El agua como vehículo de microorganismos patógenos. Bacteria *Escherichia coli*

Water as a vehicle of pathogenic microorganisms. Bacteria Escherichia coli

GLADYS ROCÍO GONZÁLEZ LEAL

Bióloga de la Pontificia Universidad Javeriana, especialista en Microbiología de la Universidad de los Andes, coordinadora del Laboratorio de Ingeniería Ambiental y profesora asistente de la Escuela Colombiana de Ingeniería.

Recibido: 15/03/2011 Aceptado: 25/03/2011 Disponible en http://www.escuelaing.edu.co/revista.htm

Resumen

El agua es catalogada como uno de los principales vehículos de transmisión de enfermedades; la mayoría de los patógenos intestinales se transmiten por esta vía, habitan el tracto gastrointestinal del ser humano y son eliminados posteriormente en las hacas.

En este artículo se muestran las enfermedades de origen hídrico más recurrentes con sus respectivos agentes causantes, se definen microorganismos emergentes, microorganismos oportunistas, grupo coliforme como grupo indicador de contaminación, se presenta la Escherichia coli como la bacteria de origen fecal de mayor impacto en salud pública y algunos factores que influyen en la persistencia de los microorganismos en el agua.

Palabras claves: microorganismos del agua, impacto en salud pública, patógeno, coliformes totales, coliformes fecales, Escherichia cell, persistencia de los microorganismos.

Abstract

Water is one of the most important vehicles of diseases transmission; the intestinal pathogens are transmitted in this way. They live in humans' gastrointestinal track; and later they are eliminated in the feces.

This paper shows the main waterborne diseases and their causing agents, and defines emergent microorganisms, opportunistic microorganisms, and the colliform group, which indicates contamination. The paper also shows that Escherichia coll is a bacteria of feeal origin that impacts public health and some factors that influence the persistence of microorganisms in water.

Keywords: microorganisms in water, public health impact, pathogen, total coliforms, fecal coliforms, Escherichia coli, persistence of microorganisms.

INTRODUCCIÓN

En el mundo, el creciente aumento de las poblaciones ha hecho que la demanda del agua sea cada vez mayor, no solo para consumo humano sino para uso recreacional, agrícola, industrial y para la generación de energía. El vertimiento de aguas residuales domésticas, industriales y agrícolas a otros cuerpos de agua crea problemas serios de contaminación tanto química como microbiológica; el rápido crecimiento de los microorganismos, su fácil adaptabilidad a condiciones ambientales adversas y su gran diversidad permiten que organismos patógenos encuentren un hábitat ideal en el agua e ingresen al ser humano, teniendo así un gran impacto en salud pública.

El agua, sin lugar a dudas, es un medio que posee las condiciones que permiten el crecimiento de organismos de cualquier tipo, ya sean bacterias, protozoos, algas, hongos, virus, plantas y animales; las características físicas y químicas del agua definen el tipo de microorganismos que la habitan, de acuerdo con los requerimientos nutricionales de éstos y con su capacidad de adaptación.

Las enfermedades de origen hídrico pueden ser causadas por cualquiera de los grupos mencionados; su incidencia es alta, especialmente en los países en desarrollo.

Según informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades diarreicas matan a 1,5 millones de niños cada año; en Estados Unidos, la US Environmental Protection Agency (Usepa) y el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) son las entidades encargadas de monitorear y mantener programas de vigilancia epidemiológica. Un análisis de los patrones de morbilidad y mortalidad por enfermedades intestinales debido al consumo de agua contaminada sugirió más de 230.000 casos de enfermedades y alrededor de 50 muertes al año⁽¹⁾.

En Colombia, la enfermedad diarreica aguda (EDA) es una de las principales causas de muerte en niños menores de cinco años, y aunque las muertes han disminuido, la morbilidad ha aumentado notablemente; enfermedades como el cólera, fiebre tifoidea, amibiasis y hepatitis transmitidas por agua contaminada son causantes de morbilidad y mortalidad no sólo en niños sino en ancianos, mujeres embarazadas y personas inmunocomprometidas^{(2), (3), (4)}.

