

Tabla 1Comparación de los resultados de las pruebas bioquímicas entre distintas cepas de *Leptotrichia trevisanii*

Prueba	Nuestro caso	Tee et al. ¹	Cooreman et al. ⁶	Higurashi et al. ² , caso 1	Higurashi et al. ² , caso 2
Catalasa	–	+	–	NT	NT
Oxidasa	–	–	–	NT	NT
Urea	–	–	NT	–	–
Indol	–	–	–	–	–
αGAL	+	–	NT	+	–
βGAL	+	NT	+	NT	NT
αGLU	+	+	NT	+	–
βGLU	+	+	NT	+	–
βNAG	+	+	NT	–	–
PAL	+	–	NT	–	–
Esculina	NT	NT	NT	+	+

+: positivo; –: negativo; NT: no testado.

de los antimicrobianos^{1,2,6,7}. No hay experiencia suficiente para establecer un tratamiento de elección. En la bibliografía revisada se implantaron diversos regímenes terapéuticos en función del estudio de sensibilidad, con resolución del cuadro clínico en todos los casos. Nuestra paciente fue tratada con piperacilina-tazobactam, siendo los hemocultivos negativos al décimo día postratamiento y con resolución de la mucositis el día 15. Sin embargo, Martín-Gutiérrez et al. no observaron mejoría clínica empleando piperacilina-tazobactam, cambiando el tratamiento a meropenem³.

El empleo de levofloxacino resulta inadecuado en estos casos, ya que *Leptotrichia trevisanii* muestra resistencia *in vitro* a fluorquinolonas^{2,6}. Schrimsher et al. describieron 3 casos clínicos en los que levofloxacino se implantó como tratamiento empírico en neutropenia febril, lo que no evitó el desarrollo de una bacteriemia por *Leptotrichia*⁸. Por ello, es importante que en pacientes con neutropenia febril y mucositis, más proclives a infecciones por microorganismos anaerobios, sean tratados con antimicrobianos anaerobios^{7,8}.

Bibliografía

1. Tee W, Midolo P, Janssen P, Kerr T, Dyal-Smith M. Bacteremia due to *Leptotrichia trevisanii* sp. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2001;20:765–9.
2. Higurashi Y, Tatsuno K, Fujimoto F, Kobayashi I, Ida K, Seto Y, et al. Two cases of bacteremia caused by *Leptotrichia trevisanii* in patients with febrile neutropenia. J Infect Chemother. 2013;19:1181–4.
3. Martín-Gutiérrez G, Rodríguez N, Lepe JA, Parody R, Torres MJ, Aznar J. Rapid identification of a *Leptotrichia trevisanii* catheter-related bloodstream infection using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. JMM Case Rep. 2015; <http://dx.doi.org/10.1099/jmmcr.0.000036>.

4. Eribe ERK, Olsen I. *Leptotrichia* species in human infections. Anaerobe. 2008;14:131–7.
5. Schmitt BH, Cunningham SA, Dailey AL, Gustafson DR, Patel RJ. Identification of anaerobic bacteria by Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry with on-plate formic acid preparation. J Clin Microbiol. 2013;51:782–6.
6. Cooreman S, Schuermans C, van Schaeren J, Olive N, Wauters G, Verhaegen J, et al. Bacteraemia caused by *Leptotrichia trevisanii* in a neutropenic patient. Anaerobe. 2011;17:1–3.
7. Couturier MR, Slechts ES, Goulston C, Fisher MA, Hanson KE. *Leptotrichia bacteriemia* in patients receiving high-dose chemotherapy. J Clin Microbiol. 2012;50:1228–32.
8. Schrimsher JM, McGuirk JP, Hinthorn D. *Leptotrichia trevisanii* sepsis after bone marrow transplantation. Emerg Infect Dis. 2013;19:1690–1.

Christian Sabater Cabrera^{a,*}, Ana Fernández Blázquez^a
y Enrique García Carús^b

^a Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Asturias, España

^b Servicio Medicina Interna, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Asturias, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: christiansabaterpes@gmail.com
(C. Sabater Cabrera).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.09.010>
0213-005X/

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Actividad de infusiones de *Artemisia annua* sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*



Activity of *Artemisia annua* infusions on epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*

La enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)¹. Actualmente el tratamiento contra la infección por *T. cruzi* está restringido a 2 fármacos de limitada efectividad y alta toxicidad: benznidazol y nifurtimox². Por lo tanto, es necesario encontrar nuevas herramientas terapéuticas. El uso de productos naturales como *Artemisia annua* (*A. annua*) representa una novedosa elección, su compuesto activo es la artemisinina, una lactona sesquiterpenoide que atraviesa las membranas biológicas³. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la infusión de *A. annua* sobre epimastigotes de *T. cruzi*.

