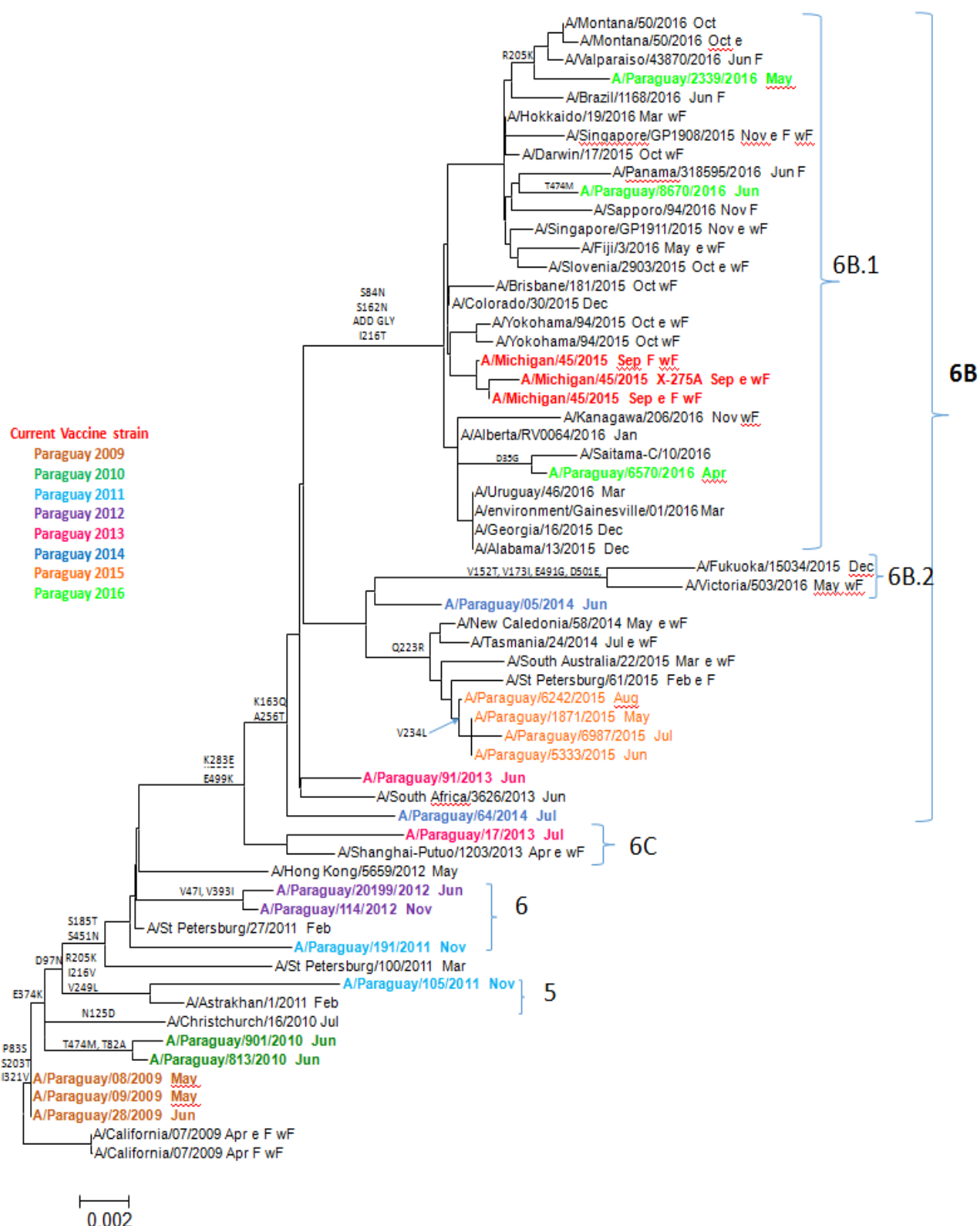
## Resultados

Los datos de procedencia y hospitalización de los pacientes estudiados se describen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Datos de procedencia y hospitalización de los pacientes estudiados. Paraguay 2009 – 2016

<b>AÑO</b>	<b>Región Sanitaria</b>	<b>N° de Pacientes Ambulatorios</b>	<b>N° de Pacientes Hospitalizados</b>
2009	Central	2	
	Asunción	1	
2010	Caazapa		1
	Guaira	1	
2011	Asunción	1	
	Concepción		1
2012	Central		1
	Asunción		1
2013	Central	1	
	Alto Paraná		1
2014	Asunción		1
	Amambay	1	
2015	Asunción	2	
	Central	1	
	Caaguazu		1
2016	Asunción		1
	Central	1	
	Caaguazu		1
<b>TOTAL</b>		<b>11</b>	<b>9</b>

El análisis filogenético muestra la circulación de cepas pertenecientes al menos a 5 grupos genéticos (5, 6, 6B, 6C, 6B.1) de VI A(H1N1)pdm09 en Paraguay desde el 2009 (Figura1).



**Figura 1.** Relaciones evolutivas entre la gripe A (H1N1) pdm09 Gen de hemaglutinina (HA). Paraguay 2009-2016

Los virus del 2009 fueron muy cercanos al virus de referencia A/California/07/2009 (H1N1), con solo 3 sustituciones de aas (P83S, S203T, I132V). Se nota una tendencia a incrementar progresivamente la frecuencia del número acumulado de sustituciones de aas las siguientes temporadas de influenza, con 6 y 8 sustituciones en el 2010, entre las que destacan como nuevas: E374K, T474M, T82A. (Tabla 2).

**Tabla 2.** Sustituciones de aminoácidos en el segmento HA de los virus Influenza A(H1N1)pdm09 circulantes en Paraguay 2009-2016

	35	47	69	70	74	82	83	84	94	97	137	138	139	153	154	156	162	163	171	185	187	190	203	205	215	216	234	249	256	257	260	283	321	356	374	393	401	403	434	451	468	474	485	488	493	499	509	510	525	527																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
	D	V	S	L	S	T	P	S	D	P	H	A	K	K	N	S	K	K	S	D	S	S	R	A	I	V	V	A	M	N	K	I	E	E	V	E	R	T	S	Y	T	D	K	A	E	R	I	V	V																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
California/07/2009_Apr_F_wF							S	N	N								N	Q	R	T			T	K	T	T	T	T	T		E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Paraguay/2339/2016_May							S	N	N								N	Q	T				T		T	T	T	T	T		E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Paraguay/8670/2016_Jun							S	N	N								N/T	Q	T				T		T	T	T	T	T		E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Paraguay/6570/2016_Apr	G						S	N	N									Q	T				T								E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Paraguay/05/2014_Jun						I	S	N	N														T								T	I	E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
Paraguay/6242/2015_Aug							S	N	N									Q	T				T				I/T	L	T		E	V	K				D																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
Paraguay/1871/2015_May							S	N	N									Q	T				T				L	T			E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Paraguay/6987/2015_Jul							S	N	N									Q	T				T				L	T			E	V	K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			

Una de las cepas del 2011 pertenece al Grupo 5, caracterizado por las sustituciones R205K, I216V, V249L. Otra cepa del 2011 y las del 2012 pertenecen al Grupo 6 caracterizado por las sustituciones S185T y S451N, además todos presentan la mutación D97N. Las cepas del 2012 presentan las sustituciones adicionales V47I y V393I. Uno de los virus aislados en 2013 pertenece al grupo 6C caracterizado por las sustituciones de aaas K283E y E499K; mientras que otro virus del 2013 al igual que los del 2014 y 2015 quedaron en el Grupo 6B caracterizado por las sustituciones K163Q y A256T. Solamente los virus aislados en 2016 pertenecen al sub Grupo genético 6B.1 con la característica sustitución S162N que agrega un motivo de glicosilación (Tabla 3), además de las sustituciones en S84N y I216T. En este mismo grupo se encuentra la actual cepa vacunal A/Michigan/45/2015.

**Tabla 3.** Cambios en los Sitios de glicosilación del segmento HA de los virus Influenza A(H1N1)pdm09 circulantes en Paraguay 2009-2016

CEPA VIRAL	SITIOS DE GLICOSILACION	10	11	23	87	119	162	276	287	481	540
A/California/07/2009_Apr_F_wF_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/2339/2016_May_9gs	9	X	X	X	X		X	X	X	X	X
A/Paraguay/8670/2016_Jun_9gs	9	X	X	X	X		X	X	X	X	X
A/Paraguay/6570/2016_Apr_9gs	9	X	X	X	X		X	X	X	X	X
A/Paraguay/05/2014_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/6242/2015_Aug_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/1871/2015_May_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/6987/2015_Jul_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/5333/2015_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/91/2013_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/64/2014_Jul_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/17/2013_Jul_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/20199/2012_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/114/2012_Nov_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/191/2011_Nov_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/105/2011_Nov_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/901/2010_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/813/2010_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/08/2009_May_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/09/2009_May_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X
A/Paraguay/28/2009_Jun_8gs	8	X	X	X	X			X	X	X	X

No se encontraron diferencias resaltantes entre las secuencias de lo virus pertenecientes a pacientes ambulatorios y hospitalizados dentro de cada año. Tampoco se detectaron diferencias importantes según región geográfica dentro del mismo periodo de tiempo.

## Discusión

En el presente estudio hemos identificado al menos 5 grupos genéticos diferentes de VI A(H1N1)pdm09 que circularon en Paraguay desde su primera introducción en junio del 2009 hasta el año 2016. Esta agrupación está basada en variaciones de aas de la HA, que es la glicoproteína de la superficie viral responsable de la unión al receptor de la célula huésped y la posterior fusión de membrana y entrada viral.<sup>10</sup> La HA juega un papel importante en la respuesta inmune del huésped, estimulando la producción de anticuerpos neutralizantes responsables de la inmunidad protectora<sup>11-13</sup>.

Entre los virus de Paraguay estudiados algunos presentan mutaciones relacionadas a sitios antigénicos como K163Q, S185T, S203T y R205K. Los cambios de aminoácidos que ocurren en los sitios antigénicos o en la superficie de la molécula de HA pueden tener un efecto importante en el reconocimiento de anticuerpos, permitiendo al virus escapar de la respuesta inmune<sup>14</sup>. Entre otras mutaciones relevantes que presentan los virus estudiados, se encuentran las sustituciones de aminoácidos S185T dentro del sitio de unión al receptor, y I216V cerca de del mismo sitio, que pueden afectar la interacción de la HA con su receptor celular<sup>15</sup>.

Ninguno de los virus de Paraguay presento la mutación D222G que ha sido considerado un marcador de virulencia asociado con mayor severidad clínica<sup>16</sup>. Esta mutación ha sido asociada a un aumento de la avidéz en la unión viral a receptores celulares que poseen ácido siálico unido a galactosa por un enlace  $\alpha 2,3$ <sup>17, 18</sup>. Este tipo de receptores se encuentran en la región alveolar de los pulmones humanos lo que podría explicar la neumonía grave, al igual que en los casos humanos de infección H5N1, lo que estaría indicando la existencia de replicación viral en las vías respiratorias inferiores<sup>19</sup>. En concordancia con este hallazgo, los pacientes estudiados no manifestaron diferencias en la severidad clínica atribuibles a mutaciones virales, ya que los virus tanto de los casos ambulatorios como de los hospitalizados presentaron secuencias similares de aas dentro de un mismo periodo de tiempo. Por lo tanto habría que investigar otras causas para la severidad de la infección en algunos de estos pacientes, como comorbilidades o co-infecciones, lo cual escapa a los objetivos de este estudio.

Según estudios realizados en los centros colaboradores de OMS, los VI pertenecientes a todos los grupos genéticos detectados son antigénicamente indistinguibles del virus vacunal A/California/7/2009, a pesar de los cambios en aas y sitios de glicosilación<sup>20</sup>. Sin embargo según las recomendaciones para el hemisferio sur en el 2017, virus representativos del grupo emergente 6B.1, al cual pertenecen los virus de Paraguay aislados en el 2016, fueron poco inhibidos por algunos grupos de sueros humanos adultos posteriores a la vacunación. Además la media de los títulos de inhibición de sueros pediátricos pos vacunación contra algunos virus representativos del grupo 6B.1 se redujeron significativamente en comparación con los títulos contra el virus de la vacuna A/California/7/2009<sup>21</sup>. Por ese motivo por primera vez desde la pandemia del año 2009, se sustituyó la cepa vacunal A/California/7/2009 por A/Michigan/45/2015. La nueva cepa vacunal pertenece al grupo 6B.1 caracterizado por la sustitución S162N que modifica un sitio de glicosilación, lo que podría conducir a cambios en el reconocimiento antigénico.

El análisis de la evolución genética del VI A(H1N1)pdm09 en Paraguay, indica que recién desde el año 2016 circularon en el país cepas pertenecientes al grupo antigénico emergente al cual pertenece la nueva nueva cepa vacunal recomendada a partir del año 2017. Mientras que los virus circulantes en años anteriores pertenecen a grupos genéticos que resultaron antigénicamente similares a la cepa vacunal previa A/California/7/2009.



## Conclusión

Estos resultados demuestran la importancia de la Vigilancia virológica sistemática y la caracterización genética de los virus de Influenza, en la provisión de datos oportunos para la formulación adecuada de vacunas recomendadas a nuestra región; así como en la detección de cambios en el genoma viral, que podrían estar relacionados a un aumento de la severidad clínica, de manera a alertar al sistema de salud para responder apropiadamente ante los brotes de influenza.

## Reconocimientos

Agradecemos a CDC por el apoyo financiero para la adquisición de reactivos e insumos en el marco del Proyecto “Sostenibilidad de la Vigilancia de Influenza”; a OPS/OMS por el apoyo técnico para la Vigilancia virológica y epidemiológica de Influenza; al Fondo para la Convergencia Estructural de Mercosur (COF 03/11), por el apoyo en la contratación de las investigadoras María Liz Gamarra y Andrea Gómez de la Fuente.