Por lo anterior, se requiere implementar sistemas de saneamiento básico adecuados; descontaminar los recursos hídricos por medio de la construcción de plantas de purificación y tratamiento de aguas residuales más eficientes, monitorear sistemas de distribución, aplicar técnicas de detección de organismos indicadores de contaminación, hacer estudios epidemiológicos que conduzcan a encontrar soluciones, y lograr el mejoramiento y la implementación de nuevas técnicas de tratamiento en las plantas purificadoras de agua para reducir ampliamente el riesgo de contraer enfermedades por consumo de agua contaminada.

PATOGENICIDAD

La patogenicidad se define como la capacidad de un microorganismo de producir enfermedad, capacidad que se relaciona con la cantidad del agente necesaria para infectar al huésped; de allí se deriva el término MID o mínima dosis infectiva (mínima cantidad de patógeno que entra al huésped para producirle enfermedad)⁽⁵⁾. La MID varía según el tipo de patógeno, las condiciones ambientales y las condiciones inmunológicas del huésped; a continuación se presenta la MID de algunos organismos patógenos (tabla 1)^(6,7, 1).

Tabla 1
Mínima dosis infectiva de algunos organismos patógenos transmitidos por el agua

Microorganismo	Mínima dosis infectiva (MID)
Escherichia coli	10 ⁶ a 10 ⁸ células
Salmonella	10⁴ a 10 ⁷ células
Vibrio cholerae	10 ⁸ a 10 ⁹ células
Cryptosporidium	30 ooquistes
Entamoeba histolytica	10 ¹ quistes
Helmintos	1 a 10 huevos
Virus	1 a 10 UFP

MICROORGANISMOS EMERGENTES

En los últimos 20 años, los cambios ambientales drásticos, el incremento exagerado de las poblaciones, el desplazamiento de personas a lugares que anteriormente no habían sido habitados, el aumento de la pobreza,

el transporte de animales y alimentos contaminados, el incumplimiento de las medidas sanitarias y los programas inadecuados de vacunación, entre otros; a esto se añade la gran diversidad de microorganismos y las mutaciones sufridas por éstos que les permiten ser más resistentes, lo que ha traído como consecuencia el surgimiento de enfermedades llamadas emergentes.

Una enfermedad emergente es aquella cuya incidencia ha aumentado en las últimas décadas y cuyas tasas de mortalidad y morbilidad son cada vez mayores, creando elevados costos, de gran impacto en salud pública⁽⁸⁾.

Los microorganismos emergentes son organismos que ya existían pero que aumentaron su incidencia y habitan lugares geográficos en los que antes no se encontraban; son organismos oportunistas y flexibles biológicamente debido a su capacidad de adaptación. Entre estos microorganismos encontramos bacterias, protozoos, hongos, helmintos y virus; muchos de éstos, especialmente los virus, se han logrado identificar por nuevas tecnologías, gracias a lo cual se ha podido conocer que el número de enfermedades transmitidas por vía hídrica se ha incrementado considerablemente⁽⁹⁾.

MICROORGANISMOS OPORTUNISTAS

Un microorganismo oportunista es aquel que produce enfermedad a las personas más susceptibles de ser colonizadas por microorganismos, como los recién nacidos, los ancianos y los enfermos.

Estos microorganismos se pueden encontrar en el ambiente o en el ser humano, formando parte de su microflora intestinal sin producir enfermedad; pero cuando el huésped presenta alteraciones en sus mecanismos de defensa estos organismos atacan, ocasionando graves enfermedades y en muchas ocasiones la muerte. Entre los organismos oportunistas están las bacterias, los virus, los protozoos, los helmintos y los hongos.

ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR AGENTES PATÓGENOS PRESENTES EN EL AGUA

Los principales grupos de organismos productores de enfermedad en el ser humano son bacterias, virus, protozoos y helmintos. De acuerdo con el organismo productor, se dividen en:

1. Enfermedades de etiología bacterial. A renglón seguido se presentan las enfermedades de origen bacterial de mayor incidencia y su agente causal (tabla 2).