Se utilizaron epimastigotes de *T. cruzi* (aislados: RHO/Ve/03/RG1 y CHHP). Para la preparación de las infusiones se utilizaron hojas

secas y trituradas de *A. annua* de 2 orígenes distintos: de plantas cultivadas en Cumaná (Venezuela) y en Luxemburgo. Las infusiones se prepararon a concentraciones de 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0 y 3,0 m/v de hojas secas de *A. annua* en el medio de cultivo *Liver Infusion Tryptose* (LIT)⁴. Los experimentos se realizaron ajustando los cultivos a una densidad celular de 2×10^6 parásitos/ml, en las diferentes concentraciones descritas previamente de la infusión de *A. annua*. Los ensayos se realizaron por triplicado y se incluyó un cultivo control. La viabilidad celular de los epimastigotes de *T. cruzi*, se determinó por el método de exclusión del colorante azul de tripano⁵. Para determinar el efecto de la concentración de la infusión de *A. annua* sobre el crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi*, se aplicó un análisis de varianza multifactorial.

Las infusiones de *A. annua* provenientes de Cumaná y Luxemburgo tuvieron, en todas las concentraciones ensayadas, un efecto antiproliferativo dosis-dependiente sobre ambos aislados de *T. cruzi* estudiados, con respecto al cultivo control. Al final del

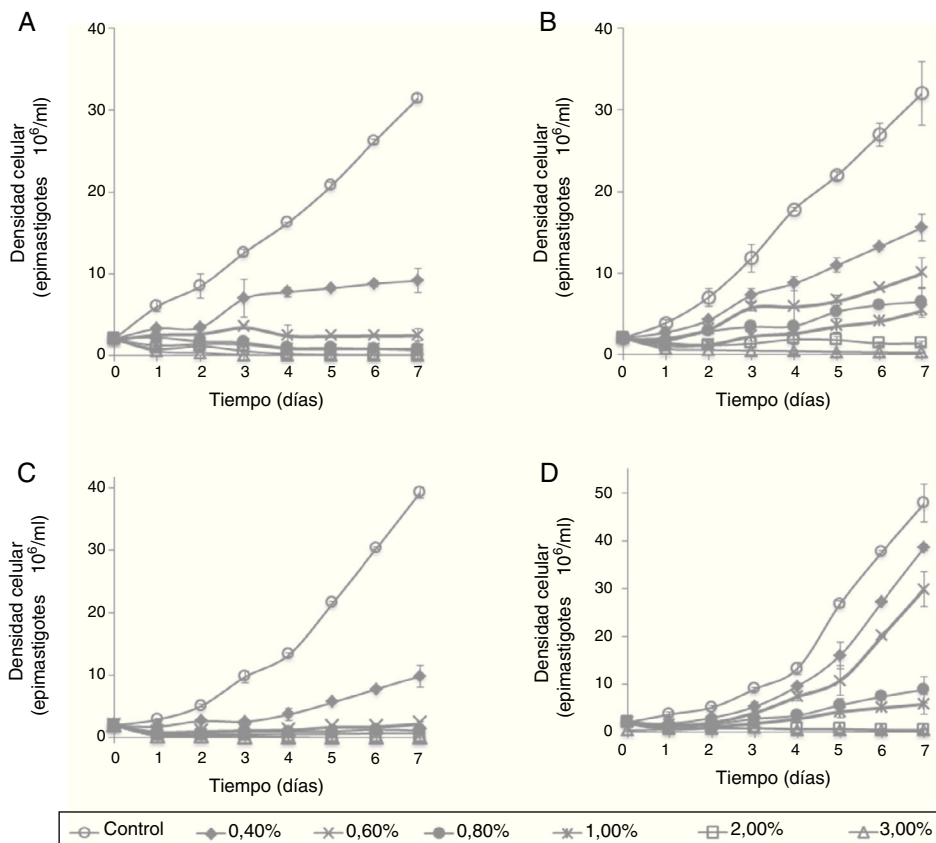


Figura 1. Actividad de la infusión de *Artemisia annua* sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*: A) Tratamiento de planta cultivada en Luxemburgo sobre aislado CHHP. B) Tratamiento de planta cultivada en Cumaná, Venezuela sobre aislado CHHP. C) Tratamiento de planta cultivada en Luxemburgo sobre aislado RG1. D) Tratamiento de planta cultivada en Cumaná, Venezuela sobre aislado RG1.