**Reconocemos a los autores, laboratorios de origen y laboratorios que remitieron las secuencias disponibles en la base de datos GISAID's EpiFlu™ en la cual esta investigación está basada. La lista se detalla a continuación.**

Segmento ID	Segmento	País	Nombre del aislado	Laboratorio de Origen	Laboratorio Remitente	Autores
EPI721763	HA	Japan	A/SAITAMA-C/10/2016	Saitama City Institute of Health Science and Research	NIID	Takashita, Emi; Fujisaki, Seiichiro; Shirakura, Masayuki; Watanabe, Shinji; Odagiri, Takato
EPI828660	HA	Uruguay	A/Uruguay/46/2016	Departamento de Laboratorio de Salud Pública (DLSP)	CDC	
EPI176504	HA	United States	A/California/07/2009	Naval Health Research Center	CDC	
EPI700671	HA	United States	A/Colorado/30/2015	Colorado Department of Health Lab	CDC	
EPI716307	HA	United States	A/Georgia/16/2015	Georgia Public Health Laboratory	CDC	
EPI685436	HA	United States	A/Alabama/13/2015	ADPH Bureau of Clinical Laboratories	CDC	
EPI759256	HA	Canada	A/Alberta/RV0064/2016	National Microbiology Laboratory, Health Canada	CDC	
EPI842069	HA	Brazil	A/Brazil/1168/2016	Instituto Oswaldo Cruz FIOCRUZ - Laboratory of Respiratory Viruses and Measles (LVRS)	CDC	
EPI662594	HA	United States	A/Michigan/45/2015	Michigan Department of Community Health	CDC	
EPI668427	HA	United States	A/Michigan/45/2015	Michigan Department of Community Health	CDC	
EPI849370	HA	United States	A/Michigan/45/2015 X-275A (16/274)		NIBSC	Nicolson, Carolyn
EPI862979	HA	United States	A/Montana/50/2016	Montana Laboratory Services Bureau	CDC	
EPI871202	HA	United States	A/Montana/50/2016	Montana Laboratory Services Bureau	CDC	
EPI815676	HA	Panama	A/Panama/318595/2016	Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la	CDC	
EPI849443	HA	Singapore	A/Singapore/GP1908/2015	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	CDC	
EPI768541	HA	Slovenia	A/Slovenia/2903/2015	National Institute for Medical Research	CDC	
EPI625972	HA	Russian Federation	A/St Petersburg/61/2015	Russian Academy of Medical Sciences	CDC	
EPI830111	HA	Chile	A/Valparaiso/43870/2016	Instituto de Salud Pública de Chile	CDC	

EPI676509	HA	Japan	A/YOKOHAMA/94/2015	Yokohama City Institute of Public Health.	NIID	Takashita, Emi; Fujisaki, Seichiro; Shirakura, Masayuki; Watanabe, Shinji; Odagiri, Takato
EPI673558	HA	Japan	A/YOKOHAMA/94/2015	Yokohama City Institute of Public Health.	NIID	Takashita, Emi; Fujisaki, Seichiro; Shirakura, Masayuki; Watanabe, Shinji; Odagiri, Takato
EPI858855	HA	Slovenia	A/Slovenia/2903/2015	Laboratory for Virology, National Institute of Public Health	Crick Worldwide Influenza Centre	
EPI956861	HA	Australia	A/South Australia/22/2015	Institute of Medical and Veterinary Science (IMVS)	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Kaye, M.; Komadina, N.
EPI706473	HA	Japan	A/FUKUOKA/15034/2015	Fukuoka Institute of Public Health and Environmental Sciences	NIID	Takashita, Emi; Fujisaki, Seichiro; Shirakura, Masayuki; Watanabe, Shinji; Odagiri, Takato
EPI769352	HA	Japan	A/HOKKAIDO/19/2016	Hokkaido Institute of Public Health	NIID	Takashita, Emi; Fujisaki, Seichiro; Shirakura, Masayuki; Watanabe, Shinji; Odagiri, Takato
EPI917557	HA	Japan	A/Kanagawa/206/2016	National Institute of Infectious Diseases (NIID)	CDC	
EPI917659	HA	Japan	A/Sapporo/94/2016	National Institute of Infectious Diseases (NIID)	CDC	
EPI704084	HA	Australia	A/Brisbane/181/2015	Queensland Health Scientific Services	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI675532	HA	Australia	A/Darwin/17/2015	Royal Darwin Hospital	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI793049	HA	Fiji	A/Fiji/3/2016	National Centre for Scientific Services for Virology and Vector Borne Diseases	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI746509	HA	Singapore	A/Singapore/GP1911/2015	Ministry of Health, Singapore	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI956794	HA	Australia	A/Victoria/503/2016	Monash Medical Centre	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Kaye, M.; Komadina, N.
EPI748148	HA	New Caledonia	A/New Caledonia/58/2014	Institut Pasteur New Caledonia	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI748200	HA	Australia	A/Tasmania/24/2014	Royal Hobart Hospital	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	Deng, Y.-M.; Iannello, P.; Spirason, N.; Lau, H.; Komadina, N.
EPI577031	HA	South Africa	A/South Africa/3626/2013	National Institute for Medical Research	CDC	
EPI477030	HA	China	A/Shanghai-Putuo/1203/2013	WHO Chinese National Influenza Center	National Institute for Medical Research	
EPI382424	HA	Hong Kong (SAR)	A/Hong Kong/5659/2012	Hong Kong Department of Health	Hong Kong Department of Health	Mak, G. C.; Lo, J. Y. C.
EPI319527	HA	Russian Federation	A/St. Petersburg/27/2011	WHO National Influenza Centre Russian Federation	National Institute for Medical Research	
EPI316435	HA	Russian Federation	A/St. Petersburg/100/2011	Russian Academy of Medical Sciences	CDC	
EPI319590	HA	Russian Federation	A/Astrakhan/1/2011	WHO National Influenza Centre Russian Federation	National Institute for Medical Research	
EPI280344	HA	New Zealand	A/Christchurch/16/2010	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza	CDC	
EPI221023	HA	Paraguay	A/Paraguay/08/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC	
EPI183250	HA	Paraguay	A/Paraguay/09/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC	
EPI184390	HA	Paraguay	A/Paraguay/28/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC	



EPI301698	HA	Paraguay	A/Paraguay/813/2010	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI301701	HA	Paraguay	A/Paraguay/901/2010	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI349349	HA	Paraguay	A/Paraguay/105/2011	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI349352	HA	Paraguay	A/Paraguay/191/2011	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI387972	HA	Paraguay	A/Paraguay/114/2012	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI394758	HA	Paraguay	A/Paraguay/20199/2012	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI842146	HA	Paraguay	A/Paraguay/6570/2016	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI828436	HA	Paraguay	A/Paraguay/2339/2016	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI825445	HA	Paraguay	A/Paraguay/8670/2016	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI706423	HA	Paraguay	A/Paraguay/6987/2015	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI706415	HA	Paraguay	A/Paraguay/6242/2015	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI643471	HA	Paraguay	A/Paraguay/1871/2015	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI643439	HA	Paraguay	A/Paraguay/5333/2015	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI543034	HA	Paraguay	A/Paraguay/64/2014	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI543028	HA	Paraguay	A/Paraguay/05/2014	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI485771	HA	Paraguay	A/Paraguay/91/2013	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI484969	HA	Paraguay	A/Paraguay/17/2013	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI394758	HA	Paraguay	A/Paraguay/20199/2012	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI387972	HA	Paraguay	A/Paraguay/114/2012	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI349352	HA	Paraguay	A/Paraguay/191/2011	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI349349	HA	Paraguay	A/Paraguay/105/2011	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI301701	HA	Paraguay	A/Paraguay/901/2010	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI301698	HA	Paraguay	A/Paraguay/813/2010	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI183250	HA	Paraguay	A/Paraguay/09/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI221023	HA	Paraguay	A/Paraguay/08/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC
EPI184390	HA	Paraguay	A/Paraguay/28/2009	Laboratorio Central de Salud Pública	CDC

## Referencias bibliográficas

1. Suárez P, Valcarcel J, Ortín J. Heterogeneity of the mutation rates of influenza A viruses: isolation of mutator mutants. *J Virol.* 1992;66:2491-4.
2. Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, et al. In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. *Nature.* 2009;460:1021-5.
3. Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature.* 2009;459:1122-5.
4. Klimov AI, Garten R, Russell C, Barr IG, Besselaar TG, Daniels R, Engelhardt OG, Grohmann G, Itamura S, Kelso A, McCauley J, Odagiri T, Smith D, Tashiro M, Xu X, Webby R, Wang D, Ye Z, Yuelong S, Zhang W, Cox N. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Vaccine: epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from February to September 2011. *Vaccine.* 2012 Oct 5;30(45):6461-71.
5. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science.* 2009;325:197-201.

6. Girard MP, Tam JS, Assossou OM, Kieny MP. The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: a review. *Vaccine*. 2010;28:4895-902.
7. Everitt AR, Clare S, Pertel T, John SP, Wash RS, Smith SE, et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature*. 2012;484:519-23.
8. Hungnes O. The role of genetic analysis in influenza virus surveillance and strain characterisation. *Vaccine*. 2002;20 Suppl 5:B45-9.
9. Tamura K1, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013 Dec;30(12):2725-9.
10. Skehel JJ, Wiley DC. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu Rev Biochem*. 2000;69:531-69.
11. Caton AJ, Brownlee GG, Yewdell JW, Gerhard W. The antigenic structure of the influenza virus A/PR/8/34 hemagglutinin (H1 subtype). *Cell*. 1982;31(2 Pt 1): 417-27.
12. Winter G, Fields S, Brownlee GG. Nucleotide sequence of the haemagglutinin gene of a human influenza virus H1 subtype. *Nature*. 1981;292:72-5.
13. Xu R, Ekiert DC, Krause JC, Hai R, Crowe JE Jr, Wilson IA. Structural basis of preexisting immunity to the 2009 H1N1 pandemic influenza virus. *Science*. 2010;328:357-60.
14. Antón A, Pozo F, Niubó J, Casas I, Pumarola T. Influenza A(H1N1)pdm09 virus: viral characteristics and genetic evolution. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012 Oct;30 Suppl 4:10-7.
15. Yang H, Carney P, Stevens J. Structure and receptor binding properties of a pandemic H1N1 virus hemagglutinin. *PLoS Curr*. 2010;2:RRN1152.
16. Kilander A, Rykkvin R, Dudman SG, Hungnes O. Observed association between the HA1 mutation D222G in the 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus and severe clinical outcome, Norway 2009-2010. *Euro Surveill*. 2010;15:19498.
17. Childs RA, Palma AS, Wharton S, Matrosovich T, Liu Y, Chai W, et al. Receptorbinding specificity of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus determined by carbohydrate microarray. *Nat Biotechnol*. 2009;27:797-9.
18. Belser JA, Jayaraman A, Raman R, Pappas C, Zeng H, Cox NJ, et al. Effect of D222G mutation in the hemagglutinin protein on receptor binding, pathogenesis and transmissibility of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. *PLoS One*. 2011;6:e25091.
19. Chutinimitkul S, Herfst S, Steel J, Lowen AC, Ye J, Van Riel D, et al. Virulence-associated substitution D222G in the hemagglutinin of 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus affects receptor binding. *J Virol*. 2010;84:11802-13.
20. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2016–2017 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec*. 2016;91:121-32. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26971356>
21. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2017 southern hemisphere influenza season. [http://www.who.int/entity/influenza/vaccines/virus/recommendations/201609\\_recommendation.pdf?ua=1](http://www.who.int/entity/influenza/vaccines/virus/recommendations/201609_recommendation.pdf?ua=1)

# Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el Oropouche, en estudiantes de medicina de Latinoamérica, 2017

## Knowledge, attitudes and practices about the Oropouche, in medical students of Latin America, 2017

Carlos Miguel Rios-González<sup>1</sup>  
Ginno Alessandro De Benedictis-Serrano<sup>2</sup>  
Jessica F. Flores-Enríquez<sup>3</sup>  
Alfonzo David Chirino-Caicedo<sup>2</sup>

1. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Caaguazú, Cnel. Oviedo, Paraguay.
2. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo Sede Aragua. Venezuela.
3. Facultad de Ciencias Médica, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

### Resumen

**Objetivo:** Determinar los conocimientos, actitudes y prácticas sobre el Oropouche, en estudiantes de Latinoamérica de marzo a abril del 2017.

**Material y métodos:** Estudio observacional, descriptivo de corte transversal, con muestreo no probabilístico de casos consecutivos. Para la recolección de los datos se realizó mediante un instrumento validado para el efecto. Los datos se expresan en medidas de tendencia central, dispersión y proporciones.

**Resultados:** Fueron incluidos 1046 estudiantes de medicina, de 18 a 28 años de edad, con una mediana de 21 años (P25=20 P75=22), de los cuales el 58,51 % (612) perteneció al sexo femenino, siendo de los cursos cuarto en 40,15 % (420). El nivel de conocimiento fue en 88,72%(928) bajo, las actitudes el 36,90% (386) de los estudiantes están indecisos y/o dudosos sobre si los entes gubernamentales podrían evitar la propagación del OROV. El 52,96%(554) de los estudiantes de medicina no usan repelentes y otros métodos preventivos en ningún momento del día

**Conclusión:** el nivel de conocimiento en general fue bajo, las actitudes indecisas y/o dudosas y con malas prácticas respecto al oropouche.

**Palabras clave:** Conocimientos, Actitudes y Práctica en Salud; Infecciones por Arbovirus, Arbovirus.

### Abstract

**Objective:** To determine the knowledge, attitudes and practices on the Oropouche, in Latin American students from March to April 2017.

**Material and methods:** Observational, descriptive cross-sectional study with non-probabilistic sampling of consecutive cases. The data were collected using a validated

instrument for the effect. The data are expressed in measures of central tendency, dispersion and proportions.

**Results:** A total of 1046 medical students, aged 18 to 28 years, with a median age of 21 (P25 = 20 P75 = 22) were included, of which 58.51% (612) were females. The fourth courses at 40.15% (420). The level of knowledge was at 88.72% (928) low, attitudes 36.90% (386) of students are undecided and/or doubtful about whether government entities could prevent the propagation of OROV. 52.96% (554) of medical students do not use repellents and other preventive methods at any time of the day

**Conclusion:** the level of knowledge in general was low, the attitudes indecisive and/or dubious and with bad practices regarding the oropouche.

**Keywords:** Knowledge, Attitudes and Practice in Health; Arbovirus infections; Arbovirus

Fecha de recepción: 01/06/17

Fecha de aceptación: 11/10/17

**Correspondencia:**

Carlos Miguel Ríos González

Asunción, Paraguay

[carlosmigue\\_rios@live.com](mailto:carlosmigue_rios@live.com)

+595971708328

## Introducción

En años recientes el virus Oropouche (OROV), arbovirus de la familia *Bunyaviridae*, genero *Orthobunyavirus*, cuya manifestación es denominada como fiebre de oropouche (OROF), ha sido la causa principal de enfermedades causadas por arbovirus en Brasil después del dengue (DENV)<sup>1</sup>. Este virus fue aislado por primera vez en 1955 en un paciente febril con malaria que residía en una localidad llamada Vegas de Oropouche de la Isla Trinidad y Tobago y en un principio se consideró como una novedad clínica por lo que era desconocido<sup>2</sup>.

Durante los últimos 45 años, muchos brotes de OROF, se han descrito en las Américas, este virus ha sido aislado en comunidades rurales y urbanas de Brasil, Panamá, Perú, Ecuador y Trinidad y Tobago y desde entonces se ha convertido en un problema de salud pública en las zonas con alto potencial de extensión y países con los determinantes ecológicos tropicales como lo son América Central y América del Sur<sup>3,4</sup>.

En las áreas rurales el OROV es transmitido entre primates, osos perezosos, marsupiales y aves, mediante los vectores *Aedes serratus* y *Culex quinquefasciatus* constituyendo la forma selvática o rural, asintomática y silente, que mantiene al virus en la naturaleza<sup>5</sup>, lo cual indica que no es necesario que el humano esté presente para mantener el desarrollo natural del arbovirus, por otra parte, está la forma urbana, que es la epidémica, en la cual el OROV es transmitido de humano a humano por el vector *Culicoides paraensis* determinando la forma urbana del arbovirus<sup>1,5</sup>.