Tabla 2 Enfermedades de etiología bacterial

Enfermedad	Bacteria patógena
Fiebre tifoidea	Salmonella typhi
Fiebre paratifoidea	Salmonella paratyphi
Cólera	Vibrio cholerae
Disentería bacilar	Shigella
Gastroenteritis	Klebsiella
Gastroenteritis	Yersinia enterocolítica
Gastroenteritis	Escherichia coli enteropatogénica
Legionellosis	Legionella pneumophila
Leptospirosis (enfermedad de Weil)	Leptospira
Infecciones oculares, otitis, osteomielitis, diarrea	Pseudomonas
Gastritis y úlceras	Helicobacter pylori

2. Enfermedades de etiología protozoaria. A continuación se registran las enfermedades de mayor incidencia causadas por protozoos (tabla 3)^(10,11).

Tabla 3 Enfermedades de etiología protozoaria

Enfermedad	Protozoo patógeno
Disentería	Balantidium coli
Amikiasis	Entamoeba histolytica
Giardiasis	Giardia lamblia
Encefalitis granulomatosa amébica	Acanthamecka
Toxoplasmosis	Toxoplasma gondii
Meningoencefalitis amébica primaria (PAM)	Naegleria fowleri
Cryptasparidiasis	Cryptosporidium parvum

 Enformedados de etiología belmintica. Seguidamente se presentan algunas enfermedades causadas por helmintos (tabla 4)^(†).

Tabla 4 Enfermedades de etiología helmíntica

Enfermedad	Helminto patógeno
Ascariasis (obstrucción intestinal)	Ascaris lumbricoides
Trichuriasis (intestino)	Trichuris trichiura
Cisticercosis (intestino y sistema nervioso central)	Taenia solium
Teniasis (tracto gastrointestinal)	Taenia saginata

4. Enfermedades de etiología viral. En seguida se presentan algunas enfermedades causadas por virus (tabla 5)⁽¹²⁾.

Tabla 5 Enfermedades de etiología viral

Enfermedad (afecciones)	Virus
Poliomielitis (parálisis flácida)	Poliovirus
Miocarditis, meningitis, tracto respiratorio	Coxsackievirus
Gastroenteritis, meningitis, infecciones	
respiratorias, miocarditis	Echovirus
Meningitis, infecciones respiratorias	Enterovirus
Gastroenteritis infantil, tracto respiratorio,	
neumonía, faringitis, bronquitis, otitis,	
conjuntivitis, resfriado común	Adenovirus
Gastroenteritis	Astrovirus
Gastroenteritis infantil aguda	Rotavirus
Gastroenteritis	Calicivirus (Norwalk
Hepatitis infecciosa	Hepatitis A

5. Enfermedades de etiología fúngica. Debido a que la incidencia de enfermedades graves por hongos es muy baja, es poco o casi nulo lo que se menciona respecto a hongos patógenos de origen hídrico⁽⁷⁾.

Alrededor de 50 especies de hongos son capaces de producir enfermedad en el hombre, la mayoría son oportunistas que afectan a personas inmunocomprometidas. Éstos pueden ocasionar alergias, envenenamiento por micotoxinas o micosis (infección por la multiplicación de un hongo dentro del cuerpo o sobre éste). Su distribución es cosmopolita, se transmiten por contacto con superficies contaminadas, como baños y suelos húmedos y por esporas esparcidas en el aire.

En un estudio realizado por investigadores de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA (Universidad de Buenos Aires), se encontró la presencia de hongos filamentosos en muestras de aguas minerales embotelladas de diferentes marcas; algunos de estos hongos podrían ser potenciales productores de toxinas, pero lo que no se conoce aún es si podrían producirlas dentro de la botella, afectando la salud del ser humano⁽¹³⁾.

Se cree que las esporas llegan al agua en el momento del embotellamiento y que éstas se desarrollan debido a los nutrientes presentes en el agua; adicionalmente, los tratamientos con cloro y ozono no afectan las esporas⁽¹⁴⁾.

Es importante destacar que la contaminación fúngica no se toma en cuenta en muchas de las normas de calidad microbiológica del agua, lo cual es preocupante debido a que en el estudio mencionado se encontró la presencia de hongos en aguas con ausencia total de bacterias.

GRUPO COLIFORME

El Servicio de Salud Pública de Estados Unidos⁽⁶⁾ postuló en 1914 al grupo *Coliforme* como grupo bacteriano por excelencia, indicador de contaminación fecal.

