

sario continuar con la vigilancia de esta enfermedad, sobre todo en personas que se dedican a actividades con riesgo de adquirirla.

Palabras clave: Leptospirosis/diagnóstico; Tests serológico; Ancash; Perú.

RICKETSIOSIS Y LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES CON SÍNDROME FEBRIL ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD ANTA - ANCASH 2001

Jaramillo K¹, Torres R¹, Nongrados D¹, Romero O¹, Lucero J¹, Anaya E².

¹ Laboratorio de Referencia Regional Ancash.

² Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: Determinar la etiología del síndrome febril presentado en pacientes atendidos en el Centro de Salud Anta, provincia de Carhuaz – Ancash, de Enero a Julio 2001.

Metodología: Se obtuvieron muestras séricas de todo paciente identificado con síndrome febril. Los datos de cada uno fueron recopilados en fichas empleadas por la Red Nacional. A todas las muestras obtenidas se les realizó pruebas de aglutinación y hemocultivo para el diagnóstico de salmonelosis; frotis sanguíneo y hemocultivo para el diagnóstico de Bartonelosis; y parte de los sueros fueron remitidos al Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico de Rickettsiosis y Leptospirosis (considerándose presencia de factores de riesgo en su transmisión), empleándose inmunofluorescencia (IF) de anticuerpos totales e IF de IgG para la primera etiología y ELISA IgG y MAT para la segunda.

Resultados: Se identificaron 33 pacientes, procedentes de Trigopampa (2), Yungay (4), Anta (16), Poyor (2), Santa Rosa (2), Pampacancha (1), Paccha (2), Cantar (2) y Mataquita (2). 76,0% (25/33) fueron de sexo femenino y todos presentaron fiebre, cefalea, dolor articular, mialgias y dolor abdominal. Las pruebas de aglutinaciones (reacción de Widal) señalaron títulos para los antígenos O:1/160 y H:1/160 en todas las muestras; 12,0%(4/33) presentaron frotis positivo a Bartonella; por ELISA IgG, se identificó un caso (de Trigopampa) con títulos positivos para Leptospiras y por MAT, se obtuvieron títulos positivos para los serovares Australis (1:500) y Pomona (1:200); y por IF de anticuerpos totales e IF de IgG se obtuvieron 6 casos de sueros positivos para Rickettsias con títulos mayores de 1/64. Todas las muestras evaluadas resultaron negativas para Salmonella y Bartonella.

Conclusión: Rickettsia, Leptospira y Bartonella deben ser considerados como causas de síndrome febril en pacientes atendidos en el Centro de Salud Anta.

Palabras clave: Rickettsia; Leptospirosis; Bartonella; Ancash; Perú.

RICKETSIOSIS Y LEPTOSPIROSIS EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO PROBABLE DE BARTONELOSIS. HUARAZ - ANCASH 2000

Jaramillo K¹, Torres R¹, Romero O¹, Lucero J¹, Anaya E².

¹ Laboratorio de Referencia Regional Ancash.

² Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: Determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra rickettsias y leptospiras en pacientes con diagnóstico clínico probable de Bartonelosis, atendidos de Julio a Septiembre 2000.

Metodología: Se obtuvieron muestras de sangre con anticogulantes y suero sanguíneo de 47 pacientes con diagnóstico clínico de Bartonelosis, pero con frotis negativo. Los datos de cada paciente fueron recopilados en fichas clínico-epidemiológicas. Las muestras séricas fueron cultivadas en el laboratorio referencial para aislamiento de Bartonella, usando medios bifásicos e incubados por 60 días a 29°C; y las muestras de suero fueron remitidas al Instituto Nacional de Salud (INS) para el diagnóstico de Rickettsiosis (por inmunofluorescencia -IF- de anticuerpos totales) y Leptospirosis (por ELISA IgG y MAT).