La enfermedad produce un cuadro similar al dengue, presenta un periodo de incubación de 4 a 8 días, con rango entre 3 y 12 días, el inicio es súbito, generalmente con fiebre, cefalea, artralgia, mialgias, escalofríos, y a veces náuseas y vómitos persistentes hasta 5 a 7 días, en algunos pacientes, la convalecencia puede demorar 2 semanas, también ocasionalmente puede presentarse meningoencefalitis provocando daños en el Sistema Nervioso Central (SNC)<sup>6,7</sup>. Los síntomas son similares a los de otras

enfermedades tropicales virales como el Dengue, Chikungunya, Mayaro, Zika y otras arbovirosis<sup>7</sup>.

El OROV no causa la muerte, la morbilidad es con frecuencia alta y resulta en una disminución de la productividad en los pacientes infectados, los conocimientos sobre los mecanismos de transmisión y permanencia del virus continúan siendo rudimentarios, y su similitud con otras arbovirosis provoca falencias en los organismos del estado produciendo altos gastos en recursos de salud, pérdida laboral, inasistencia académica y sufrimiento social<sup>1,5</sup>.

Asimismo ha sido considerada en los últimos años como re-emergente en países latinoamericanos<sup>8</sup>. Brotes han sido publicados desde Brasil, Venezuela y Perú<sup>5</sup> lo que demuestra su diseminación actual.

El diagnóstico es el mismo que otras arbovirosis mediante transcripción inversa (RT) seguido por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) , ELISA de captura IgM Oropouche<sup>9</sup> , teniendo en cuenta que cada país debe contar con los métodos de diagnósticos adecuados para un manejo preciso y prevención de epidemias con respecto a las arbovirosis .

En la actualidad hay escasos estudios sobre los conocimientos de arbovirosis que puedan tener los estudiantes de medicina, en el caso de OROV debido a que no tiene una distribución alarmante en todo el continente latinoamericano es ignorado por lo que no es tema de enseñanza en las cátedras de las distintas universidades. En base a lo anterior, se planteó como objetivo, determinar los conocimientos, actitudes y prácticas sobre el Oropouche, en estudiantes de Latinoamérica de marzo a abril del 2017.

## Materiales y métodos

**Diseño de estudio:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal, con muestreo no probabilístico por conveniencia sobre el conocimiento, las actitudes y prácticas (CAP) sobre el virus y la fiebre de Oropouche en estudiantes de medicina de Latinoamérica durante los meses de febrero a abril del 2017.

**Población y muestra:** Fueron incluidos 1046 estudiantes de la carrera de medicina de primero a octavo año de las distintas universidades afiliadas a la Federación Latinoamericana de Sociedades Científicas de Estudiantes de Medicina (FELSOCM), durante los meses de febrero a abril de 2017. El cuestionario electrónico se publicó en redes sociales (Facebook y Twitter), envíos por aplicación telefónica de mensajería instantánea (Whatapp) y a correos electrónicos. A todos los participantes del estudio se les notificó de los objetivos del estudio y aquellos que estuvieron de acuerdo, procedieron al llenado del cuestionario electrónico mediante Google Doc®.

**Criterios de inclusión y Exclusión:** Fueron incluidos los estudiantes de medicina de las distintas universidades afiliadas a FELSOCM durante los meses de marzo a abril del 2017 que hayan accedido a llenar el cuestionario. Fueron excluidos todos aquellos estudiantes cuyas respuestas fueron incompletas o inconsistentes y aquellos que no hayan llenado las variables sociodemográficas.

**Instrumento:** Se diseñó un cuestionario, que contenía 25 preguntas, divididas en 4 secciones: epidemiología, conocimientos, actitudes y prácticas. Se incluyeron 12 preguntas de conocimiento que miden los niveles del estudiante con respecto al virus, sus manifestaciones clínicas y epidemiología , 5 preguntas que miden actitud y 3 preguntas que miden las prácticas de prevención de la enfermedad por medio de una escala de Likert.

**Validación y confiabilidad del instrumento:**

- **Cualitativo:** se realizó con un epidemiólogo y dos médicos expertos en enfermedades tropicales quienes evaluaron todas las preguntas. Se utilizó el método Delphi.
- **Cuantitativo:** se realizó un estudio piloto en 40 estudiantes de medicina de primer a octavo año de la carrera de medicina del azar afiliados a la FELSOCEM los cuales fueron excluidos de la muestra final.

**Aspectos éticos:** toda la información recogida por los investigadores fue tratada con confidencialidad, igualdad y justicia, no se divulgó ni repitió ninguno de los resultados. Análisis estadístico: todos los datos proveídos por los cuestionarios fueron cargados a Microsoft Office Excel 2013 ©, y luego del control de calidad fueron exportados para su análisis en Stata 14.0. Los datos se expresan en tablas de frecuencias, medidas de tendencia central y dispersión. Para el análisis de confiabilidad se obtuvo con el coeficiente de alfa de Cronbach (valor mayor de 0,7 define una confiabilidad aceptable).

**Resultados**

En total 1046 estudiantes de medicina respondieron el cuestionario, de 18 a 28 años de edad, con una mediana de 21 años (P25=20 P75=22), de los cuales el 58,51 % (612) perteneció al sexo femenino, siendo de los cursos cuarto en 40,15 % (420) y segundo en 23,33 % (244). El mayor de participantes fue de Venezuela 392 (37,48%) seguido de colombianos 132 (12,62 %) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Distribución de los estudiantes de medicina de Latinoamérica de acuerdo a las características generales, 2017

Variable	Frecuencia	%
<b>Edad</b>		
18 a 19 años	146	13.96
20 a 24 años	870	83.17
25 a 29 años	24	2.29
30 a más años	6	0.57
<b>Sexo</b>		
Masculino	434	41.49
Femenino	612	58.51
<b>País</b>		
Argentina	16	1.53
Bolivia	48	4.59
Chile	130	12.43
Colombia	132	12.62
Ecuador	98	9.37
México	72	6.88
Panamá	62	5.93
Paraguay	52	4.97
Perú	44	4.21
Venezuela	392	37.48
<b>Año cursando actualmente</b>		
1° año	28	2.68
2° año	244	23.33
3° año	208	19.89
4° año	420	40.15
5° año	118	11.28
6° año	22	2.10
7° año	6	0.57
8° año	28	2.68

El nivel de conocimiento fue en 88,72%(928) bajo y 11,28%(118) un nivel medio (Tabla 2), la mediana de puntaje fue de 0 (P25=0 P75=3).

Con respecto a las actitudes el 36,90% (386) de los estudiantes están indeciso y o dudoso sobre si las entes gubernamentales podrían evitar la propagación de Oropouche, el 38,62% (404) está indeciso y o dudoso sobre si público tiene el papel más importante en el control del Oropouche, mientras que el 34,61 % (362) está de acuerdo. El 61,76%(646) de los estudiantes están indeciso y o dudoso sobre si está en riesgo de adquirir la infección, 43,79% (458) está indeciso y/o dudoso respecto a si la infección es prevenible y el 74,76% (782) está indeciso y/o dudoso sobre si la infección por Oropouche es mortal (Tabla 3).

**Tabla 2.** Distribución de los estudiantes de medicina de Latinoamérica de acuerdo al nivel de conocimiento, 2017

Nivel de conocimiento	Frecuencia	%
Bajo	928	88.72
Medio	118	11.28
Alto	0	0

**Tabla 3.** Distribución de los estudiantes de medicina de Latinoamérica según las actitudes, 2017

	Totalmente en desacuerdo	En desacuerdo	Indeciso /Dudoso	De acuerdo	Totalmente de acuerdo
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
¿El público tiene el papel más importante en el control del OROV?	22 (2.10)	28(2.68)	404 (38.62)	362 (34.61)	230 (21,99)
¿Cree usted que está en riesgo de contraer OROV?	40 (3.82)	50 (4.78)	646 (61.76)	220 (21.03)	90 (8.60)
¿Cree usted que la infección por OROV se puede prevenir?	16 (1.53)	309 (29.06)	458(43.79)	4 (0.38)	264 (25.24)
¿Es la infección por OROV una enfermedad mortal?	52 (4.97)	62 (5.93)	782 (74.76)	128 (12.24)	22 (2.10)
¿Los gubernamentales son los responsables de la propagación del OROV?	44 (4.21)	56 (5.35)	386 (36.90)	328 (31.36)	232 (22.18)

En cuanto a las prácticas 52,96%(554) de los estudiantes de medicina no usan repelentes y otros métodos preventivos en ningún momento del día, mientras que el 21,03%(220) solo lo usa por las noches. En el caso de fiebre 65,39 % (684) da paracetamol en caso de síndrome febril en el hogar, y el 22,56% (236) acude a un médico



de inmediato. El 57,74% (604) de los estudiantes en caso de viaje a zonas selváticas se protege con ropa todo el cuerpo (Tabla 4).

**Tabla 4.** Distribución de los estudiantes de medicina de Latinoamérica según las prácticas, 2017

Variable	N	%
<b>Utiliza repelentes y mosquiteros como métodos preventivos</b>		
Al estudiar.	16	1.53
Durante el día	30	2.87
En viajes y excursiones	220	21.03
Ninguna.	554	52.96
Solo en las noches.	74	7.07
Todas.	152	14.53
<b>En caso de alguien con artralgia en casa, que realiza</b>		
Acude al médico.	236	22.56
Espera que calme los síntomas	48	4.59
Aplica agua fría	62	5.93
Da antipiréticos.	684	65.39
Protege a las personas de condiciones ambientales	4	0.38
Da plantas medicinales	12	1.15
<b>Si usted viaja a la selva qué precauciones toma para evitar la picadura de insectos</b>		
Ninguna.	88	8.41
Todas.	604	57.74
Usa ropa.	68	6.50
Usar mosquiteros.	22	2.10
Usar repelente,	64	6.12

## Discusión

La propagación de la infección por OROV en los diversos países de Latinoamérica, radica principalmente en la propagación vectorial<sup>7</sup>. En el continente europeo existe una amplia distribución de los vectores del genero *Culicoides* principales transmisores de este virus<sup>10</sup>, mientras que en Venezuela el *Coquilletidea venezuelensis* se ha registrado a su vez como vector, siendo crítico la erradicación de este por su resistencia, incluso se menciona que es capaz de competir y desplazar al *Aedes aegypti*<sup>11</sup>.

Si bien la transmisión es principalmente vectorial, se han realizado estudios experimentales de inoculación subcutánea en hámsteres dorados o ratones lactantes, causando graves daños en los mismos, esto comprueba la posibilidad de infectar a roedores<sup>12,13</sup>, lo cual es preocupante debido a que el OROV pertenece a la misma familia viral del Hantavirus el cual es causante de complicaciones clínicas muy severas y es transmitido por roedores<sup>14</sup>.

La preocupación por la emergencia del OROV en Latinoamérica, se contempla en la dificultad para realizar el diagnostico, debido a la alta presencia de otras abovirosis en la región<sup>15</sup>, esto trae a contemplar que es sustancial que los profesionales de salud laborando y los estudiantes de ciencias médicas en formación de las Universidades ubicadas en zonas endémicas, tengan óptimos conocimientos, actitudes y prácticas sobre el tema.



De la totalidad de estudiantes incluidos en el trabajo se encontró que la mayor participación en estudiantes fue de Venezuela y Colombia, esto podría indicar un mayor interés hacia estos conocimientos, esto llama la atención debido a que son países que aún no han presentado casos de esta infección, a diferencia de otros países que si han reportado brotes como en el caso de Perú y Brasil, pero con un menor interés de participación en el estudio<sup>16-18</sup>

Es alarmante encontrar que en la mayoría de los participantes el conocimiento fue bajo con un 88.72% en comparación a otra arbovirosis como el ZIKV<sup>19</sup>, el DENV y el CHIKV<sup>20</sup>, y tan sólo el 11.28% presentó un nivel medio, si bien es una arbovirosis emergente cabe destacar que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha destacado la inclusión como diagnóstico diferencial después del brote epidémico en Perú<sup>21</sup>.

Otro punto que llama la atención que un alto porcentaje de estudiantes se muestran indecisos y/o dudosos respecto a esta infección, esto se debe al bajo nivel de conocimiento registrado en el estudio, cabe destacar que es alta la proporción de estudiantes indecisos y/o dudosos sobre si el público tiene el papel más importante en el control del Oropouche, lo cual es la alarmante puesto que es bien sabido que lo principal en la lucha vectorial es la labor del público en general.

Referente a las prácticas la mayoría de encuestados de los estudiantes de medicina no usan repelentes y otros métodos preventivos en ningún momento del día y apenas el 21,03% lo usa por las noches, esto coincidente con estudios anteriores<sup>22</sup>. Esto sin tomar en cuenta el área climática de residencia de los estudiantes, lo que representa un limitante; puesto que, estudiantes de medicina que habitan en zonas andinas no tienen costumbre ni necesidad de usarlo.

Los datos encontrados en este estudio indican que el 65.39% de los estudiantes de medicina de Latinoamérica prescribe paracetamol en el caso de síndrome febril en el hogar, y el 22,56% acude a un médico de inmediato. Como futuros profesionales en el área de la salud no se deberían realizar estas prácticas ya que están en plena formación académica y ética, puesto que la amplia variedad de arbovirosis que existen en el continente es un riesgo por su dificultad de diagnóstico diferencial, sin embargo esto no es limitante para realizar prácticas de automedicación, que si bien en la actualidad es una práctica común en la salud pública<sup>23</sup> lo cual resulta contraproducente para la evolución satisfactoria de las enfermedades<sup>24,25</sup>.

El desconocimiento, falta de autoeducación, los mitos, actitudes negativas y falta de políticas sociales representan factores de riesgos para concluir en resultados desfavorables. Los escasos conocimientos se dirigen hacia diagnósticos equívocos, tratamientos inadecuados, gastos públicos innecesarios, mayor propagación del virus e incremento de epidemias.

Es importante para autoridades públicas, maestros, profesionales y estudiantes de las ramas de la salud tomar en cuenta estos datos para concientizar y buscar estrategias que soluciones este problema socio cultural y de formación profesional. La actualización médica continua y campañas de educación médica podrían representar una solución para los estudiantes de medicina de América y prevenir a los futuros médicos ante epidemias potenciales que puedan acarrear a su país.

## Conclusión

El nivel de conocimiento sobre el oropouche es bajo, las actitudes en mayor parte indecisa y/o dudosa, y las prácticas en su mayor parte incorrectas, por lo que es necesario conducir un nuevo estudio con intervenciones previas para evaluar la eficacia de estas en caso de enfermedades emergentes.