Éste se define como un grupo de bacterias en forma de bacilo, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, gram negativas, aerobias y anaerobias facultativas, que no forman esporas, con capacidad de fermentar la lactosa y otros azúcares, con producción de ácido y de gas a una temperatura entre 35 y 37 °C durante un periodo de 24 a 48 horas.

Entre las principales características de este grupo está su resistencia a condiciones ambientales adversas, la cual es igual o superior a la de los patógenos; además se comportan de manera similar a éstos, se encuentran también en el intestino de animales de sangre caliente, siendo esto un buen indicador de polución animal⁽⁷⁾. Adicionalmente, los coliformes se pueden encontrar en el suelo, viviendo como saprofitos independientes; en esta forma, para separar los géneros de origen fecal de los saprofitos independientes, se les dio el nombre a los primeros de *coliformes fecales* y a los segundos de *coliformes totales*.

- 1. Los *coliformes totales* son poco prácticos como indicadores de contaminación fecal, su uso se ha limitado a evaluar la calidad de agua de consumo humano; es útil su determinación en cuanto nos informan o nos advierten de la existencia de contaminación, pero sin identificar su origen; además, permiten evaluar si se presentaron fallas en las etapas del proceso de purificación del agua en la planta o fallas en las redes de distribución, y de esa manera alertar a las entidades encargadas de la vigilancia del recurso hídrico.
- Los coliformes fecales son el grupo indicador fecal por excelencia debido a que reflejan con mayor exactitud la contaminación de este tipo en un cuerpo de agua.

Las bacterias pertenecientes a este grupo tienen una característica adicional, que es su capacidad de producir gas o formar colonias a una temperatura de incubación de 44,5 +/- 0,2 °C⁽¹⁵⁾; se pueden reproducir fuera del intestino en las redes de distribución, formando biopelículas, o en cuerpos de agua donde hay condiciones favorables de pH, contenido de materia orgánica, humedad, entre otros; algunos son típicos de aguas con residuos vegetales⁽⁸⁾. Su determinación es muy útil en aguas superficiales y en la evaluación de la eficiencia de plantas de tratamiento de agua residual.

GÉNEROS DEL GRUPO COLIFORME

Los géneros pertenecientes al grupo Coliforme son Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter y Escherichia.

- Klebsiella. Bacteria de origen fecal que forma biopelículas en tanques de almacenamiento y redes de distribución.
- Enterobacter. No siempre se encuentra asociado al intestino, es oportunista y afecta especialmente el tracto urinario y el respiratorio; se encuentra en el suclo, en el agua y en el aparato digestivo.
- Citrobacter. Se halla en el suelo, comida, agua, y en el tracto intestinal de humanos y animales.

Bacteria Escherichia coli

Es la bacteria más representativa de los coliformes fecales. Miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, se encuentra en gran cantidad en heces humanas y animales,

es gram negativa de forma bacilar, aeróbica y anaeróbica facultativa, con un tamaño aproximado de 0,5 a 2 micras; es indicadora de contaminación con materia fecal y de la presencia de patógenos en el agua.

Por su rápido crecimiento, sus requerimientos nutricionales simples y su constitución bioquímica, se ha usado en ingeniería genética; de allí que es considerada una de las bacterias líderes de la biotecnología actual.

La Escherichia coli posee muchas cepas, aunque la mayoría son relativamente inocuas pero pueden causar infecciones oportunistas; por otro lado, las especies patógenas están involucradas en infecciones urinarias y gastrointestinales que pueden ocasionar la muerte⁽¹⁾.

Las especies patógenas han sido clasificadas en seis grupos, a saber:

Escherichia coli enteropatogénica (Epec), Escherichia coli enterotoxigénica (Etec), Escherichia coli enterote-morrágica (Ehec), Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC), Escherichia coli enteroagregativa (EAggEC) y Escherichia coli adherente difusa (Daec)⁽¹⁾.