Resultados: Se identificaron 47 pacientes, 45,0% de sexo femenino, con edades entre 1 y 70 años (promedio: 18 años) y 62,0% (29/47) procedían de Caraz. 83,0% (39/47) presentaron malestar general, 81,0% (36/47) palidez, 74,0% (35/47) cefalea, 66,0% (31/47) fiebre y artralgias, 15,0% (7/47) vómitos, 6,0% (3/47) ictericia y 2,0% (1/47) hepatomegalia y convulsiones. Todas las muestras de sangre cultivadas fueron negativas a Bartonella. 17,0% (8/47) de los sueros fueron positivos a Rickettsias (procedentes de Yungay, Caraz, Ichic, Huaylas, Pueblo Libre y Yuramarca) con títulos mayores a 1:64; y 6,0% (3/47) (procedentes de Yuramarca, Pueblo Libre y Chosica) tuvieron títulos IgM positivos a Leptospiras. Por MAT se encontraron títulos positivos para los serovares Australis (1:100) y Ballum (1:200).

Conclusión: Los cuadros clínicos sospechosos de Bartonelosis en Huaraz pueden ser explicados por otras etiologías, como Leptospira y Rickettsia.

Palabras clave: Infecciones por Bartonella; Rickettsiosis; Leptospirosis; Ancash; Perú.

OTRAS INFECCIONES BACTERIANAS

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE E. coli AISLADAS DE ITU DURANTE LOS AÑOS 2000 A ABRIL 2002

García A.

Área de Microbiología, Departamento de Laboratorio Clínico. Hospital La Caleta - Chimbote.

Objetivo: Determinar la prevalencia de E. coli proveniente de infección urinaria y su resistencia antimicrobiana en el Hospital La Caleta - Chimbote, durante los años 200 a abril del 2002.

Metodología: De 1909 urocultivos procesados en el Hospital La Caleta durante el período de estudio, mediante la siembra por agotamiento en Agar Mc Conkey, Agar sangre y sus respectivas pruebas bioquímicas, 474 resultaron positivos. A estos se les realizó la detección de resistencia antimicrobiana por el método de disco difusión en placa. Los antimicrobianos empleados fueron: ampicilina/sulbactam, gentamicina, ciprofloxacina, sulfametoxazol/trimetopim, norfloxacina, cefuroxima y ampicilina.

Resultados: De 474 urocultivos positivos, 72% fueron identificados como *E. coli*, seguidos por *Staphylococcus* 9%, *Proteus* 9%, *Klebsiella* 2%, y *Pseudomonas* 1%. Se encontró una resistencia marcada a ampicilina, sulfametoxazol/trimetopim y ampicilina/sulbactam, seguido por Ciprofloxacina.

Conclusión: Los porcentajes elevados de resistencia a ampicilina, sulfametoxazol/trimetopim y ampicilina/sulbactam sugiere que el uso de estos antimicrobianos en esta región del país serían inadecuados como alternativas de tratamiento para el manejo de pacientes con infección urinaria.

Palabras clave: *Escherichia coli* / inmunología; antibióticos.

AISLAMIENTO DE *Yersinia enterocolitica* EN DOS PACIENTES CON DIARREA AGUDA. ANCASH 2001- 2002

Jaramillo K¹, Torres R¹, Nongrados D¹, Lucero J¹, Huapaya B².

¹ Laboratorio de Referencia Regional Ancash.

² Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: Determinar el agente etiológico de los cuadros de diarrea aguda en dos pacientes procedentes de las localidades de Ponto y Caracancha, identificados durante la vigilancia bacteriológica de diarrea aguda, en Ancash.

Metodología: Se obtuvieron muestras de hisopado rectal de dos pacientes, uno de ellos procedente de la localidad de Ponto (3300 msnm) - Provincia de Huari y el otro de la localidad de Caracancha (3500 msnm) - Provincia de Bolognesi. Los datos de cada paciente fueron obtenidos en fichas clínico-epidemiológicas empleadas por la red nacional. Las muestras fueron previamente enriquecidas en caldo selenito y agua peptonada alcalina (este último para descartar la presencia de *Vibrio cholerae*) por 24 horas a 37°C, luego fueron sembrados en Agar Mac Conkey y XLD e incubadas por 24 horas a 37°C. Las colonias obtenidas fueron repicadas en TSI y LIA para las reacciones bioquímicas y en los medios de MIO y SIM para determinar la descarboxilación de la ornitina, producción de indol y movilidad a temperaturas de 25°C y 37°C por 24 horas. Las cepas fueron aisladas en TSA y remitidas al Instituto Nacional de Salud (INS) para el control de calidad.

