

ciencia
tecnología
innovación

Proyectos de Investigación

PID Chubut 2007-2010

“Experiencias de investigación como resultado de la aplicación de un instrumento provincial de popularización y acceso al conocimiento”

progreso económico, social y cultural

2007
2008
2009
2010

CHUBUT
CADA DÍA UN NUEVO DESAFÍO



SECRETARÍA
de CIENCIA
TECNOLOGÍA
INNOVACIÓN
Provincia del Chubut

**PRESENCIA DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN
EL MEDIO AMBIENTE ACUÁTICO DEL VALLE
DE SARMIENTO, PROVINCIA DE CHUBUT:
ECOEPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA SANITARIA.**

AUTORES:

Jensen Oscar¹, Suarez Carlos Leonardo¹, Girón Gutiérrez María de los Angeles², Gertiser
María Laura³, Visciarelli Elena Concepción³, y Costamagna Sixto Raul³.

INSTITUCIONES:

¹Departamento de Investigación en Salud, Secretaría de Salud, Provincia del Chubut.

²Laboratorio, Escuela Agropecuaria N°725, Sarmiento, Provincia del Chubut

³Cátedra de Parasitología Clínica. Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia.

Universidad Nacional del Sur.

E-mail: jensenoscar52@gmail.com

■ RESUMEN

Las Amebas de Vida Libre (AVL) son protozoarios cosmopolitas que representan una parte importante de la fauna de prácticamente cualquier biotopo del medio ambiente. Sin embargo, algunas especies son responsables de infecciones en humanos y animales. Los hábitats de las especies patógenas de AVL incluyen suelo, polvo, aire y agua, comportándose como fuentes potenciales de infección. Teniendo en cuenta que el agua es una de las principales vías de transmisión de estos microorganismos, el objetivo de este trabajo fue la búsqueda, aislamiento y caracterización de las AVL halladas en aguas del curso inferior del Río Senguer, Chubut, Argentina, en las cuatro estaciones del año desde Julio del 2010 a Mayo de 2011. Se recolectaron 128 muestras, siendo 39 positivas a la observación directa y aislándose AVL en 91 muestras.

Palabras claves: Amebas de Vida Libre, AVL, parásitos, agua, Chubut

■ INTRODUCCION:

Las AVL han sido aisladas del suelo, polvo, aire, agua natural y tratada, agua de mar, sedimento oceánico, de piscinas, aguas residuales, lagos lagunas y acuarios. La información sobre su ecología y distribución es sumamente importante ya que algunos géneros pertenecientes a este grupo pueden causar enfermedad en el hombre, tal es el caso de: *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, y *Sappinia diploidea*. *N. fowleri* produce meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), una enfermedad del sistema nervioso adquirida por la exposición a aguas contaminadas de piscinas, ríos y lagos de aguas cálidas. El curso clínico es agudo y frecuentemente mortal. *Acanthamoeba*

spp y *B. mandrillaris* pueden causar encefalitis amebiana granulomatosa (EGA), crónica en pacientes inmunológicamente comprometidos. *Acanthamoeba* spp puede producir queratitis severa, principalmente en usuarios de lentes de contacto y ha sido asociada a lesiones cutáneas y sinusitis en pacientes inmunocomprometidos. *Acanthamoeba* es el género aislado con mayor frecuencia, se ha encontrado en todos los ambientes en los que se ha investigado su presencia, y el agua es su principal fuente de diseminación. En su ciclo de vida alterna entre un estadio de trofozoito y quiste según las condiciones del medio. La forma quística es muy resistente a los agentes químicos, y es la principal forma de diseminación en el ambiente.

Teniendo en cuenta que el agua es una de las principales vías de transmisión de estos microorganismos (Marciano-Cabral & Cabral, 2003), el objetivo de este trabajo fue la búsqueda, aislamiento y caracterización de AVL en el curso inferior del Río Senguer.