## Referencias bibliográficas

1. Alvarez-Falconi PP, Ríos Ruiz BA. Brote de Fiebre de Oropuche en Bagazán, San Martín - Perú: Evaluación Epidemiológica, Manifestaciones Gastrointestinales y Hemorrágicas. Rev. Gastroenterol. Perú 2010; 30(4): 334-340
2. LeDuc J, Hoch A, Pinheiro F, Travassos da Rosa A. ENFERMEDADES EPIDEMICAS CAUSADAS POR EL VIRUS OROPOUCHE EN EL NORTE DE BRASIL. Bol Of Sanit Panam 1982; 92(2). 143-152
3. Azevedo RSS, Nunes MRT, Chiang JO, Bensabath G, Vasconcelos HB, Pinto AYN, et al. Reemergence of Oropouche fever, northern Brazil. Emerging Infectious Disease. Disponible en: <http://www.cdc.gov/eid/content/13/6/912.htm> (Acceso: 01 de mayo de 2017)
4. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). Alerta epidemiológica: Brote de fiebre de Oropouche 22 de junio de 2010, Washington, D.C. OPS/OMS. 2016. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/> (Acceso: 22 de abril de 2017)
5. da Rosa JF, de Souza WM, de Paula Pinheiro F, Figueiredo ML, Cardoso JF1, Acrani GO5, et al. Oropouche Virus: Clinical, Epidemiological, and Molecular Aspects of a Neglected Orthobunyavirus. Am J Trop Med Hyg. 2017; pii: 16-0672
6. Castro S, Banda L, Cabellos D, Luna D, Muñoz J, Condor YC. Brote de fiebre de Oropuche en dos localidades de la región Cajamarca, Perú, 2011. Rev. PERU. EPIDEMIOL. 2013; 17(3): 1-6
7. Salim Mattar V, Marco González T. Oropuche virus: A virus present but ignored Rev.MVZ Córdoba 2015; 20(3):4675-4676
8. Culquichicón C, Cardona-Ospina JA, Patiño-Barbosa AM and Rodriguez-Morales AJ. Bibliometric analysis of Oropouche research: impact on the surveillance of emerging arboviruses in Latin America (version 2; referees: 3 approved). F1000 Research 2017, 6:194 (doi: 10.12688/f1000research.10936.2)
9. Bastos Mde S, Figueiredo LT, Naveca FG, Monte RL, Lessa N, Pinto de Figueiredo RM, et al. Short Report: Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the Cerebrospinal Fluid of Three Patients in the Amazonas, Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg 2012; 86(4): 732–735
10. Carpenter S, Groschup MH, Garros C, Felipe-Bauer ML, Purse BV, et al. Culicoides biting midges, arboviruses and public health in Europe. Antiviral Research 2013;100:102–113
11. Velásquez G. BIONOMÍA, ECOLOGÍA E IMPORTANCIA MÉDICA DE Coquillettidea Rhynchoetaenia venezuelensis Theobald, 1912 (DÍPTERA: CULICIDAE). Saber, Universidad de Oriente, Venezuela.2014; 26(2):105-113
12. Rodrigues AH, Rodrigues AH1, Santos RI, Arisi GM, Bernardes ES, Silva ML, Rossi MA. Oropouche virus experimental infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). Virus Research 2011; 155(1):35-41
13. Rodrigues AH, Santos RI, Arisi GM, Bernardes ES, Silva ML, Rossi MA, et al. Experimental infection of suckling mice by subcutaneous inoculation with Oropouche virus. Virus Research 2012; 170(1-2): 25–33
14. García JL, Lozano ML, Leyva CP, Sandoval GR. Síndrome pulmonar por hantavirus, una amenaza latente en México. Rev Esp Méd Quir 2014;19:96-103.
15. Rodríguez-Morales AJ, Paniz-Mondolfi AE, Villamil-Gómez WE, Navarro JC. Mayaro, Oropouche and Venezuelan Equine Encephalitis viruses: Following in the footsteps of Zika?. Travel Medicine and Infectious Disease 2017;15:72-73
16. Cortés JA, Romero-Moreno LF, Aguirre-León CA, Pinzón-Lozano L, Cuervo SI. Enfoque clínico del síndrome febril agudo en Colombia. Infectio. 2016
17. Cabezas-Sánchez C. Enfermedades infecciosas desatendidas: un permanente reto para la salud pública y la equidad en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2014;31 (2):326-35.
18. García MP, Merino NS, Figueroa D, Marcelo A, Tineo E, Manrique C, et al. Detección de la circulación del virus Oropuche en la región Madre de Dios, Perú, (diciembre 2015 - enero 2016) (carta). Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2016;33(2):380-1. Disponible: 10.17843/rpmesp.2016.332.2098

19. Rios-González CM, De Benedictis-Serrano GA, Chirino-Caicedo AD. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el Zika en estudiantes de medicina, 2016. Rev Cien Cienc Méd (Internet). 2016 [citado 2017 Mayo 06]; 19(2): 33-37.
20. Rios-González CM, Díaz Vélez C. Knowledge about dengue, zika and chikungunya in Latin American students, 2016. Medicina universitaria. 2016; 18(71): 134-135.
21. Organización Mundial de la Salud (OMS). Enfermedad por el virus de Oropouche — Perú. Disponible en: <http://www.who.int/csr/don/03-june-2016-oropouche-peru/es/> (Acceso: 07 de mayo de 2017)
22. Morazán AD, Batchvaroff EB, Gonzalez CH, Andrade SB. Conocimientos, Actitudes y Prácticas sobre las Arbovirosis. Archivos de Medicina. 2017.
23. Rios González CM. La automedicación: un problema de salud pública en auge constante. Rev. Nac. (Itauguá) (Internet). 2015 Dec (cited 2017 May 07); 7(2): 56.56. Available from: [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2072-81742015000200013&lng=en](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-81742015000200013&lng=en). <http://dx.doi.org/10.18004/rdn2015.0007.02.056-056>.
24. Grela CA. AUTOMEDICACION: Experiencia en estudiantes de 5° año de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Del Nordeste. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina 2006; 155:5-8-
25. López-Cabra CA., Gálvez-Bermúdez JM, Domínguez CD, Urbina-Bonilla AD, Calderón-Ospina CA, et al. Automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D.C., Colombia. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2016;45(3):374-384

## Portación Nasal de *Staphylococcus aureus* y su Asociación con Forunculosis a Repetición

### Nasal Portability of *Staphylococcus aureus* and its Association with Furunculosis to Repetition

Miryan Falcón  
Mariel Brítez  
Rosana Ortiz  
Ma. Gloria Centurión  
Carmen Barreto  
Rolando Cáceres  
Antonio Villalba  
Elizabeth Godoy  
Mario Martínez

Laboratorio Central de Salud Pública. Departamento de Bacteriología y Micología, Sección Bacteriología Clínica.

#### Resumen

*Staphylococcus aureus* es una bacteria que coloniza la piel y/o fosas nasales de las personas sanas y produce una amplia gama de infecciones, desde forúnculos hasta las más graves como neumonía o sepsis. La portación nasal de *S. aureus* parece ser clave en la epidemiología y la patogenia de la infección. *S. aureus* se caracteriza por presentar el gen *mecA* que confiere resistencia a meticilina pudiendo ser sensible a otros antibióticos no betalactámicos. Su virulencia se asocia principalmente a la toxina Leucocidina de Panton Valentine (PVL) una citotoxina que provoca destrucción de los leucocitos y necrosis tisular, lo que a su vez facilita la producción de abscesos.

Los objetivos de este estudio fueron, asociar la portación nasal de *S. aureus* con la forunculosis a repetición, determinar por el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) los genes que codifican la resistencia a la meticilina y la toxina PVL. Se estudiaron 128 cepas de *S. aureus* provenientes de pacientes que estuvieron con o sin tratamiento con antibióticos, y que concurrieron al laboratorio entre 2016 y 2017 con diagnóstico de forunculosis a repetición, de las cuales 74 cepas se aislaron de las lesiones y 54 de sus hisopados nasales. Del total de cepas, se obtuvieron 66,4% de resistencia a la meticilina y 78,9% presentaron la toxina PVL. Se obtuvo una alta asociación entre la portación nasal de *S. aureus* de la comunidad con forunculosis a repetición (OR: 5,3 IC<sub>95</sub>: 1,9 – 14,2%;  $p = 0,0004 < p = 0,02$ ;  $\chi^2$ ).

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, portación nasal, forunculosis, *mecA*, PVL

## Abstract

*Staphylococcus aureus* is a bacterium that colonizes the skin and / or nostrils of healthy people and produces a wide range of infections, from forunculosis to the most serious such as pneumonia or sepsis. The nasal carriage of *Staphylococcus aureus* appear to be key in the epidemiology and pathogenesis of infection. *Staphylococcus aureus* characterizes by presenting the *mecA* gene which confers resistance to methicillin and could be sensitive to other non-beta-lactam antibiotics. Its virulence is mainly associated to the Panton-Valentine Leucocidine (PVL) a cytotoxin that causes destruction of the leukocytes and tissue necrosis, which facilitates the abscess production.

The objectives of this study were, to associate the nasal carriage of *Staphylococcus aureus* with recurrent forunculosis, to determine by the polymerase chain reaction method (PCR) the genes encoding methicillin resistance and the toxin PVL. It was studied 128 strains of *Staphylococcus aureus* from patients with or without antibiotic treatment and went to the laboratory between 2016 and 2017 with recurrent forunculosis, of which 74 strains were isolated from the lesions and 54 from nasal swabs. Of the total strains, 66.4% were methicillin resistance and 78.9% presented PVL toxin. There obtained a high association between the nasal carriage of *Staphylococcus aureus* of the community with recurrent forunculosis (OR: 5,3 IC<sub>95</sub>: 1,9 – 14,2%;  $p = 0,0004 < p=0,02$ ;  $X^2$ )

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, nasal carriage, forunculosis, *mecA*, PVL

Fecha de recepción: 05/08/2017

Fecha de aceptación: 10/10/2017

## Correspondencia:

Dra. Miryan Falcón

Laboratorio Central de Salud Pública

miryanfalcon@gmail.com

## Introducción

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es un microorganismo ubicuo, con predilección por la piel, glándulas cutáneas y membranas mucosas de mamíferos. En el ser humano, *S. aureus* coloniza la piel y las mucosas de distintas localizaciones del cuerpo humano. El lugar más frecuente de colonización de *S. aureus* se encuentra en la parte anterior de las fosas nasales, seguidas del área perineal-ingles, de la orofaringe y de las axilas. Esta bacteria puede aislarse, además, en otros sitios como en la piel, especialmente de las manos (1).

*S. aureus* es uno de los patógenos humanos más importantes, responsable de una amplia variedad de procesos infecciosos, tanto nosocomiales como adquiridos en la comunidad, algunos de los cuales con una mortalidad elevada. La infección suele comenzar con la colonización previa de *S. aureus*, principalmente en las fosas nasales. Una vez rota la barrera natural de la piel, las bacterias pueden diseminarse hacia sitios más profundos, bien por contigüidad o bien por vía hematógena (2).

*S. aureus* es un patógeno con gran capacidad de adquirir diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos. Este microorganismo había desarrollado la capacidad de producir B-lactamasas, que descomponen el anillo B-lactámico de la penicilina e impiden su unión con las proteínas de unión a la penicilina (PBP). Las PBPs son enzimas localizadas en la

membrana bacteriana que están implicadas en la síntesis del peptidoglicano de la pared celular. Su producción está codificada por el gen *mecA* (3).

*S. aureus* es capaz de producir una amplia variedad de toxinas y factores de virulencia. En relación con la emergencia de *Staphylococcus aureus* *meticilino resistente* (MRSA), el más importante es la Leucocidina de Panton-Valentine o PVL (por sus siglas en inglés) (4).

La toxina PVL es una exotoxina formadora de poros, presente en algunas cepas de *S. aureus* tanto sensibles como resistentes a la meticilina. La presencia de PVL está asociada con mayor severidad local de las infecciones de piel y tejidos blandos, mayor respuesta inflamatoria (fiebre y otras manifestaciones sistémicas) y complicaciones en las osteomielitis; y mayor mortalidad de las neumonías. Los forúnculos y abscesos son las formas clínicas más frecuentes (5).

El tratamiento de las infecciones por *S. aureus* depende del tipo y severidad de la infección, la prevalencia de MRSA y la sensibilidad antibiótica. También, se considera la gravedad de las infecciones atribuida a la presencia de la toxina PVL.

La emergencia de MRSA de la comunidad ha llevado al cambio de las políticas antibióticas en zonas de alta prevalencia, y a la aparición de nuevas guías de tratamiento orientadas al manejo de las infecciones por estas nuevas cepas resistentes (6,7)

El objetivo de este trabajo fue determinar la portación nasal de *S. aureus* y su asociación con forunculosis a repetición en pacientes con o sin tratamiento con antibióticos y que concurren al Laboratorio Central de Salud Pública por solicitud médica para el estudio de portación, entre mayo de 2016 a mayo de 2017.

## Materiales y Métodos

**Diseño:** estudio retrospectivo de corte transversal

**Población enfocada:** cepas de *S. aureus* aisladas de hisopados nasales y lesiones de piel o abscesos de pacientes con diagnóstico de forunculosis a repetición que estén con o sin tratamiento con antibióticos.

**Población accesible:** cepas de *S. aureus* aisladas de hisopados nasales y lesiones de piel o abscesos de pacientes con diagnóstico de forunculosis a repetición que estén con o sin tratamiento con antibióticos y que concurren en el Laboratorio Central de Salud Pública entre mayo de 2016 a mayo de 2017.

**Criterios de inclusión:** muestras de hisopados nasales y/o lesiones de piel o abscesos de las cuales fueron aisladas *S. aureus*

**Criterios de exclusión:** muestras de hisopados nasales y lesiones de piel o abscesos en las cuales no fueron aisladas *S. aureus*.

**Muestreo:** Se realizó un muestreo no probabilístico de casos consecutivos que presentaron los criterios de inclusión.

**Variables:** las variables operativas utilizadas fueron: hisopado nasal, forunculosis, fenotipo de sensibilidad, gen *mecA*, toxina PVL.

**Instrumento de medición:** Se llenó una ficha en el momento de la toma de muestra para obtener los datos mínimos del paciente requeridos para el estudio, al cual se le asignó un código numérico.

**Aspectos éticos:** La toma de muestra fue realizada como procedimiento de rutina, en forma única y sin requerimiento de muestras adicionales. Este trabajo empleó bacterias para la realización del estudio analítico, por lo tanto no conlleva riesgos para el paciente. Los resultados fueron entregados individualmente al paciente por escrito.

**Análisis estadísticos:** Todos los datos y resultados obtenidos fueron guardados en una planilla Microsoft Excel 2010, la cual fue utilizada para el análisis por el sistema Epi

Info 7 ®. Para establecer la asociación de la portación nasal con forunculosis a repetición y poder evaluar diferencias estadísticas entre las variables, se utilizaron los cálculos de  $\chi^2$ .

### **Toma de muestra y análisis microbiológicos y moleculares:**

A todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión se les obtuvo muestras de hisopado nasal y una aspiración por punción de la lesión o absceso, o por hisopado según el caso.

El cultivo se realizó en los medios de agar sangre de carnero al 5% y agar manitol sal con incubación a 35°C. La identificación se realizó por métodos manuales utilizando tinción de Gram y las pruebas de catalasa, coagulasa, DNAsa, PYR, urea, sensibilidad a la novobiocina 5 ug, bacitracina 10 ug y polimixina B.

El estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos se realizó por el método de difusión en agar con discos según el método de Kirby Bauer siguiendo la interpretación de los puntos de corte establecidos por el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) (9).