La *E.coli* enteropatogénica produce diarreas pasajeras, asociadas a infantes con alto índice de mortalidad; la *E.coli* enterotoxigénica ocasiona diarreas severas, con vómito, náuseas y cólicos debido a las toxinas que posee; la *E.coli* enterohemorrágica produce diarreas con sangrado; la *E.coli* enteroinvasiva causa diarreas similares a las producidas por *Shigella*; en cuanto a la *E.coli* enteroagregativa, se tiene muy poco conocimiento de la forma de transmisión⁽¹⁶⁾.

El hombre es el principal reservorio de las especies patógenas de *E.voli*, excepto de la Ehec, cuyo principal reservorio es el ganado bovino. La ruta principal de transmisión es la oral-fecal, por consumo de comida y agua contaminadas. La contaminación de agua recreacional y de agua potable con agua residual ha sido una de las principales causas de epidemias⁽¹⁷⁾.

Se han reportado inmumerables brotes de enfermedades gastrointestinales por *Escherichia celi* en personas muy jóvenes o muy viejas; una de las más importantes epidemias por *E.æli* ocurrió en Oregón en 1975, donde alrededor de 2000 personas sufrieron trastornos gastrointestinales; la principal causante fue la Etec aislada de agua contaminada⁽¹⁾.

En Colombia, la epidemiología de *E. soli* está estrechamente relacionada con la enfermedad diarreica aguda (EDA). La *E.coli* enterohemorrágica O157:H7 tiene gran relación con enfermedades transmitidas por el agua. En el mes de mayo de 2011 se reportaron casos de morbilidad y mortalidad por síndrome urémico hemolítico (SUH), atribuido a la bacteria *Escherichia coli* enterohemorrágica, la cual fue hallada en semillas germinadas procedentes de una granja ecológica en Alemania, lo que generó gran impacto en la salud pública^(17,18).

Según estudios realizados por científicos alemanes cuya publicación aparece en The Lancet Infectious Diseases en el mes de junio, la E. coli que está ocasionando la muerte de muchas personas es una combinación de dos variantes que forman la nueva cepa 0104:H4. Esta variante es producto de la unión de E.coli enterohemorrágica con E.coli enteroagregativa, lo cual la hace mucho más agresiva por la toxina Shiga aportada por la E.coli enterohemorrágica y la capacidad de la E.coli enteroagregativa de adherirse fuertemente al intestino; además, esta cepa es resistente a algunos antibióticos. La muerte de los individuos es ocasionada por el SHU (síndrome urémico hemolítico) debido a insuficiencia renal, anemia hemolítica, alteraciones del corazón, sistema nervioso central y trombocitopenia todos unidos(19).

PERSISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AGUA

Los microorganismos responden de manera diferente a las condiciones ambientales a las cuales están expuestos. Un factor ambiental determinado puede ser un limitante para el crecimiento de un microorganismo o un beneficio para el crecimiento de otro. Así, la persistencia de un microorganismo en el agua depende de factores tales como:

1. Tipo de microorganismo. Los microorganismos poseen estructuras protectoras que les permiten tolerar cambios ambientales drásticos, sustancias tóxicas, desinfectantes y antibióticos, entre otros. Los protozoarios son organismos muy resistentes por su capacidad de enquistamiento; las bacterias poseen esporas, las cuales son formas de perdurabilidad frente a sustancias químicas, desecación o radiación; anteriormente se creía que los virus no persistían mucho tiempo en el ambiente fuera de las células hospederas, pero en varios estudios se ha demostrado que todos los grupos de microorganismos pa-