■ MATERIALES Y METODOS:

Muestreo

Los sitios muestreados en el periodo Julio del 2010 a Mayo de 2011: Lago Muster (LM), Río Senguer (RS), cuerpos de agua ubicados en los cuatro puntos cardinales que rodean el valle y canales de riego de las chacras. Del sistema de potabilización de agua se recogieron muestras de la Pileta Desarenadora (PD), una de la superficie, una del fondo y otra de raspado de la pared, y en la planta potabilizadora se tomaron muestras de la pileta ubicada en la entrada de la planta; agrupadas todas como Aguas a Cielo Abierto (ACA). De la piscina cubierta se recolectaron muestras del fondo,

raspado de pared y superficie de la misma, identificadas como aguas cubiertas (AC). Se muestrearon aguas de canillas y de tanques domiciliarios. Se tomaron muestras de la entrada y salida de agua del tanque de la Guarnición perteneciente al Ejército Argentino y de la salida de agua de la planta potabilizadora hacia la red de distribución. Todas éstas bajo el nombre de aguas entubadas (AE), es decir con circulación por cañerías. Se recolectó agua de pozo (AP) utilizada para consumo.

Una vez que las muestras estuvieron en el laboratorio se las dejó decantar por un periodo de 18- 24 hs. Posterior a esto se descartó parte del sobrenadante, y el volumen remanente se centrifugó a 2000 rpm durante 10 min. El sedimento obtenido es el que se utilizó para la observación directa y el cultivo.

Observación Directa: del sedimento final obtenido se colocó una gota entre porta y cubreobjetos para la búsqueda en fresco de cualquier estadio del ciclo de las AVL.

Cultivo: Para el aislamiento de AVL se utilizó Agar no nutritivo (ANN), en placas de Petri, 1,5 % en solución salina de Page. Sobre el ANN solidificado y a temperatura ambiente se agregaron 500 µl de una suspensión de *Escherichia coli* en solución de Page y sobre éstas se colocó 100µl de la muestra a analizar (Page 1976).

Una vez realizada la siembra las placas fueron incubadas en estufa a 37°C. Para detectar desarrollo se observó, a partir de transcurridas 48 h al microscopio óptico, entre porta y cubreobjetos, diariamente durante los primeros 7 días, y cada 48h en la semana posterior. De no existir desarrollo la placa se descarta como

negativa a los 15 días de incubación.

Cada uno de los sitios de muestreo fue geo-referenciado registrando latitud, longitud y altura sobre el nivel del mar. Se registró, también, para cada lugar la temperatura del agua y la del ambiente al momento de realizar el muestreo.

A los cultivos positivos se les analizó las características morfológicas (tipo y forma de las proyecciones, características nucleares, modo de desplazamiento, etc.) y morfométricas; midiendo con ocular micrométrica el lado mayor de trofozoítos y quistes, para su ubicación genérica.

Las amebas aisladas cuyo género no es posible de identificar mediante sus características morfológicas fueron conservadas para su identificación molecular, mediante el análisis de su 18S rDNA. Mediante técnicas moleculares, también, se realizó la confirmación y la identificación genotípica de los aislamientos clasificados morfológicamente.

■ RESULTADOS:

Se recolectaron un total de 128 muestras. De las cuales 91 de los cultivos fueron positivos para el aislamiento de AVL, con solo 39 observaciones directas positivas. La positividad de los cultivos por tipo de agua analizada se muestra en la tabla 1.

Tipos de aguas	% de cultivos positivos
ACA	91.2
AE	53.0
AC	15.4
AP	72.3

Tabla 1: Positividad de los cultivos por tipo de agua analizada.

De los 91 aislamientos, 87 de las cepas se clasificaron morfológicamente como pertenecientes al género *Acanthamoeba*. Con trofozoitos de 6,3 a 21,8 μm de diámetro y quistes de 4.0 a 14.3 μm de diámetro (Figura 1; a y b).

18 de las cepas de *Acanthamoeba* aisladas corresponden al Grupo II con quistes con 3 a 5 brazos (Figura 1, c). 65 se agruparon en el Grupo III, con quistes esféricos (Figura 1, d) y la 4 restantes presentaban población mixta de quistes.