Resultados: Ambos pacientes eran varones. El procedente de la localidad de Ponto fue identificado en No-

viembre 2001, con 10 años de edad y presentó fiebre, diarrea y vómito. El procedente de la localidad de Caracancha, de 8 años, falleció con un cuadro agudo de deshidratación y shock hipovolémico después de presentar fiebre, vómito, diarrea y dolor abdominal intenso, en Junio 2002. Al término de los coprocultivos se aislaron cepas de *Yersinia enterocolitica*, cuyas reacciones bioquímicas en TSI y LIA eran de A/A-, A/A- respectivamente, oxidasa (-), ornitina descarboxilasa (+) y a la coloración Gram se observó bacilos cortos Gram negativos.

Conclusión: El agente etiológico causante de los cuadros de diarrea en ambos pacientes fue *Yersinia enterocolitica*. Se recomienda estudios sobre la epidemiología de la transmisión de esta bacteria en las provincias de Ancash.

Palabras clave: *Yersinia enterocolitica* / aislamiento & purificación; Diarrea; Ancash; Perú.

DETECCIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA DE *Helicobacter pylori* POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Zamudio M¹, Huguet J¹, Suárez V¹, Morón C¹, Soriano C², Frisancho O², Bussalleu A³, Vargas G⁴.

¹ Instituto Nacional de Salud.

² Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins – EsSalud.

³ Hospital Nacional Cayetano Heredia – MINSAL.

⁴ Hospital Nacional Arzobispo Loayza – MINSAL.

Objetivos: Detectar los factores de virulencia de *Helicobacter pylori* utilizando como blancos de caracterización al gen de la toxina de vacuolización (Vac) y la isla de patogenicidad (Cag) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Metodología: Diecisiete aislamientos de *Helicobacter pylori* obtenidos de pacientes con gastritis y ulcera duodenal fueron confirmados con el método de coloración histológica y la prueba de ureasa. Los cultivos puros fueron procesados para realizar la técnica de PCR. Los procedimientos para la amplificación de los genes VacA y CagA, previamente estandarizados, sirvieron para identificar los factores de virulencia.

Resultados: Se detectó el gen CagA en 14/17 aislamientos y 3/17 fueron CagA negativos. Todos los aislamientos fueron VacA Positivo. En cuanto al polimorfismo del gen VacA se encontró para la región señal el genotipo s2 en todos los aislamientos. Ninguna muestra fue del genotipo s1. La fracción intermedia del gen VacA se encontró en igual proporción de los genotipos m1 y m2. Se obtuvieron tres variantes : V1 = CagA + Vac s2/m1 (9). V2 = Cag A+ s2/m2 (6). V3= Cag A- s2/m2 (3).

Palabras clave: *Helicobacter pylori*/diagnóstico; Reacción en cadena por polimerasa.

EL GEN DE UNA PROTEÍNA DE MEMBRANA EXTERNA - OMP22 COMO UN NUEVO BLANCO PARA LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Huguet J, Zamudio M.
Instituto Nacional de Salud

Objetivo: Proponer el diseño de un PCR a partir de la secuencia nucleotídica del gen de una proteína de membrana externa OMP22 y su evaluación como nueva alternativa para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*.

Metodología: Utilizando la interfase del programa Primer Select fueron diseñados dos oligonucleótidos iniciadores, OMP22F y OMP22R, esperando amplificar por PCR la secuencia completa del gen OMP22 (680 bp). Se realizaron curvas de temperatura, concentración de magnesio y de ADN. Finalmente, se evaluó la sensibilidad y especificidad con ADN de *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*; y ADN humano. Los resultados de amplificación por PCR fueron sometidos a una electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados en luz UV.

Resultados: Se obtuvieron productos de amplificación de 680 bp sólo en las muestras de *H. pylori*. Los productos de amplificación fueron digeridos con las enzimas BglII y MspI, obteniéndose productos de restricción que confirmaban la amplificación correcta del gen OMP22. Terminada esta etapa de estandarización en el laboratorio, se espera probar este nuevo sistema de PCR con biopsias gástricas, saliva, heces y otra clase de muestras en las cuáles se pueda detectar *Helicobacter pylori*.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*/diagnóstico; Reacción en cadena por polimerasa.