Los antibióticos testados fueron: cefoxitina 30 µg, gentamicina 10 µg, rifampicina 5 ug, cloranfenicol 30 µg, trimetoprim sulfametoxazol 25 ug, La caracterización fenotípica de la resistencia a macrólidos (MLSb inducible) se realizó mediante la prueba de doble disco; eritromicina 15 µg y clindamicina 2 µg. Las zonas de inhibición fueron interpretadas según su diámetro y detectando la presencia de un achatamiento en la zona de la clindamicina (D-test), indicando resistencia inducible. Si no se producía un efecto D-test, se interpretó que la cepa era sensible o resistente a clindamicina en función al diámetro de los halos de inhibición. La caracterización molecular se realizó en el área de biología molecular del LCSP. La técnica utilizada fue de la reacción en cadena de la polimerasa clásica múltiple (PCR Multiplex) siguiendo un protocolo descrito para la detección del gen *mecA* y PVL (10,11)

La extracción del ADN se realizó con el equipo de extracción *Magpurix*, de este extracto se tomó 3 ul como DNA molde o templado para la reacción de amplificación.

Para la realización de esta técnica se utilizaron dos iniciadores o *primers* que son complementarios del gen *mecA* (*mecA1* y *mecA2*) y dos iniciadores para la detección del gen *luk-PV* (*Luk-PV1* y *Luk-PV2*) descritos por Lina et al (10).

Para la mezcla de reacción (Mix) se utilizó por cada tubo: Desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs) 2,5 mM;  $\text{ClMg}_2$  50 mM: 3 ul; Buffer PCR 10X: 5 ul; Taq DNA polimerasa 2,5 U/ul: 0,2 ul; Primers 30 pmoles/ul: 1 ul; agua grado molecular: 34,8 ul; ADN templado: 3 ul La amplificación se realizó en un termociclador siguiendo los siguientes parámetros: 95 °C, 5 minutos; 47°C, 10 min; 72°C, 6 min; 95°C, 5 min; seguidos de 35 ciclos de 30 seg a 95 °C; 30 seg. a 60°C; 1 minuto a 72 °C y un período de extensión final de 10 minutos a 72 °C.

Los fragmentos de ADN amplificados fueron separados mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2%. El gel se preparó con 2 gr de agarosa, 100 ml de buffer TE 0,5X (50 mM Tris y 0,2 mM EDTA pH8) y 10 ul de una solución de Bromuro de Etidio (10 mg/ml). El gel fue cargado con 3,5 ul del producto amplificado con el buffer de corrida (Loading buffer) y con un control de peso molecular de 1 kb (Ladder). La corrida se realizó en buffer TE 0,5X a 100 voltios durante 45 min.

La visualización de los amplificados se realizó con un equipo transiluminador de luz ultravioleta y fotografiados con el mismo equipo que posee un fotodocumentador (BioRad) incorporado a una computadora para el posterior análisis.

Interpretación de los resultados de la PCR: las cepas que poseen el gen *mecA*, en el producto de PCR presentan una banda de 286 pb. Las cepas que poseen el gen *luk-PV* presentan una banda de 433 pb

## Resultados

### Portación nasal de *S. aureus* y su asociación con forunculosis

Se analizaron en total 168 muestras, 84 hisopados nasales y 84 lesiones de piel o abscesos.

El 45,2% (76/168) de las muestras dieron cultivo positivo para *S. aureus* en ambos tipos de muestras en un mismo paciente; 38 se aislaron del hisopado nasal y 38 de sus lesiones de piel.

El 23,8% (40/168) dieron cultivo negativo en ambos tipos de muestras

De los hisopados nasales que dieron cultivo positivo para *S. aureus* y cultivo negativo en sus lesiones fue del 9,5% (16/168).

De las lesiones de piel o abscesos que dieron cultivo positivo para *S. aureus* y cultivo negativo para sus hisopados nasales fue del 21,4% (36/168).

Se pudo observar una asociación altamente significativa (OR: 5,3 IC<sub>95</sub>: 1,9 – 14,2%;  $p = 0,0004 < p = 0,02$ ;  $\chi^2$ ) entre la portación nasal de *S. aureus* y la formación de forúnculos a repetición.

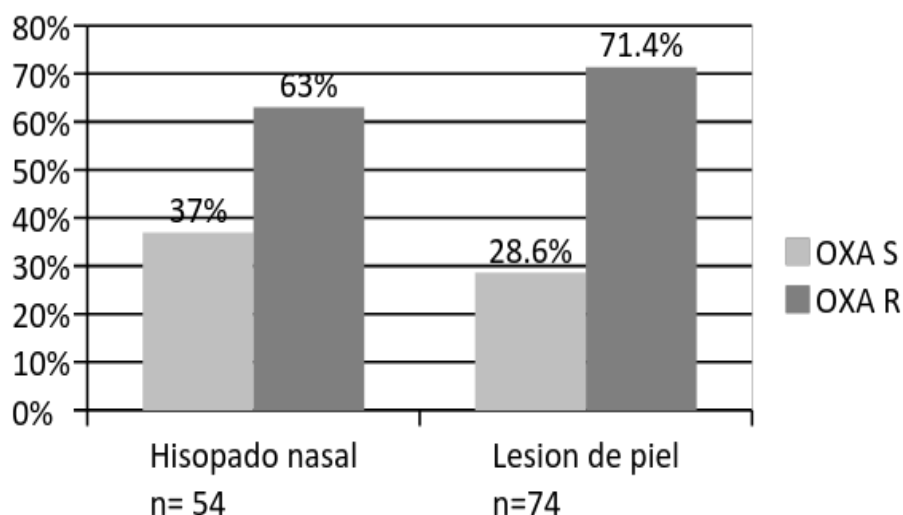
### Resistencia a meticilina

Del total de muestras se aislaron 128 cepas de *S. aureus*, el 66,4% (85/128) fueron resistentes a oxacilina, y el 33,6% (43/128) fueron sensibles.

De las 128 cepas, 54 cepas se aislaron de los hisopados nasales, de los cuales el 63% (34/54) fueron oxacilina resistentes y el 37% (20/54) fueron sensibles. (Figura 1)

De las 128 cepas, 74 cepas se aislaron de las lesiones de piel, de los cuales el 71,4% (53/74) fueron oxacilina resistentes y el 28,6% (21/74) fueron sensibles.

Las 76 cepas de *S. aureus* aisladas de las lesiones y de sus hisopados nasales correspondientes, el 89,5% (68/76) fueron meticilino resistentes, coincidiendo la resistencia en ambos tipos de muestra.



**Figura 1. Frecuencia de sensibilidad a la Oxacilina en los hisopados nasales y lesiones de piel.**

### Detección del gen *mecA* y PVL

Todas las 85 cepas de *S. aureus* que fueron resistentes a la Oxacilina por el método de difusión por discos de Cefoxitina, se confirmaron por métodos moleculares coincidiendo con la portación del gen *mecA* que confiere dicha resistencia por el



mecanismo de producción de PBP2, evidenciados por el producto de amplificación de 288 pb (Figura 2), confirmando así la frecuencia del 68,3% de MRSA del total de aislados.

De las 128 cepas de *S. aureus*, el 78,9 % (101/128) portaron el gen que codifica la PVL.

De las 54 cepas aisladas de los hisopados nasales 72,2% (39/54) portaron el gen para PVL, y de las 74 cepas aisladas de las lesiones 83,7% (62/74) portaron PVL, detectados por los productos de amplificación de 433 pb (Figura 2).

### Sensibilidad a los antimicrobianos

En cuanto a la sensibilidad a los antimicrobianos, de los 128 aislamientos, el 66,4% (85/128) fueron resistentes a Cefoxitina y por tanto resistentes a Oxacilina, y el 33,6% (43/128) presentaron sensibilidad a la misma.

Las 128 cepas presentaron 100% de sensibilidad a Trimetoprim sulfametoxazol. El 15,6% (20/128) fueron resistentes a Gentamicina; el 20,3% (26/128) fueron resistentes a Clindamicina, y el 21,8 % (28/128) fueron resistentes a Eritromicina. Se encontró un 1,6% (2/128) de resistencia a Ciprofloxacina y 1,2% (1/128) de sensibilidad intermedia a Rifampicina. (Figura 3).

El 10,9% (14/128) de los aislados presentaron MLSb inducible (D-Test +) (no mostrado en el gráfico).

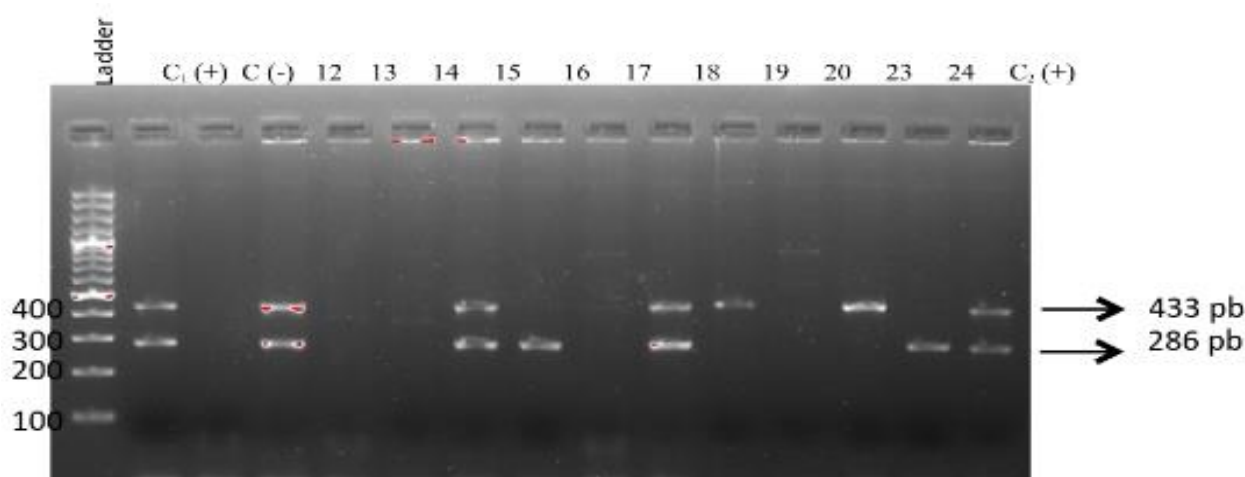


Figura 2. PCR para la detección de mecA y PVL

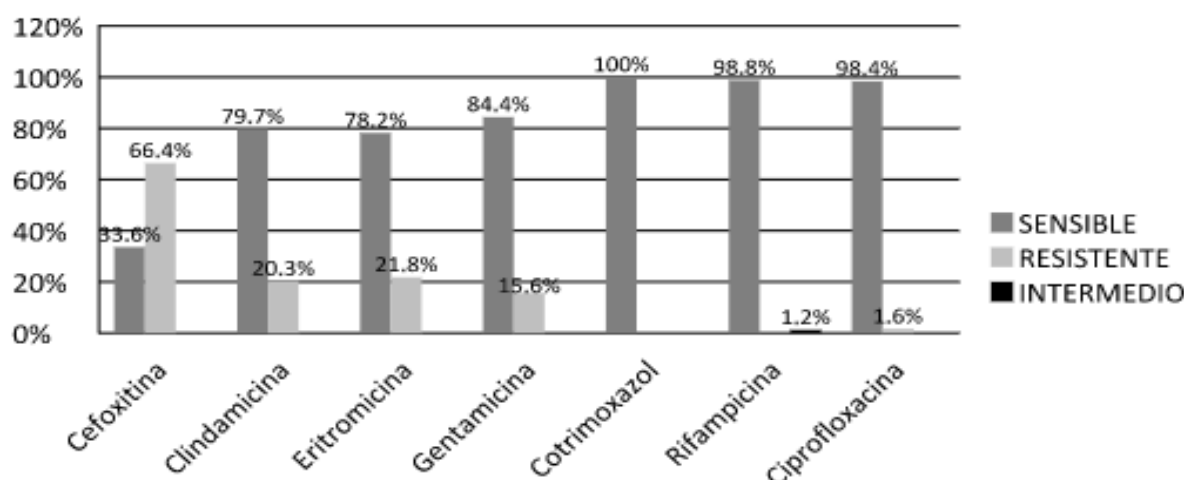


Figura 3. Porcentaje de sensibilidad y resistencia a los diferentes antimicrobianos en *S. aureus*. n=128

## Discusión

Este estudio fue realizado para asociar la portación nasal de *S. aureus* con la forunculosis a repetición, conocer la prevalencia de cepas meticilino resistentes y la portación de la toxina PVL.

El informe anual de los datos del 2015 de la Red Nacional de Laboratorios de Paraguay, enviado anualmente por el laboratorio de referencia Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) a la OPS/OMS, informó una prevalencia de MRSA del 71,2% de diferentes sitios de infección (12)

En este estudio obtuvimos una frecuencia de MRSA del 66,4% en el total de cepas estudiadas. La meticilino resistencia de las cepas aisladas de las lesiones de piel coincidió con las aisladas de sus hisopados nasales

Otros estudios a nivel nacional, comunicaron la frecuencia de MRSA y la presencia de PVL en diferentes sitios de infección y también en portadores nasales de trabajadores de la salud (14)

La frecuencia de infecciones en general, por cepas portadoras de PVL en este estudio, fue del 78,9% del total de cepas estudiadas. Frecuencia bastante elevada en comparación con otro estudio realizado en el 2010 en Paraguay donde analizaron cepas de *S. aureus* adquiridos de la comunidad obtenidos a partir de muestras clínicas de secreciones de piel, partes blandas o líquidos corporales de pacientes menores de 17 años donde la portación del gen codificante de la PVL se observó en un 58% del total de los aislados (15).

A pesar de la alta meticilino resistencia, se observó una alta sensibilidad a las sulfonamidas, tratamiento de elección para infecciones de piel y tejidos blandos.

En comparación con otros autores (15), observamos una disminución de la sensibilidad a otros tipos de antibióticos, especialmente a la clindamicina (20,3%), alternativa de tratamiento especialmente en pediatría.

Si bien, hay otros tipos de estudios donde no encontraron una asociación significativa entre la portación nasal y las afecciones sistémicas (16), en este trabajo, se pudo establecer una alta asociación de la portación nasal de *S. aureus* con la forunculosis a repetición (OR: 5,3 IC95: 1,9 – 14,2%;  $p = 0,0004 < p = 0,02$ ;  $X^2$ ).

## Conclusión

Se pudo establecer una alta asociación de la portación nasal de *S. aureus* con la forunculosis a repetición.

Todas las cepas meticilino resistentes portaron el gen *mecA*, lo que confirmó la resistencia por este mecanismo.

A través de la detección del gen *Luk-PV* se pudo determinar la frecuencia de portación de la toxina PVL.

Todas las cepas de *S. aureus* estudiadas fueron sensibles a las sulfonamidas, pero con menor sensibilidad a los macrólidos y lincosaminas, y con sensibilidades variables a otros tipos de antibióticos.