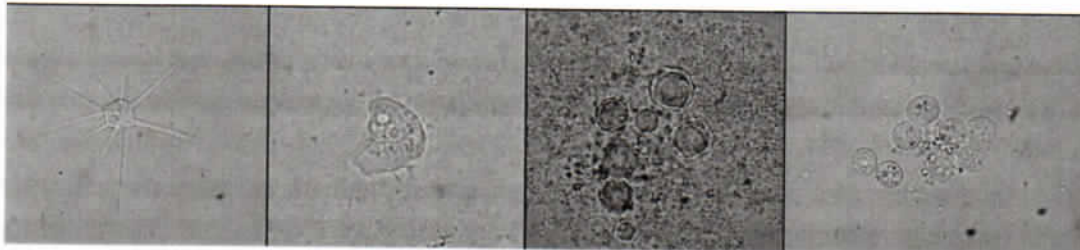


Figura 1: a y b: trofozoitos de *Acanthamoeba* spp. c: quistes pertenecientes al Grupo II. d: quistes pertenecientes al Grupo II según Pussard & Pons.

Las 4 cepas restantes se identificaron como No A no N, ya que morfológicamente no pertenecen al género *Acanthamoeba*, y la prueba TAF resulto negativa descartando que pertenezcan al género *Naegleria* (Figura 2).

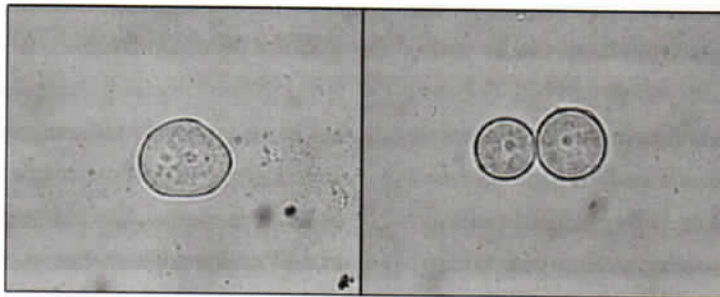


Figura 2: a: trofozoitos de la cepa denominada No A no N, b: quistes.

■ CONCLUSIONES:

Los resultados son concordantes con el hecho de que las AVL presentan una amplia distribución ambiental, que queda demostrada, principalmente, por el alto porcentaje de hallazgos en las aguas a cielo abierto. Por otra parte, los aislamientos positivos de aguas en un amplio rango de temperaturas, algunas muy bajas, destacan la capacidad de adaptación de estos microorganismos a condiciones ambientales variables y adversas.

En las AC, obtenidas de la Piscina cubierta de la localidad, solo uno de los sitios de muestreo resultó positivo, aislándose en él una cepa denominada No A, no N, ya que no fue posible identificarla morfológicamente. Este hallazgo confirmó resultados previos obtenidos para estas aguas.

Las muestras de agua de red domiciliaria resultaron positivas, aislándose especies pertenecientes al género *Acanthamoeba*, sin embargo los resultados obtenidos en las muestras de agua de la Planta potabilizadora fueron negativos. Esto indicaría que la contaminación con estos protozoos se produciría en el trayecto de distribución a la población.

Otro resultado que merece atención es el del muestreo del tanque perteneciente a la Guarnición del Ejército Argentino en Sarmiento. El muestreo del agua que ingresa al tanque resultó negativo, mientras que el análisis del agua que sale del tanque, luego de su almacenamiento en el mismo, fue positivo, lo que permite inferir que la contaminación se produjo en el mismo. Este hecho, acompañado del hallazgo de AVL en tanques domiciliarios,

resalta la importancia del buen mantenimiento de estos reservorios de agua, principalmente la realización de la limpieza periódica de sus paredes para evitar la formación de biofilms que sustentan el crecimiento de AVL y otros microorganismos.

Si bien las especies aisladas son potencialmente patógenas, la mayoría de los individuos desarrollan protección inmunológica contra sus infecciones. No obstante, la población en riesgo: inmunosuprimidos, usuarios de lentes de contacto o individuos con lesiones oculares, debe tener presente las medidas preventivas y los riesgos a los que está expuesta.