tratamiento (7.º día) se constató que las concentraciones que produjeron una mayor inhibición del crecimiento fueron 2 y 3%, de igual forma se observó que las infusiones de *A. annua* proveniente de Luxemburgo tuvieron un efecto más potente en la inhibición de los parásitos, en comparación con las infusiones de plantas cultivadas en Cumaná, Venezuela (fig. 1). Este hecho se confirmó al evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) en los distintos experimentos, encontrándose que la CMI del tratamiento Luxemburgo-RG1 fue 2,6 veces menor que la del tratamiento Cumaná-RG1; mientras que la CMI del tratamiento Luxemburgo-CHHP fue 2 veces menor que la del tratamiento Cumaná-CHHP. El análisis de varianza multifactorial reveló que el efecto de las infusiones sobre la densidad celular de los epimastigotes de *T. cruzi*, fue ejercido de manera altamente significativa ($p < 0,001$) dependiendo del tipo de infusión, la concentración y el tiempo de exposición a las mismas, y no significativo para los distintos aislados evaluados. En cuanto al tiempo de incubación de los cultivos en la infusión de *A. annua*, se encontraron diferencias significativas entre los días 0, 1, 2, 3 y 5 con respecto al día 7, lo cual indica que los primeros días del tratamiento son claves en la inhibición activa de los epimastigotes de *T. cruzi*. Durante el curso del tratamiento, los epimastigotes perdieron gradualmente su movilidad, cambiaron su morfología típica fusiforme a una forma alargada y delgada o redondeada, sin flagelo.

Este es el primer estudio que demuestra el efecto antiproliferativo de infusiones de *A. annua* sobre aislados venezolanos de *T. cruzi*. Otros autores han ensayado los efectos antiproliferativos de la artemisinina purificada sobre *T. cruzi* y *T. brucei rhodesiense*⁶. El mayor efecto antiproliferativo que ejerció la infusión preparada con la planta proveniente de Luxemburgo, pudo deberse a la

distinta producción de compuestos activos y aceites esenciales de ambas plantas, la cual varía dependiendo del origen geográfico de la planta y de la temperatura⁷. Elevadas temperaturas ambientales, como es el caso de Cumaná, Venezuela, producen una disminución en las concentraciones de artemisinina⁸. Asimismo, el hecho que las infusiones de *A. annua* ejercieron su efecto antiproliferativo durante los 7 días de tratamiento sugiere que los demás compuestos presentes en la infusión pudieron actuar sinérgicamente como una politerapia para ejercer su acción antiproliferativa⁹.

Los resultados obtenidos en este trabajo abren nuevas perspectivas de investigación sobre la acción tripanocida de *A. annua* sobre *T. cruzi*, y ofrecen una alternativa terapéutica a estudiar para el tratamiento de la infección por este parásito.

Bibliografía

1. World Health Organization. Expert Committee on the Control of Chagas Disease; 2002 [consultado 14 Abr 2013] Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/42443?locale=es>
2. Cancado JR. Criteria of Chagas disease cure. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;1:331–5.
3. Luo X, Shen C. The chemistry, pharmacology, and clinical application of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives. Med Res Rev. 1987;7:29–52.
4. Berrizbietia M, Ndao M, Gottschalk M, Aché A, Vázquez F, Lacouture S, et al. Development and comparison of enzyme immunoassays for diagnosis of Chagas' disease using fixed forms of *Trypanosoma cruzi* (Epimastigotes, Amastigotes, and Trypomastigotes) and assessment of antigen stability for the three assays. J Clin Microbiol. 2004;42:1766–9.
5. Kucsera J, Yaritha K, Takeo K. Simple detection method for distinguishing dead and living yeast colonies. J Microbiol Methods. 2000;41:19–21.
6. Mishina YV, Krishna S, Haynes RK, Meade JC. Artemisinins inhibit *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* in vitro growth. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:1852–4.

7. Engeu P, Omuja F, Agwaya M, Kyakulaga H, Obua C. Variations in antimalarial components of *Artemisia annua* Linn from three regions of Uganda. *African Health Sciences*. 2015;15:828–34.
8. Ferreira JF, Simon JE, Janick J. Developmental studies of *Artemisia annua*: Flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions. *Planta Med*. 1995;61:167–70.
9. Liu KC, Yang SL, Roberts MF, Elford BC, Phillipson JD. Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. *Plant Cell Rep*. 1992;11:637–40.

Mariolga Berrizbeitia de Morgado ^{a,b,*},
Yusmaris Cariaco Sifontes ^c, José Imery Buiza ^d y Pierre Lutgen ^e

^a *Biología Aplicada, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela*

^b *Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, Universidad de Oriente, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela*

^c *Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela*

^d *Departamento de Biología, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela*

^e *IFBV-BELHERB, Niederaanven, Luxemburgo*

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mberriz@yahoo.com

(M. Berrizbeitia de Morgado).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.09.011>

0213-005X/

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.