GENOTIPIACIÓN POR RFLP E HIBRIDACIÓN DE CEPAS DE *Vibrio cholerae* AISLADAS ENTRE EL PERÍODO 1991 - 1999

Huguet J, Arias I, Núñez R, Falconí E, Montoya Y.
División de Biología Molecular - División de Microbiología, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: Identificar variantes genéticas de *Vibrio cholerae*, ocurridas en los últimos 10 años en el Perú, mediante análisis de restricción enzimática de ADN genómico.

Metodología: 65 cepas de *Vibrio cholerae* 01 aisladas desde los años 1991 - 1999 de diferentes áreas geográficas del Perú fueron seleccionadas mediante fichas de identificación para su posterior reactivación en medio APA, aislamiento en medio selectivo TBCS y pruebas bioquímicas de confirmación. Las cepas seleccionadas fueron cultivadas en medio LB y lisadas en solución TE con lisozima, SDS y proteinasa K, a fin de obtener ADN genómico. El ADN obtenido fue purificado con fenolcloroformo, precipitado con etanol absoluto y resuspendido en 1,5 mL de agua tridestilada libre de nucleasas. Posteriormente, el ADN genómico fue digerido con diferentes enzimas, probando concentraciones de 2, 4, 8, 12 unidades y tiempo de incubación por 3, 6 y 12 horas. Los productos de restricción fueron separa-

dos por electroforesis en geles de agarosa al 0,8% y visualizados en luz UV con bromuro de etidio.

Resultados: De 65 cepas reactivadas, 100,0% fueron confirmados como *Vibrio cholerae*. El proceso de extracción de ADN genómico resultó satisfactorio en 80,0%, obteniéndose entre 2 a 4 mg/mL de ADN para cada muestra a partir de 30 mL de cultivo, con una pureza de 1,8 (absorbancia 260nm / 280nm), aproximadamente.

Conclusión: Las concentraciones y tiempos en la restricción enzimática fueron satisfactorios para todos los casos. Sin embargo, debemos mencionar que el proceso de genotipificación por restricción enzimática requiere de muestras de ADN de alta pureza e integridad a fin de evitar falsos patrones de diferenciación.

Palabras clave: *Vibrio cholerae*/genética; Perú.

PRINCIPALES BACTERIAS ASOCIADAS A INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS, SAN MARTÍN – 2001

Arévalo H, Melgar R, Núñez A.
Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública – Dirección Regional de Salud San Martín.

Objetivo: Identificar las principales bacterias asociadas a infecciones intrahospitalarias (IIH) en centros asistenciales de la Región San Martín, 2001.

Metodología: Se determinaron cuatro centros asistenciales de salud en la Región San Martín (Hospital Banda Shilcayo, Centro Materno Perinatal, C.S. Lluylucucha, Hospital Nueva Cajamarca).

Las muestras con diagnóstico clínico de IIH fueron obtenidas en condiciones adecuadas y luego sembradas en medios selectivos (Mac Conkey, SS, Thayer Martin, Saboraud y/o Agar sangre) para su aislamiento y posteriormente en medios diferenciales (TSI, LIA, SIM Urea agar) para su identificación.

Resultados: De los cuatro centros asistenciales estudiados, los principales patógenos asociados a IIH aisladas de diferentes tipos de muestras fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus b-haemolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Serratia marcescens* y *Candida albicans* (hongo). Las más frecuentemente aisladas fueron *E. aerogenes* (32,0%) y *P. aeruginosa* (24,0%), y la mayoría de las bacterias fueron aisladas del servicio de cirugía y traumatología (Hospital Banda de Shilcayo) y de Neonatología (C.M. Perinatal).

Conclusión: De las bacterias aisladas e identificadas, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes* y *E. coli* fueron aisladas de IIH en todos los centros asistenciales; datos adicionales reflejan que *P. aeruginosa* presenta una elevada resistencia a antibióticos. El aislamiento de *Candida albicans* en recién nacidos a partir de muestras sanguíneas, evidencia también un manejo inadecuado de medidas de bioseguridad hospitalaria. Estos resultados sugieren que deben implementarse programas de control de las IIH que involucren la vigilancia epidemiológica, etiológica y de resistencia microbiana.

Palabras clave: Infección hospitalaria; San Martín; Perú.