## Referencias bibliográficas

1. Mermel L, Cartony J, Covington P. et.al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization at different body sites: a prospective, quantitative analysis. J Clin Microbiol 2011 Mar;49(3):1119-21

2. Coello R, Jiménez J, García M, et al. Prospective study of infection and carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1994;13(1):74-81.
3. De Leo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 2010; 375:1557-68
4. Voug C, Saenz HL, Gotz F, Otto M. Impact of quorum-sensing system to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 2000;182: 1688-1693.
5. Vandesnesh F, Naimi TS, Enright M, Lina G, Nimmo G, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003; 9:978-84.
6. Martinez-Aguilar G, Hammerman WA, Mason EO, Kaplan SL. Clindamycin treatment of invasive infections caused by community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in children. Pediatr Infect Dis J 2003; 22:593-8.
7. Frank AL, Marcinak JF, Mangat PD, Tjio JT, Kelkar S, Schreckenberger, et al. Clindamycin treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections in children. Pediatr Infect Dis J 2002; 21:530-34.
8. Creech CB, Kernodle DS, Alsentzer A, Wilson C, Edwards KM. Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. Pediatr Infect Dis J. 2005 Jul;24(7):617-21.
9. Patel J, Weinstein M, Eliopoulos G, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S26-2016; Vol.26(1).
10. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29: 1128-32
11. Gardella N, Picasso R, Predari SC, Lasala M, Foccoli M, Benchetrit G, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Buenos Aires Teaching Hospitals: replacement of the multidrug resistant South American clone by another susceptible to rifampin, minocycline and trimethoprim-sulfamethoxazole. Rev Argent Microbiol 2005; 37:156-60.
12. Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC; 2013 (fecha de acceso enero 2017) Informe Anual de la Red de Monitoreo/ Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=readall&cid=5542&Itemid=40740&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=5542&Itemid=40740&lang=es)
13. Informe Anual de la Red Nacional de la Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos. (base de datos) Dpto. de Bacteriología y Micología. Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción, Paraguay. Noviembre 2016. contacto: antimicrobiano@lcsp.gov.py
14. Abente S, Carpinelli L, Guillén R, Rodríguez F, Fariña N, Laspina F, et al. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* metilino resistente y del factor de virulencia PVL en pacientes ambulatorios con infección de piel y partes blandas de Asunción, Paraguay. Rev. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2016; 14(2): 8-16
15. Guillen RM, Rodriguez F, Carpinelli L, Basualdo W, Castro H, Quiñonez B. et al. Frecuencia de genes que codifican factores de virulencia en *Staphylococcus aureus* aislados de niños que concurren al Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñú, durante el año 2010. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud (Py). Abril 2015; Vol. 13(1): 58-66
16. Calderini M, Sanabria G, Taboada A, Samaniego S, Irala J. Colonización nasal de *Staphylococcus aureus* y su relación con afectación sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical. Rev. Inst. Med. Trop 2015;10(2)13-16. <http://dx.doi.org/10.18004/imt/201510213-16>

# Buenas Prácticas de Manufactura y Factores de Riesgo Durante la Manipulación de Alimentos en los Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú (2015-2016)

## Good Manufacturing Practices and Risk Factors During the Handling of Foods in the Municipal Markets of the Department of Caaguazú (2015-2016)

Pasionaria Ramos<sup>1</sup>  
Ninfa Fernández<sup>1</sup>  
Gladys Estigarribia<sup>2-3</sup>  
Patricia Ríos<sup>2-3</sup>  
Analía Ortiz<sup>2-3</sup>

1. Asociación de Funcionarios de la Universidad Nacional de Caaguazú (AFUNCA)

2. Instituto Regional de Salud (IRIS) – Coronel Oviedo - Paraguay

3. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Caaguazú Coronel Oviedo - Paraguay

---

### Resumen

La alimentación incide directamente en la salud humana. En los mercados se elaboran y expenden productos alimenticios de alta demanda y gran consumo. El objetivo de este trabajo fue describir las buenas prácticas de manufactura y los factores de riesgo durante la manipulación de alimentos en los Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú, años 2015 y 2016. El estudio fue de tipo observacional descriptivo de corte transversal y prospectivo. La muestra quedó conformada por 5 mercados, en los cuales fueron seleccionados para participar del estudio 66 manipuladores de alimentos y 39 establecimientos gastronómicos. Para la recolección de datos relacionados con las BPM, se diseñó y validó una lista de verificación que contenía 176 variables agrupadas en 14 secciones, con el mismo instrumento también se identificaron los factores de riesgo. Los resultados arrojaron la siguiente información. Los factores de riesgo observados en los manipuladores de alimentos fueron: forma incorrecta como descongelan los alimentos con el 98,46% (n=64), prueban los alimentos de forma incorrecta el 85,25% (n=52) y el no uso del uniforme completo de color claro y limpio el 83,33% (n=55). En los establecimientos, los factores de riesgo observados fueron en mayor porcentaje fueron: la forma de disposición de la basura, lo realiza de forma incorrecta el 84,88% (n=37), no realizan el lavado de los abridores de lata entre cada uso, un 92,31% (n=36) y alimentos no almacenados por separado debidamente, el 92,31% (n=36). Se concluyó de manera general en los Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú durante los años 2015 – 2016, no se conocían ni aplicaban las buenas prácticas de manufactura, siendo observados algunos factores de riesgo como fueron la forma de descongelar los

alimentos, la forma en cómo prueban los alimentos, la forma de disposición de la basura y lavado de abridores de lata entre cada uso

**Palabras claves:** BPM, factores de riesgo, seguridad alimentaria

## Abstract

Food directly affects human health. In markets, high-demand and high-consumption food products are made and sold. The objective of this work was to describe good manufacturing practices and risk factors during food handling in the Municipal Markets of the Department of Caaguazú, in the years 2015 and 2016. The study was descriptive observational cross-sectional and prospective. The sample consisted of 5 markets, in which 66 food handlers and 39 gastronomic establishments were selected to participate in the study. For the collection of GMP-related data, a checklist was drawn up and validated containing 176 variables grouped into 14 sections, with the same instrument also identifying risk factors. The results showed the following information. The risk factors observed in food handlers were: incorrectly defrosted food with 98.46% (n = 64), incorrectly tested food 85.25% (n = 52) and non-use of the complete uniform of light and clean color 83.33% (n = 55). In the establishments, the observed risk factors were in greater percentage were: the form of disposition of the garbage, it performs incorrectly the 84, 88.3% (n = 36) and food not separately stored properly, 92.31% (n = 36) did not perform the washing of can openers between each use. It was concluded in general in the Municipal Markets of the Department of Caaguazú during the years 2015 - 2016, the good manufacturing practices were not known and applied, being observed some risk factors such as the form of thawing the food, the way in which test foods, how to dispose of trash and wash can openers between each use.

**Keywords:** BPM, risk factors, food security

Fecha de recepción: 24/09/2017  
Fecha de aceptación: 10/10/2017

## Solicitud de Sobreiros:

Analía Ortíz  
Instituto Regional de Salud (IRIS),  
Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Caaguazú  
[analia.ortizrolon@gmail.com](mailto:analia.ortizrolon@gmail.com)

## Introducción

Desde tiempos remotos, y sin discriminación de estratos sociales, raza ni ubicación geográfica, la salud de las personas ha constituido la fundamental preocupación tanto para jefes de familia como para gobernantes de naciones y el de cursar del tiempo no ha cambiado esa realidad.

En la actualidad, uno de los elementos que inciden directamente en la salud humana, es la alimentación y en ese contexto, los establecimientos que comercializan alimentos, deben cumplir normas básicas de higiene y control en lo que respecta a la manipulación de los alimentos, ya que en el procesamiento de los mismos se encuentra el principal factor de riesgo<sup>1</sup>.

Según Food and Drug Administration (FDA) del gobierno de EUA, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) pueden generarse a partir de un alimento o agua contaminada. Son llamadas así porque el alimento actúa como vehículo de transmisión de organismos dañinos y/o sustancias tóxicas. Las ETA pueden presentarse de tres formas: Infecciones causadas por alimentos, intoxicaciones causadas por alimentos, toxiinfección causada por alimentos<sup>2</sup>.

Las enfermedades transmitidas por alimentos aquejan principalmente a los sectores más vulnerables de la población y son causadas principalmente por el desconocimiento de la correcta manipulación de los alimentos y la falta de higiene del personal que interviene en la preparación de los mismos<sup>3</sup>.

El desconocimiento y la mala práctica en el sector culinario, no solo representa un problema de salud para el consumidor, también reflejan pérdidas económicas a las familias, por el desperdicio de los alimentos que esto implica y gastos médicos, que pueden ser prevenidos a tiempo<sup>4</sup>. Este estudio se enfocó en describir las buenas prácticas de manufactura y los factores de riesgo durante la manipulación de alimentos en los Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú durante los años 2015 – 2016

## **Materiales y métodos**

Se realizó una investigación observacional, descriptiva, de corte transversal y prospectiva. El ámbito geográfico fue el Departamento de Caaguazú, el cual cuenta con una población de 478.627 habitantes distribuidos en 21 Distritos, concentrándose el 41,5% de la población total de la región en los distritos Coronel Oviedo y Caaguazú. El ámbito temporal abarcó desde el 01 de octubre del 2015 al 31 de diciembre del 2016.

La población fueron los veintidós Mercados Municipales del Departamento de Caaguazú. La muestra quedó conformada por 5 mercados; 2 de la ciudad de Coronel Oviedo y 1 de cada uno de los municipios de Caaguazú, Juan Manuel Frutos y J. Eulogio Estigarribia, respectivamente. Los mismos fueron incluidos ya que eran locales elaboradores de comidas listas para servir y cumplían los criterios de inclusión y exclusión. Participaron del estudio 66 manipuladores de alimentos y 39 establecimientos gastronómicos.

Para la recolección de datos relacionados con las BPM, se diseñó y validó una lista de verificación que contenía 176 variables agrupadas en 14 secciones, para ello se utilizó como guía las Normativas Internacionales y Nacionales, que dictan los lineamientos referentes a BPM (Codex Alimentarius CAC/RCP, 2003). Con este mismo instrumento también se identificaron los factores de riesgo, químicos, físicos y microbiológicos, a partir del cumplimiento o no de las BPM durante el proceso de elaboración y expendio de los alimentos, que previamente habían sido seleccionados en base a riesgo

## **Resultados**

Los aspectos de buenas prácticas que se cumplen en mayor porcentaje son: tratamiento de huevos picados con el 84,62% (n=55), la utilización de utensilios como pinzas con el 56,06% (n=37) y que presentan las manos limpias, sin joyas, uñas limpias, cortas y sin esmalte el 54,55% (n=36) (Tabla 1).

Los que presentan mayor incumplimiento y constituyen factores de riesgo son: forma incorrecta como descongelan los alimentos con el 98,46% (n=64), prueban los alimentos de forma incorrecta el 85,25% (n=52) y el no uso del uniforme completo de color claro y limpio el 83,33% (n=55).

**Tabla 1.** Cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y factores de riesgo

Indicadores	Cumple		No cumple		Totales	
	n	%	n	%	n	%
Signos evidentes de enfermedad (heridas, tos, estornudos y diarreas)	31	46,97	35	53,03	66	100
Mantiene cabellos cortos y/o recogidos, limpios y cubiertos	33	50%	33	50%	66	100
Presenta manos limpias, sin joyas, uñas limpias, cortas y sin esmaltes	36	54,55	30	45,45	66	100
Uso de uniforme completo (mandil y gorro), de color claro, limpio	11	16,67	55	83,33	66	100
Forma de cómo se descongelan los alimentos	1	1,54	64	98,46	65	100
Forma de cómo prueba los alimentos	9	14,75	52	85,25	61	100
Tratamiento de huevos picados	55	84,62	10	15,38	65	100
Se utiliza utensilios distintos para manipular alimentos crudos y cocidos	35	53,03	31	46,97	66	100
Los alimentos son manipulados con utensilios como pinzas	37	56,06	29	43,94	66	100
Se utiliza guantes para la manipulación de alimentos	21	31,82	45	68,18	66	100

**Tabla 2.** Cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manipulación en los establecimientos gastronómicos. n=39

Indicadores	Cumple		No cumple		Totales	
	n	%	n	%	n	%
Disposición de basura circundante - área interna	34	87,18	5	12,82	39	100
Cuenta con disposición de basuras en los locales	37	87,18	2	12,82	39	100
Forma de disposición de las basuras	2	5,12	37	94,88	39	100
Protección de la iluminación	3	87,18	36	12,82	39	100
Ubicación de la luz artificial	16	42,10	22	57,90	38	100
Identificación de productos químicos	16	41,03	23	58,97	39	100
Agua potabilizada	14	38,89	22	61,11	36	100
Cuenta con canillas en la pileta	34	87,18	5	12,82	39	100
Abastecimiento de agua continua	32	82,05	7	17,95	39	100
Almacenamiento de los productos en los locales debidamente etiquetados	9	23,68	29	76,32	38	100
Almacenados por separados de otros productos	17	43,59	22	56,41	39	100
Inflamables y explosivos separados debidamente	3	7,69	36	92,31	39	100
Los utensilios de cocina en contacto con alimentos son lavados	35	89,74	4	10,26	39	100
Lavado de abridores de lata entre cada uso	3	7,69	36	92,31	39	100
Los utensilios son sanitados	20	51,29	19	48,71	39	100
Las superficies son sanitadas	19	48,71	20	51,29	39	100
Métodos de sanitación	12	30,76	27	69,24	39	100
Cuenta con heladera	28	73,68	10	26,32	38	100
Los alimentos se encuentran ordenados	11	68,75	5	31,25	16	100
Se observan derrames de líquidos en la heladera	5	31,25	11	68,75	16	100
Se observan restos de alimentos en la heladera	15	93,75	1	6,25	16	100

En cuanto al cumplimiento de buenas prácticas de manufactura en los establecimientos, cumplen en mayor porcentaje en los siguientes aspectos: los utensilios de cocina en contacto con alimentos son lavados, un 89,74% (n=35), cuenta con canillas en la pileta un 87,18% (n=34), cuenta con disposición de basura y la disposición de la basura en el área interna, ambos con el 87,18% (n=34) (Tabla 2).

Los aspectos que cuentan con mayor porcentaje de incumplimiento son: la forma de disposición de la basura, lo realiza de forma incorrecta el 84,88% (n=37), no realizan el lavado de los abridores de lata entre cada uso, un 92,31% (n=36) y alimentos no almacenados por separado, inflamables y explosivos, el 92,31% (n=36)

## Discusión

Es una necesidad y un compromiso social con la salud y el bienestar de las poblaciones ofrecer alimentos seguros y nutritivos que estén a la altura de sus necesidades en cuanto a calidad y asequibilidad. El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura se convierte en un imperativo para los mercados expendedores de comida que deseen mantenerse competitivos, responder a las demandas de los consumidores y a las exigencias de las entidades y organismos reguladores de las políticas gastronómicas y de salud en Paraguay.

Las buenas prácticas de manufactura de alimentos dependen en gran medida de la aparición de factores de riesgo que traigan consigo la contaminación de los productos alimenticios. En este estudio, el 46,97% de los manipuladores que entraron en la investigación (n=31) presentó algún signo de enfermedad en el momento del levantamiento de datos. Otro factor de riesgo analizado fue el largo del cabello y cómo lo llevaban los manipuladores durante su jornada laboral, sólo la mitad de los participantes presentaba los cabellos cortos y/o recogidos, limpios y cubiertos y respecto a las manos limpias, sin joyas, uñas limpias, cortas y sin esmalte el 54,55% (n=36) presentó cumplimientos de los ítems antes mencionados. En cuanto al uso del uniforme, el 88,33% (n=66) no contaba con el uniforme completo, de color claro y limpio y sólo el 36,36% (n=24) poseía conocimientos básicos sobre buenas prácticas de manipulación de alimentos lo cual se evidenció en los resultados obtenidos en todo el estudio.