- san por cambios generacionales en muy corto tiempo, desarrollando así una capacidad de resistencia muy grande⁽²⁰⁾.
- 2. Características físicas y químicas del agua. Entre los factores ambientales que afectan o favorecen el crecimiento y la viabilidad microbiana en el agua están la temperatura, la luz, la turbiedad, el pH, la disponibilidad de oxígeno, la salinidad, la materia orgánica disuelta y la presencia de sustancias tóxicas. Estos factores influyen en la composición y el tamaño de las poblaciones, en la morfología, fisiología, metabolismo y reproducción de cada organismo en particular, y hacen que la persistencia o supervivencia de los microorganismos en los cuerpos de agua sea muy variable.
- 3. Características biológicas. La interacción entre los diversos microorganismos que componen una comunidad biológica tiene un efecto tal que puede favorecer el crecimiento de unos microorganismos e inhibir el desarrollo de otros, así como también los productos metabólicos, la competencia y la depredación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. AWWA (1999). *Waterborne Pathogens*. Manual M48 (1.ª ed.). Denver: American Water Works Association.
- 2. Cáceres, D.C., Estrada, E., De Antonio, R. & Peláez, D. (2005). La enfermedad diarreica aguda: un reto para la salud pública en Colombia. *Panamericana de Salud Pública*, 17, 1.6-14.
- 3. Pan American Journal of Public Health (2006, enero). Panamericana de Salud Pública, 10, 54-55.
- 4. AWWA (2006). *Manual M48: Waterborne Pathogens* (2.ª ed.). American Water Works Association.
- 5. Abello, Polo V., Hernández, J.I., Medina, O.A., Pacheco, J.O. & Río, D.I. (2002). Detección de *Legionella pneumophila* como agente etiológico de neumonía grave adquirida en la comunidad. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 11, 3.
- 6. Bitton, G. (1994). Wastewater Microbiology. New York: Wiley-Liss.
- 7. Madigan, M.T., Martinko, J.M. & Parker, J. (1999). *Brock Biología de los Microorganismos* (8.ª ed.). Madrid: Prentice Hall.
- 8. Delgado, C. & Garrido, S. (2003). Agua potable para comunidades rurales, reúso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. "Indicadores de contaminación fecal en aguas", cap. 20. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del agua. Ciencia y tecnología para el desarrollo (Ripda-Cyted).
- 9. Weng Alemán, Z. & Suárez Pita, M.T. (2011). Enfermedades emergentes y reemergentes: factores causales e impacto social. *Revista de Ciencias Médicas de La Habana*, 17 (1).
- 10. Jorge M. G.G., Fabiana, L., Luz H. H., Shirley M. & Jorge E. G.M. (2005). Prevalencia de giardiasis y parásitos intestinales en preescolares de hogares atendidos en un programa estatal en Armenia, Colombia. *Salud Pública*, 783, 327-338.

- 11. Solarte, Y., Peña, M. & Madera, C. (2006, enero marzo). Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica*, 37, 1.
- 12. Gutiérrez, M.F., Urbina, D. & cols. (2005). Comportamiento de la diarrea causada por virus y bacterias en regiones cercanas a la zona ecuatorial. *Colombia Médica*, 36, 4.
- 13. Di Marzio, W.D., Sáenz, M.E., Tortorelli, M.C. & Alberdi, J.L. (1999). Bulking filamentoso en seis sistemas depurativos por lodos activados de la Provincia de Buenos Aires. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Aidis, 46, 82 86.
- 14. Gallardo, S. (2001, octubre). Aguas envasadas. Disponible en http://web.fcen.uba.ar/prensa/noticias/2001/noticias_2oct_2001 htm
- 15. Metcalf & Eddy (1996). *Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización* (3.ª ed.), t. I. Estados Unidos: McGraw Hill.
- 16. Rodríguez-Ángeles, Guadalupe (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública*, 44, 5, 464-475.

- 17. Gómez, D. et ál. (2005). Aislamiento de *Escherichia coli* productor de toxina *Shiga* durante un brote de gastroenteritis en un jardín maternal de la ciudad de Mar del Plata. *Rev. Argent. Microbiol.*, 37, 4, 176-183.
- 18. Rivero, Mariana A., Padola, Nora L., Echeverría, Analía I. & Parma, Alberto E. (2004). *Escherichia coli* enterohemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Argentina. *Medicina* (B. Aires), 64, 4, 352-356.
- 19. Bielaszewska, Martina, Mellmann, Alexander, Zhang, Wenlan, Kock, Robin, Fruth, Angelika, Bauwens, Andreas, Peters, Georg & Karch, Helge (2011). Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany: a microbiological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 23 June DOI: 10.1016/S1473-3099(11) 70165-7.
- 20. Llambias Wolff, Jaime (2003). Los desafíos inconclusos de la salud y las reflexiones para el futuro en un mundo globalizado. *Rev. Cubana Salud Pública*, 29, 3, 236-245.