■ BIBLIOGRAFÍA:

- Marciano-Cabral F. and Cabral G., 2003. *Acanthamoeba* spp. as Agents of Disease in Humans. Clin Microbiol Rev. 16 (2): 273-307
- Molet B. and Kremer M. 1976. Techniques d'études et criteres morphologiques pour l'identification des amibes libres. Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp. Lyon; 78: 215-24.
- Page W C. 1976. An illustrated key to freshwater and soil amoebae, with notes on cultivation and ecology. Fresh Boil Ass Sci Publ; 34: 1-155.
- Pussard, M., and R. Pons. 1977. Morphologies de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). Protistologica 13:557-610

■ TRANSFERENCIA REALIZADAS

- 1.- Jornada de actualización en "Amebas de Vida Libre", Facultad de Ciencias Na-

turales, Comodoro Rivadavia. Noviembre de 2010.

Fue organizado en forma conjunta entre el Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT) de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco y el Departamento Provincial de Investigación en Salud - Dirección de Control de Patologías Prevalentes y Epidemiología - Secretaría de Salud Provincia de Chubut.

Se realizó en la Facultad de Ciencias Naturales, sede Comodoro Rivadavia, tuvo una duración de cinco horas y contó con 35 participantes entre docentes, investigadores y alumnos avanzados de la UNPSJB, médicos, bioquímicos y veterinarios del Hospital Regional y la Municipalidad de Comodoro Rivadavia.

Los disertantes fueron Dr. Sixto Raúl Costamagna, Bioq. Claudia Torrecillas, Bioq. María Laura Gertinser y Vet Oscar Jensen.

2.- Taller sobre "Amebas de Vida Libre" Sarmiento. Noviembre de 2010

Fue organizado en forma conjunta con el Hospital Rural de Sarmiento.

Se realizó en el Salón de la Cooperativa

de Sarmiento, tuvo una duración de tres horas y contó con 25 participantes entre médicos, bioquímicos, agentes sanitarios, y técnicos, pertenecientes al Hospital, Clínica Sarmiento, Escuelas Agropecuaria, Guarnición Militar y Medio Ambiente de la Municipalidad.

Los disertantes fueron Doctor Sixto Raúl Costamagna, Alumna Luciana Rodríguez, Escuela Agropecuaria N° 725 - Sarmiento, Doctor Carlos Suarez, - Médico Generalista - Hospital Sarmiento, Bioquímica María Laura Gertinser

3.- "Peligro en nuestros ojos".- Feria de Ciencia y Tecnología. Ministerio de Educación. Chubut

Se asesoró y acompañó a la alumna del último año de la Escuelas Agropecuaria N° 725 de Sarmiento, Luciana G. Rodríguez en el trabajo de investigación sobre Amebas de Vida Libre, que se denominó: "**Peligro en nuestros ojos**".- La Licenciada en Genética y docente de la Escuela 725, María de los Angeles Girón fue su docente asesor y la Bioquímica María Laura Gertiser su asesor científico. El proyecto fue presentado en las instancias local (Sarmiento), regional (Río Mayo) y provincial (Esquel).

La Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación (SCTeI), fue creada en octubre de 2009. Esta nueva cartera surge ante la necesidad de dar respuesta a un sector que, hasta el momento se encontraba integrado en las políticas del Ministerio de Educación, organismo desde el cual se propone al Sr. Gobernador integrar al desarrollo científico y tecnológico, a los ejes rectores del Modelo Chubut.

Desde la SCTeI generamos ámbitos de intercambio con Universidades Nacionales, Públicas y Privadas, así como también con otros organismos de gobierno provinciales y Organizaciones de la sociedad civil¹, con quienes desarrollamos acciones concretas, hemos participado en calidad de disertantes lo que nos permitió contrastar y poner en valor nuestra visión.

Como parte del compromiso y la responsabilidad asumida por este gobierno, Chubut no sólo presidió (y preside por tercer año consecutivo) el Consejo Regional Sur de Ciencia y Tecnología, sino que además representa a todas las provincias en la Secretaría permanente del Fondo Tecnológico Argentino.

En esta misma línea desarrollamos la Muestra Latinoamericana de Jóvenes Emprendedores en una escuela pública, para poner en valor estas instituciones, y lucir a nivel nacional las condiciones de trabajo de nuestros docentes, y el contexto en el que aprenden -y enseñan- los jóvenes chubutenses.