Sin embargo, Carrasco y cols.<sup>5</sup> al evaluar la implementación de las BPM *in situ*, encontraron que menos del 80% de los manipuladores de alimentos usaban correctamente su uniforme que consistía en el uso de gorro y chaqueta blanco y limpio, en lo que se refería a tener las uñas cortas, limpias y sin esmalte, además del no uso de joyas (anillos, pulseras, relojes) todos los integrantes de la muestra cumplían con lo indicado en las normativas.

Seguramente, la diferencia se debe a que en el estudio de Carrasco y cols., los manipuladores recibían formación permanente respecto a su trabajo y desempeño lo cual no ocurre en ésta investigación, en la que en cuanto a la capacitación de los manipuladores, se comprobó que el 90,77% no recibe capacitación permanente y el 90,91% (n=66) nunca ha participado de alguna capacitación sobre manipulación de alimentos, hecho que se reflejó en la observación y se evidenció en resultados poco favorecedores en cuanto a la presencia de factores de riesgo<sup>5</sup>.

Esta realidad resulta una preocupación de cara a la inocuidad de los alimentos, pues se ha demostrado que las uñas artificiales (acrílicas) pueden ser medios potenciales de transmisión de patógenos a los alimentos y existen evidencias de que el uso de las uñas cortas reduce significativamente el riesgo de colonización de bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*<sup>6</sup>.



Montesdeoca en una investigación realizada recientemente encontró la alarmante realidad en los mercados estudiados de que no se observó el uso de los medios de barrera como guantes y mascarilla; sin embargo en ítems relacionados con otras medidas de higiene como el lavado de manos, el uso de joyas, la manipulación de dinero y alimentos al mismo tiempo mostraron que la gran mayoría de los manipuladores se lava las manos cada vez que sea necesario y no usa prendas ni maneja dinero siempre que esté manipulando alimentos<sup>7</sup>.

Cabe destacar que varios autores, al describir las condiciones higiénicas sanitarias en la venta callejera de alimentos, encontraron una alta prevalencia de manipuladores que no se lavaban las manos, en muchos de los mercados ni siquiera había agua corriente constante y se ha observado con asiduidad a manipuladores de alimentos que además cobran a los clientes y en los que el uso de joyas como relojes, anillos, cadenas fue frecuente<sup>8-9</sup>, lo que constituye un dato preocupante pues revela que la falta de higiene durante el proceso de manufactura de alimentos no es un hecho exclusivo de los mercados estudiados en la presente investigación.

No obstante, dos estudios semejantes realizados en los últimos 9 años, en los que se encontró que la mayoría de los manipuladores encuestados dijo haber recibido una capacitación que les permitió desarrollar prácticas de manejo y almacenamiento de insumos, y de manipulación adecuada de los mismos para la preparación de los alimentos, siempre que ellos trabajaran en restaurantes bares y cafeterías<sup>10-11</sup>; no siendo así en aquellos manipuladores de alimentos que laboraban en mercados públicos, los cuales en la casi totalidad de los estudios consultados, carecían de formación y entrenamiento técnico para la labor que se encontraban<sup>5, 12-13</sup>.

Carrasco y cols. en sus recomendaciones, advirtieron que los resultados sobre el impacto de las capacitaciones y cursos de formación sanitaria a manipuladores de alimentos ha demostrado ser de poca eficacia en cuanto a los conocimientos adquiridos y a la puesta en práctica de las BPM, por lo que convendría repensar dichos programas de cara a realizar formaciones más ajustadas a las diferentes realidades y que logren un impacto verdadero en la calidad de los servicios gastronómicos en el área<sup>5</sup>.

En cuanto a la forma más frecuente de descongelar los alimentos, este estudio recopiló datos que demuestran que lo hacen dejando los mismos a temperatura ambiente con el 83,08% (n=54), para probar los alimentos durante su preparación, el 83,61% (n=51) los hace con una cuchara directo a la boca y en caso de recibir huevos picados, el 12,3% (n=8), los utiliza normalmente. Con respecto a la utilización de distintos utensilios para manipular alimentos cocidos y crudos, el 49,97% (n=31) utiliza los mismos utensilios, el 56,06% utiliza utensilios como pinzas y el 68,48% (n=45) no utiliza guantes para la manipulación de alimentos.

En términos generales, se considera que bajo los 5°C, se retrasa el crecimiento y la multiplicación de las bacterias, entre los 60°C y 70°C la reproducción de bacterias es escasa o nula, y sobre los 70°C (cocción adecuada) asegura un alimento inocuo y seguro por lo que Bravo<sup>14</sup>, recomienda que una vez definidos los productos que se van a utilizar, se saquen del congelador y se colocan en la parte más baja del refrigerador a efecto de realizar una descongelación lenta a una temperatura que no esté dentro de la zona de peligro.

## Conclusión

Los aspectos de buenas prácticas de los manipuladores que se cumplen en mayor porcentaje son: tratamiento de huevos picados, la utilización de utensilios como pinzas y que presentan manos limpias, sin joyas, uñas limpias, cortas y sin esmalte.

Los que presentan mayor porcentaje de incumplimiento y constituyen factores de riesgo son: forma incorrecta como descongelan los alimentos, prueban los alimentos de forma incorrecta y el no uso del uniforme completo de color claro y limpio.

En cuanto al cumplimiento de buenas prácticas de manufactura en los establecimientos, cumplen en mayor porcentaje en los siguientes aspectos: los utensilios de cocina en contacto con alimentos son lavados, cuenta con canillas en la pileta y la disposición de la basura en el área interna.

Los aspectos que cuentan con mayor porcentaje de incumplimiento son: la forma de disposición de la basura, lavado de los abridores de lata entre cada uso y alimentos almacenados por separado debidamente, inflamables y explosivos.

## Referencias bibliográficas

1. FAO – ODEPA – ASOF TCP CHI. Condiciones Higiénico Sanitarias de la Comercialización en Ferias Libres de Paranatama, Pe. Alim Nutr, Araraquara. V22, n 4, 585 – 592 oct/dez 2011 Consultado 25/06/2017 Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/as114s/as114s.pdf>
2. Todd E, Greig J, Bartleson C, Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. J Food Prot. 72(1):202-19. 2009
3. Food and Agriculture Organization of United States, FAO. Safety evaluation of certain food additives. 2006.
4. Jara MM, Llanos MS. Diseño de un Plan de Mejoras en Buenas Prácticas y Operaciones de Higiene para la Preparación de Alimentos en los Hogares del Sector “Flor de Bastión” Parroquia Tarqui en la Provincia del Guayas. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil – Ecuador. 2015
5. Carrasco M, Guevara B, Falcón N. Conocimientos y buenas prácticas de manufactura en personas dedicadas a la elaboración y expendio de alimentos preparados, en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú. Salud tecnol. vet.. 1:7-13. 2013
6. Wachukwu C, Abbey S, Ollor A, Obilor N. Public health implication of artificial finger nails used by health workers and food handlers in Port Harcourt, Nigeria. Journal of Applied Sciences. 2007; 7: 3580- 3583.
7. Montesdeoca, K. N. Condiciones higiénicas sanitarias en la manipulación y expendio de alimentos en la vía pública en el parque infantil “Roberto Luis Cervantes” y el parque de las Palmas “Luis Tello” en la ciudad de Esmeraldas. (Tesis de Grado) Pontificia Universidad de Ecuador. Facultad de Enfermería. 2017
8. Barbosa, G. Descripción de las condiciones higiénicas sanitarias de la venta callejera de alimentos. (Tesis de Nutrición). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 2012
9. Chávez, P. Condiciones higiénicas sanitarias de los comedores públicos del mercado municipal. (Tesis de gestión gastronómica). Universidad Politécnica de Chimborazo, Guaranda, Ecuador. 2010
10. Nike, W. M. Pesquisa do satisfacao dos clientes do Restaurante Vermelho Grill. (Tesis de Grado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Administração. Curso de Administração. 2008
11. Betancourt, J. B., Aldana, L., y Gómez, G. Servicio, ambiente y calidad de restaurantes en Bogotá. Estudio comparativo de empresa familiar y empresa no familiar. Entramado: 10(2), 2014 (Julio - Diciembre)
12. Jiménez, M., Chaidez, C., León, F. Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa Vet. Méx., 43 (4) 2012
13. Cerdeño, V. M. Treinta claves del mercado alimentario en España. Pasado, presente y futuro. Distribución y Consumo, 132(11) 2014
14. Bravo, F. Manejo higiénico de los alimentos acorde con la NOM-251-SSA1. 2da.Ed. México D.F: Limusa. 2010

# Osteomielitis crónica a *Paracoccidioides braziliensis*

## Chronic osteomyelitis to *Paracoccidioides braziliensis*

Juan Manuel Lambaré<sup>1</sup>

Gabriela Sanabria<sup>2</sup>

Aurelia Taboada<sup>3</sup>

Stela Samaniego Nielebock<sup>1</sup>

Gustavo Benítez<sup>1</sup>

1. Servicio de Clínica Médica, Instituto de Medicina Tropical. Asunción – Paraguay

2. Dirección de Investigación y Docencia, Instituto de Medicina Tropical. Asunción – Paraguay

3. Servicio de Atención integral - PRONASIDA. Asunción – Paraguay

---

### Resumen

La Paracoccidioidomicosis es una micosis sistémica de gran importancia para los países de América Latina. Cuando no es diagnosticada y tratada oportunamente puede progresar a formas diseminadas graves. Se describen aislados casos de afectación ósea única o múltiple, por lo general en la forma diseminada.

**Caso clínico:** Varón, 73 años, albañil, procedente de San Antonio – Pte. Hayes, cuadro de 3 meses de evolución, lesión ulcerada en región maleolar externa del tobillo izquierdo, inicia como lesión única, aproximadamente 1 cm de diámetro, luego aumenta de tamaño y aparece lesión de pequeño tamaño con similar característica en vecindad. Una semana antes, dolor y secreción serosa a nivel de las lesiones por lo cual consulta. Se le realiza escarificación de la lesión: esporos micóticos exoesporulados compatibles con *Paracoccidioides* sp. y se decide internación. En paladar duro se observa lesión ulcerada de aspecto granulomatoso de 0.5 x 1 cm. En piel palidez generalizada y lesiones ulceradas en región maleolar externa del pie izquierdo, en número de 2, redondeadas, bordes netos, con secreción serosa y tumefacción dolorosa perilesional. Escarificación de úlcera en paladar: *Paracoccidioides* sp. Serología para *Paracoccidioides braziliensis*: positivo 1 / 2. TAC tórax: infiltrado parenquimatoso perihilar y bibasal con imágenes cavitarias. TAC MII: lesión osteolítica en sacabocado en peroné. Recibió 1,5 gr. acumulativo de AmB desoxicolato con buena evolución y se externa con Cotrimoxazol con plan de tratamiento estimativo mínimo de 2 años

**Palabras clave:** Anfotericina B, infectología, clínica médica

### Abstract

Paracoccidioidomycosis is a systemic mycosis of great importance for the countries of Latin America. When it is not diagnosed and treated timely it can progress to severe

disseminated forms. Isolated cases of single or multiple bone involvement are described, usually in the disseminated form.

Clinical case: Male, aged 73, bricklayer, from San Antonio - Pte. Hayes, a 3 months evolution, ulcerated lesion in the external malleolar region of the left ankle, starts as a single lesion, approximately 1 cm in diameter, then increases size and small lesion appears with similar feature in neighborhood. One week before, pain and serous discharge at the level of the lesions for which he consults. Scarification of the lesion is performed: exoesporulated mycotic spores compatible with *Paracoccidioides* sp. and hospitalization is decided. In the hard palate, an ulcerated granulomatous lesion of 0.5 x 1 cm is observed. In generalized pallor skin and ulcerated lesions in the external malleolar region of the left foot, number of 2, rounded, net borders, with serous secretion and painful perilesional swelling. Escharification of ulcer on the palate: *Paracoccidioides* sp. Serology for *Paracoccidioides braziliensis*: positive 1 / 2. Chest CT: perihilar and bibasal parenchymal infiltrate with cavitary images. TAC MII: osteolytic lesion in a fibula sac. Received 1.5 gr. accumulation of AmB deoxycholate with good evolution and external with Cotrimoxazole with a treatment plan of at least 2 years.

**Keywords:** Amphotericin B, infectology, medical clinic

Fecha de recepción: 02/05/2016  
Fecha de aceptación: 19/12/2016

**Correspondencia:**

Dr. Gustavo Benítez  
Instituto de Medicina Tropical  
gbenite@yahoo.com.ar

## Introducción

En la bibliografía no se reportan muchos casos de Osteomielitis causados por *Paracoccidioides braziliensis*.

La paracoccidioidomicosis es una infección fúngica sistémica, endémica en América Latina y por ende la más frecuente pudiendo afectar a cualquier órgano. Si bien la osteomielitis es diagnosticada con poca frecuencia, debido a la severidad y las posibles secuelas, al igual que la respuesta favorable al tratamiento, su diagnóstico es de suma importancia<sup>1</sup>. La distribución de este hongo dimorfo, no es uniforme en los países endémicos<sup>2</sup>

La paracoccidioidomicosis se clasifica en base a sus aspectos epidemiológicos, inmunopatológicos y clínicos; el tipo de adulto o forma crónica, que afecta principalmente a adultos después de los 30 años, que tienen un historial presente o pasado de trabajar en un área rural, si afecta a un solo órgano se clasifica como unifocal y se asocia frecuentemente con lesiones pulmonares y/o cutáneas, o pueden ser ,multifocales, generalmente las lesiones permanecen asintomáticas, permitiendo la diseminación a cualquier sistema u órgano del hospedero<sup>3-4</sup>.

Las lesiones óseas se han descrito con menos frecuencia, y generalmente son parte de un cuadro clínico multisistémico<sup>5</sup>

## Caso clínico

Paciente de sexo masculino, 73 años, albañil, procedente de Presidente Hayes. Lesión ulcerada de 3 meses de evolución, en región maleolar externa del tobillo izquierdo 2 meses antes, otra lesión similiar en vecindad. Una semana antes, dolor y secreción serosa, lo cual motiva su consulta.

Se solicitó escarificación: esporos micóticos exoesporulados compatibles con *Paracoccidioides sp.*

## Exñamen físico

**BOCA:** dientes en mal estado de conservación. Faltan piezas dentarias. En paladar duro, pequeña lesión ulcerada de aspecto granulomatoso de 0.5 x 1 cm.

**PIEL Y FANERAS:** Palidez de piel y mucosas. Lesiones ulceradas en región maleolar externa del pie izquierdo, en número de 2, redondeadas, bordes netos, con secreción serosa y tumefacción dolorosa perilesional. Resto del examen físico sin datos de valor.



Lesión ulcerada en miembro inferior izquierdo



Lesión granulomatosa en paladar



Rx tórax del ingreso

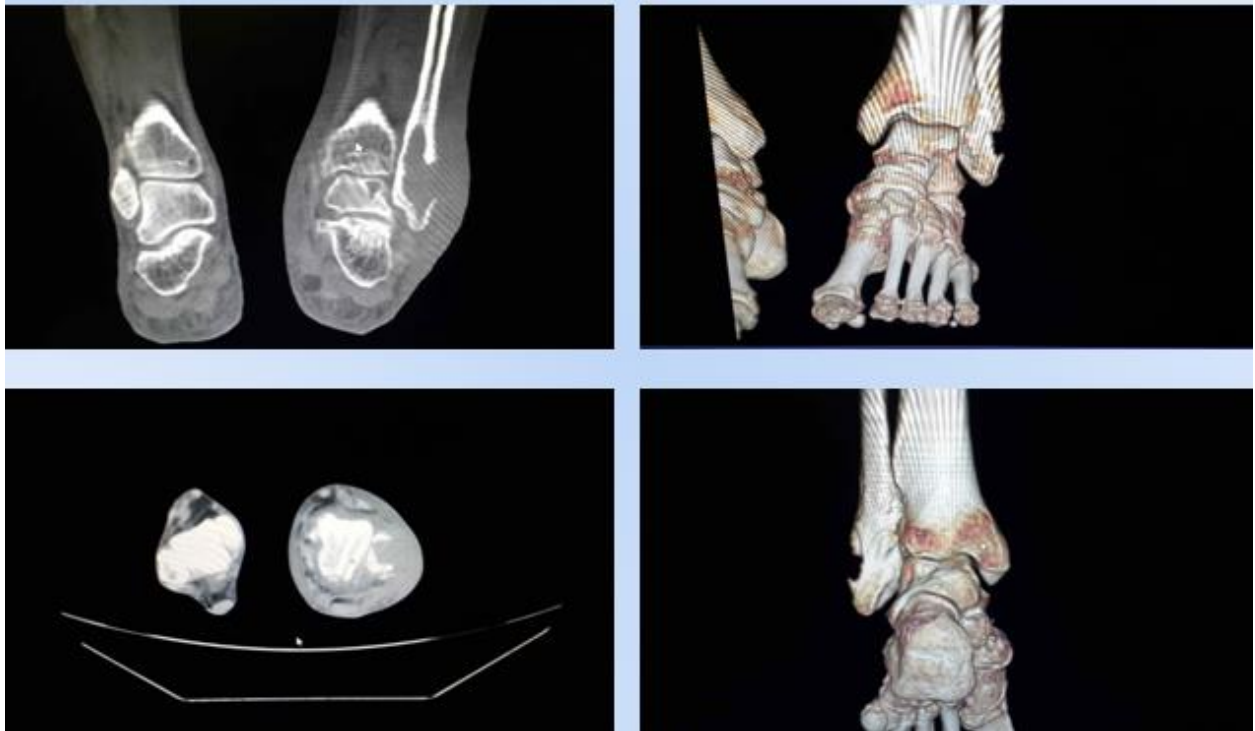
- Inició Anfotericina B desoxicolato (AmB desoxicolato)
- Escarificación de úlcera en paladar: *Paracoccidioides sp.*
- Serología para *Paracoccidioides braziliensis*: positiva 1:2
- Úlcera crónica o fístula?



TAC de tórax: infiltrado parenquimatoso difuso bilateral



TAC de tórax: imágenes cavitarias bilateral



Lesión osteolítica en sacabocado en peroné    Reconstrucción ósea de lesión en peroné

- Completó 1500 mg de AmB desoxicolato.

Se externa con cotrimoxazol con plan de tratamiento prolongado (2 – 4 años). Seguimiento por consultorio externo

## Discusión

El *Paracoccidioides brasiliensis* es un hongo dimorfo, que a temperatura ambiente crece como colonias blancas filamentosas y microscópicamente se evidencian solo hifas y a temperatura de 35 - 37 °C. Es típico de regiones húmedas con temperaturas elevadas como nuestro país. Se cree que el reservorio es el suelo, reportes actuales han encontrado en armadillos infectados<sup>6</sup>

La enfermedad conocida como paracoccidioidomicosis en adultos, es una enfermedad crónica, la cual afecta principalmente al sexo masculino 15:1, a partir de los 30 años, con contacto frecuente con la tierra, siendo la vía inhalatoria, la principal vía de penetración, y de ahí se disemina a otros órganos, por falta de un diagnóstico precoz<sup>6-7</sup>

El presente caso corresponde a una forma rara de presentación. Si bien no se trata de una afectación ósea unifocal, que es aún más rara, no habían síntomas respiratorios, por lo cual la osteomielitis fue fundamental para llegar al diagnóstico.

Las sulfamidas eran tratamiento de elección previo a la aparición de los derivados triazólicos que fueron la piedra angular del tratamiento, actualmente el itraconazol es la droga de elección para el tratamiento Paracoccidioidomicosis crónica del adulto, a dosis de 100 mg/día por seis meses<sup>8</sup>. Nuestro paciente recibió tratamiento con cotrimoxazol de manera prolongada.

La afectación ósea en la paracoccidioidomicosis es generalmente asintomática, pero puede mostrar el dolor, edema y sensación de calor en el área de la lesión<sup>9</sup>.

En general, la afectación osteoarticular ocurre por progación linfo – hematógena desde un foco primario pulmonar<sup>9</sup>

Los huesos más afectados son los de la pared torácica (costillas, esternón, escápula y acromion)<sup>10</sup>.

Actualmente, se recomienda itraconazol para el tratamiento. Sin embargo, cotrimoxazol aun es ampliamente utilizado, debido a su alta eficacia<sup>1</sup>

## Conclusión

Debemos tomar en cuenta la variabilidad de manifestaciones clínicas de la Paracoccidioidomicosis para el diagnóstico oportuno del paciente y evitar las complicaciones.

El diagnóstico precoz, con efectivos tratamientos representan una oportunidad de mejora en el pronóstico y evita secuelas en los pacientes con Paracoccidioidomicosis

## Referencias bibliográficas

1. Boza Cordero R, Villalobos M, Zuñiga JJ, Jiménez E. Caso 13-2013: Masculino 49 Años con Osteomielitis Crónica por *Paracoccidioides brasiliensis*. Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR – HSJD. Año 2013 Vol 3 No IX. ISSN 2215-2741
2. Mangiaterra ML, Giusiano GE, Alonso JM, Gorodner JO. Paracoccidioides brasiliensis infection dans une subtropical region avec importants alteration ambientale. Bull Soc Pathol Exot 1999; 92: 173–76
3. Wanke B. Micosis profundas. In: Schechter M, Marangoni D (eds), Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica, 2nd edn. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 1999
4. Varón G, Pacheco A, Lázare J. Aislamiento e Identificación Micológica de *Paracoccidioides brasiliensis* de una Lesión Bucal. Acta Odontológica Venezolana Vol. 42, N° 2. 2005
5. Fonseca ERS, Pardal P, Severo LC. Paracoccidioidomycosis in children in Belém do Pará. Rev Soc Bras Med Tropical 1999; 32: 31–3
6. Albornoz M. Paracoccidioidomicosis. Temas de Micología Médica. Caracas 1996:172-200
7. Brumer E, Castañeda E, Restrepo A. Paracoccidioidomicosis; An update. Clin Microbiol Rev 1993;6:89-117
8. Negroni R. Tratamiento actual de las micosis sistémicas endémicas. Revista Iberoamericana de Micología 1996;13:544-550
9. Correa-de-Castro B, Pompilio MA, Odashiro DN, Odashiro M, Araújo-Filho A, Paniago AMM. Unifocal Bone Paracoccidioidomycosis, Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg., 86(3), 2012, pp. 470–473
10. Safe IP; Valle FF do, Maia DC, Agonio B, Monte RL, Araújo JR, Cordeiro-Santos M. Extra-pulmonary manifestations of paracoccidioidomycosis associated with acquired immunodeficiency syndrome: a case report. An Bras Dermatol. 2014 Jan-Feb; 89(1): 150–153

## Instrucciones para los autores

La *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, de Asunción – Paraguay, acepta para su publicación trabajos referentes a la medicina y ciencias afines. La revista publica artículos originales, casos clínicos, artículos de revisión y cartas al editor, tanto en español como en inglés.

Los trabajos enviados deberán ser inéditos. El Instituto de Medicina Tropical se reserva todos los derechos de programación, impresión o reproducción (*copyright*) total o parcial del material que reciba, dando en todo caso el crédito correspondiente a los autores del mismo. Si el autor desea volver a publicar lo ya aparecido en la *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, requiere autorización previa por escrito del editor de *Revista del Instituto de Medicina Tropical*.

### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

#### Presentación general

El manuscrito debe tener una portada indicando claramente el TÍTULO COMPLETO del artículo, los NOMBRES DE LOS AUTORES y sus AFILIACIONES (Nombre de la Universidad, Fundación, Instituto o Dependencia, Hospital, dirección completa de la misma y ciudad). También se debe incluir en la portada el nombre del autor a quien se deberá dirigir toda la correspondencia y su e-mail, si lo posee.

La primera página debe contener, un **resumen** del artículo, con un máximo de 200 palabras, y **4 a 6 palabras clave ordenadas alfabéticamente**. La segunda página debe contener un **Abstract** con un máximo de 200 palabras (en inglés) y 4 a 6 (**Keywords**) ordenadas alfabéticamente.

Todo el texto deberá estar escrito a doble espacio en papel tamaño carta y dejando por lo menos 2 cm de margen a los lados.

La impresión debe ser clara y el tamaño de la letra debe ser de 12 puntos (Times New Roman / Arial). La redacción del texto debe ser en voz PASIVA. Para abreviaturas, se debe utilizarla nomenclatura aprobada por la unión internacional de la respectiva disciplina.

El artículo debe comprender las siguientes secciones:

- Introducción

- Materiales y métodos (el área de estudio debe ir incluida para estudios de campo)

- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura citada
- Leyenda de las figuras
- Figuras
- Tablas

Después del título del artículo debe aparecer el nombre del autor o de los autores de la siguiente forma:

- a) Nombre y Apellido, (ejemplo: Juan Pérez),
- b) Si el autor quiere escribir dos apellidos estos deben estar unidos por un guión (ejemplo: Juan Lozano–Torres).

Cuando se citen otros trabajos dentro del texto, se seguirá el siguiente formato: Un autor: (López, 1995) o "...en el trabajo de López (1995)...".

Dos autores: (Andrade y Ruiz, 1992). Más de dos autores: (Rivas et al., 1993).

Más de una cita: (López, 1995; Andrade y Ruiz, 1992).

La presentación de la literatura citada se hará de la siguiente manera según Normas de Vancouver:

#### Libros

Andrade, G.; Ruíz, J.P. y Gómez, R. Biodiversidad, conservación y uso de recursos naturales. Primera edición. CEREC - Fundación Friedrich Ebert de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia. 1992. págs 126.

#### Artículos en revistas

Augsburger, C.K. Seed dispersal of the tropical tree, *Platypodium elegans*, and the escape of its seedlings from fungal pathogens. *Journal of Ecology* 1983. 71: 759-771.

#### Libros editados

Rivas, L.I.; Chicharro, C. y Díaz, P. Sistemas de unión parásito-célula hospedadora en Trypanosomatidae. En: Rivas, L.I. y López, M.C. (eds.). Nuevas tendencias de parasitología molecular. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. 1993. págs. 185-216.

Tamayo, M. (Trabajos de grado) Efecto de la perturbación de los bosques fragmentados



sobre el comportamiento y tamaño de una comunidad de primates en el pie de montellano. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 1997  
Gutierrez, H. Utilización del canto como característica filogenética en los cucaracheros (Troglodytidae: Aves). Tesis de Maestría. Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 1990

### **Notas a pie de página**

Evite el uso de notas a pie de página. La mayor parte de esta información puede ser incluida en el texto principal del artículo para el beneficio de lectores, editores e impresores.

### **Figuras y tablas**

Las figuras no deben estar incluidas dentro del texto del artículo. Cada figura debe ir en una página aparte sin la correspondiente leyenda, pero con los ejes y señaladores claros y grandes. Se deben utilizar unidades de SI (Sistema Internacional de unidades).

Si se envían fotos, éstas deben ser en blanco y negro y de tamaño media carta o carta en papel de alto contraste. Cada figura debe llenar toda una página ya sea en sentido horizontal o vertical, dependiendo de su estructura. Coloque detrás de la página donde está la figura el número correspondiente de la misma en lápiz (por ej. Figura 3). Las figuras originales se envían únicamente cuando el artículo haya sido aceptado para su publicación, mientras tanto se deben enviar fotocopias claras. Incluya en una hoja aparte la leyenda de todas las figuras del artículo. Las tablas tampoco deben ser incluidas en el texto principal del manuscrito.

### **ARTÍCULOS DE OPINIÓN Y REVISIONES DE LIBROS**

La revista acepta artículos de opinión sobre cualquier tema relacionado con las ciencias médicas y afines. Los artículos de opinión deben incluir portada y resumen en inglés y en español, siguiendo las mismas indicaciones que los artículos científicos.

Sin embargo, el texto debe ser continuo, sin secciones (en forma de ensayo), y no

excederse en 10 páginas de longitud (sin incluir portada y hojas de resumen). Si el artículo incluye figuras o tablas, éstas se deben elaborar y anexar de la misma manera que para los artículos científicos. Lo mismo se aplica para la literatura citada, notas de pie de página y ecuaciones. Si se envía la revisión de un libro, se debe incluir en la portada una reseña bibliográfica, utilizando el formato para citar libros de la revista (véase arriba). Las revisiones de libros no deben incluir resumen, pero sí un título.

Aplique las demás normas para escribir artículos de opinión en las revisiones de libros.

### **ENVÍO DE LOS ARTÍCULOS**

Los artículos deberán ser enviados (1 copia en papel y un formato electrónico (CD, pen drive), incluyendo fotocopias de las figuras, ilustraciones o fotografías) a la siguiente dirección:

#### **Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical**

Venezuela casi Florida. Instituto de Medicina Tropical. Asunción – Paraguay.

Tel: (+595 21) 292 654 Interno 2030

Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical

O por correo electrónico a la dirección de e-mail: [investigacion\\_docencia@imt.edu.py](mailto:investigacion_docencia@imt.edu.py)

A nombre del:

**Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa**, Editor de la Revista del Instituto de Medicina Tropical.

Una vez el artículo sea aceptado para su publicación, el autor debe remitir a la oficina editorial los originales de figuras y fotos, así como una versión del artículo en procesador de palabra (Word 7.0 o superior).

**Proceso de revisión:** La primera revisión la realiza el editor para definir si el artículo corresponde a la línea editorial y cumple con los requisitos señalados en estas instrucciones. La segunda revisión la realizan dos árbitros independientes en calidad de revisores pares. La identidad de autores y revisores es confidencial.



Instituto de Medicina Tropical  
Avda. Venezuela y Tte. Ecurra  
Tel./Fax.: +595 21 292654 - 292 164  
Asunción - Paraguay