Asimismo y ya en el orden regional generamos una propuesta de trabajo interjurisdiccional que nuclea todos los centros de investigación y universidades de cuatro provincias patagónicas. Esta red cuyo nodo estará anclado en el Centro Nacional Patagónico, concluyó un documento fundacional con una visión compartida y una estrategia de acción conjunta que actualmente fue aprobada y financiada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Desde la SCTeI construimos conjunto de políticas que, en este primer año y medio de gestión, dieron lugar a ocho nuevos programas, todos ellos estructurados en torno a dos grandes ejes mutuamente incluyentes a saber:

- La formación de recursos humanos altamente especializados
- La popularización (democratización) del acceso al conocimiento.

Desde el Modelo Chubut en todo momento se buscó poner en valor la capacidad de los chubutenses, y es en concordancia con esta premisa que desde la SCTeI impulsamos la formación de RRHH no solo con dos programas de becas doctorales que apoyan la formación de más de 30 becarios, sino también incluyendo componentes formativas en básicamente todos los convenios de trabajo, programas y acciones.

1 Universidad Nacional de Gral Sarmiento, Universidad de San Andrés, Universidad Austral, Universidad Nacional del Litoral, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires / INTA Castelar / Confederación económica de la Provincia de Buenos Aires.

Entendiendo la popularización como una estrategia clave para lograr la democratización del acceso al conocimiento, y entendiéndola como una estrategia necesaria para que el desarrollo de la ciencia y la tecnología se contribuya a la inclusión y progreso social del Chubut, Implementamos Ciencia Nómada. Una propuesta mediante la cual acompañamos en promedio dos fiestas populares con una carpa en la que los mismos investigadores eran quienes compartían su trabajo, se ponía en valor la narración y lectura, y se difundía el accionar de la Secretaría. Objetivo para el cual también pusimos en el canal local una serie de cortos televisivos mostrando las actividades desarrolladas por los becarios Doctorales de la provincia.

Sin lugar a dudas, una forma de popularización y democratización del acceso al conocimiento, es la generación de instrumentos que nos permitan generarlo. Es por esto que el Programa de Investigación y Desarrollo del Chubut (PIDCh) pone a disposición de jóvenes profesionales e investigadores una línea de financiamiento para proyectos enfocados en temáticas relacionadas con vacancias sociales y productivas de la provincia. De este modo, en forma gradual y sistemática se va construyendo el conocimiento necesario para superar barreras de conocimiento o tecnología, propiciando el progreso económico y social del Chubut.

Una forma de llegar con el saber científico a todo el territorio y hacerlo con investigadores locales es también valorar la capacidad de nuestra gente y ponerla a disposición del bien común. Esto no implica desconocer el potencial de investigadores, universidades o centros de investigación fuera del Chubut, sino generar las condiciones para el trabajo en red que no solo nos conduzca a resolver una problemática, sino que también genere capacidad local para enfrentar nuevos desafíos.

Con esta primera edición del PID Chubut 2007-2010 *“Experiencias de investigación como resultado de la aplicación de un instrumento provincial de popularización y acceso al conocimiento”* esperamos compartir parte de este conocimiento generado por nuestra gente contribuyendo con el eje de popularización, y propendiendo a la generación de redes y vínculos que nos permitan potenciar los esfuerzos individuales y constituir nuevos grupos de trabajo.

Por último, entendemos que uno de los objetivos por el cual generar conocimiento es el relacionado con la generación de mejores condiciones de vida, por lo que desde la SCTeI generamos un programa específico que dio lugar a la creación de dos incubadoras de empresas de base tecnológica, de las cuales participan los institutos de investigación y universidades de Chubut junto con el sector productivo. Nuevos espacios donde los proyectos con potencial para generar nuevos emprendimientos cuenten con la contención y asistencia técnica necesarias para consolidarse.

Son pocas las provincias que poseen una cartera de gobierno específica para el abordaje de la ciencia y tecnología, por lo que estamos orgullosos de aportar a la construcción de un modelo de gestión diferente, en el que es el sector Científico Académico en que contribuye con el desarrollo generando los debates y fundamentando las decisiones entorno a los grandes temas de la sociedad.

“La ciencia y la tecnología conforman dos grandes áreas del conocimiento que cumplen un rol fundamental en toda sociedad. La investigación científica y tecnológica, contribuye de alguna manera al progreso económico, social y cultural, siendo capaz de ayudar a establecer los debates y las decisiones de nuestra sociedad, con relación a las grandes cuestiones ligadas a su desarrollo y a la calidad de vida de la población. Al mismo tiempo, posee un gran valor en la formación de ciudadanos comprometidos, portadores de los conocimientos de base, las habilidades cognitivas, y las técnicas intelectuales y operativas necesarias para un aprendizaje autónomo, creador y permanente. Ser consciente de esta necesidad, nos permitirá crecer en pro de los nuevos desarrollos científicos y tecnológicos.”²

A partir de la creación de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación el Gobierno de la Provincia del Chubut renueva su compromiso de impulsar y fortalecer acciones y actividades de investigación científica y desarrollo tecnológico así como actividades de transferencia y vinculación, orientadas a la innovación, como elementos fundamentales en el desarrollo sustentable de la sociedad chubutense; compromiso iniciado en esta esfera en el 2007 desde el Ministerio de Educación.

En esta dimensión, y en pos de un mejoramiento educativo y científico-tecnológico provincial, la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación a través de la Dirección General de Planificación, Transferencia y Gestión de Ciencia y Tecnología, convocó a la sociedad educativa y científica a la presentación de proyectos que adhieran a las áreas prioritarias establecidas por el Gobierno de la Provincia del Chubut.

Dicha convocatoria se realizó a través de un concurso público y tuvo como objetivo general estimular el desarrollo de proyectos provinciales de investigación que tengan por objeto de estudio a alguna de las áreas preestablecidas de interés con injerencia provincial.

Según las bases de la convocatoria, para la participación y asignación del subsidio, los interesados debían conformar una asociación accidental compuesta por al menos tres investigadores: docentes o profesores del sistema educativo provincial, profesionales universitarios, o integrantes de institutos de investigación nacional o provincial (con sede en la provincia); estableciendo el cargo y la representación de cada uno de ellos. Era requisito de participación de los investigadores comprobar su residencia en la provincia de no menos a tres años.

Las acciones de los proyectos seleccionados de la convocatoria, se desarrollan en el marco de la firma de un Convenio y los recursos asignados están dirigidos al sostenimiento de las actividades científicas como así también al incremento en el número de docentes investigadores.

2- Bases Subsidios de Investigación 2009

En esta publicación se detallan las conclusiones de los proyectos desarrollados durante el período 2007-2010; a fin de que los resultados de la investigación y el desarrollo de los procesos de innovación tecnológica no sólo se sitúen al alcance de los docentes, grupos de investigadores, estudiantes y graduados de la comunidad científica - académica; sino que el mismo se configure como un instrumento más generado en la SCTeI para la popularización del conocimiento entre las organizaciones sociales, los sectores productivos y la comunidad en general. Esto con la finalidad expresa de contribuir a su transferencia orientado a alcanzar el desarrollo social, económico y sustentable, en pos de una mejor calidad de vida.

A través de sus páginas se los invita a recorrer el camino de las experiencias de investigación que han sido encuadradas en los siguientes tipos:

Subsidio Tipo A (ST A): proyectos de investigación educativa, que pueden tener relación o no con los alumnos.

Subsidio Tipo B (ST B): proyectos de investigación en áreas temáticas a elección, cuya relevancia encuadre dentro de las áreas prioritarias de investigación establecidas por el Ministerio de Educación: *Educación, Producción, Problemáticas Sociales y de Salud, Cultura y Turismo*.

Nuestra intención no es otra que la de comunicar las experiencias surgidas del esfuerzo y el trabajo en equipo, puesto de manifiesto en los relatos de los protagonistas investigadores.

A todos ellos, nuestro agradecimiento por dedicar de su tiempo para enriquecer esta obra.