

ARTÍCULO ORIGINAL/ARTIGO ORIGINAL

# Distribución de serotipos y sensibilidad a los antimicrobianos de *Streptococcus pneumoniae* aislados en infecciones no invasivas de niños menores a seis años de la ciudad de Córdoba, Argentina

Serotype distribution and susceptibility to *Streptococcus pneumoniae* antimicrobial agents isolated from non-invasive infections in children under the age of 6 in the city of Cordoba, Argentina

Fabiana Berruezo<sup>1</sup>; Marina Bottiglieri<sup>2</sup>;  
Rubén Comisso<sup>3</sup>; Darío Tosoroni<sup>4</sup>; Silvia  
Yudowski<sup>1</sup>; Cristian Amieva<sup>1</sup>; José M. Casellas<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Bioquímica y Especialista en Bacteriología Clínica. Laboratorio de Microbiología. Clínica Universitaria Privada Reina Fabiola, Oncativo 1248 (5000), Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup> Doctora en Medicina y Médica Especialista en Microbiología Clínica. Laboratorio de Microbiología. Clínica Universitaria Privada Reina Fabiola, Oncativo 1248 (5000), Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup> Médico Cirujano y Especialista en Otorrinolaringología. Servicio de ORL, Clínica Universitaria Privada Reina Fabiola, Oncativo 1248 (5000), Córdoba, Argentina.

<sup>4</sup> Médico Epidemiólogo del Servicio de Microbiología de la Clínica Privada Reina Fabiola, Córdoba, Argentina.

<sup>5</sup> Coordinador de Microbiología Lab CIBIC, Pte Roca 740 CP: 2000, Rosario (SF); Lab CEB San Isidro, Acassuso 1069 (BA), Argentina.

Rev Panam Infectol 2009;11(4):33-37.

Conflicto de intereses: ninguno

Recibido en 14/8/2009.

Aceptado para publicación en 6/10/2009.

## Resumen

**Objetivos:** Las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* producen una morbi-mortalidad elevada. Existen más de 90 serotipos de esta bacteria con distinta distribución geográfica lo que dificulta el desarrollo de una vacuna de aplicación universal. Los objetivos fueron conocer la sensibilidad de *S. pneumoniae* frente a los antimicrobianos y determinar la prevalencia de los distintos serotipos causales de infecciones neumocócicas no invasoras en pacientes de la ciudad de Córdoba, Argentina. **Materiales y métodos:** Se determinó la prevalencia de los serotipos aislados de infecciones no invasoras en niños menores de 6 años y la sensibilidad a antibacterianos de los mismos. Durante el periodo 2005 - 2008 se estudiaron 60 aislamientos provenientes de cultivos de otitis media aguda (n=44), sinusitis maxilares (n=8) y conjuntivitis (n=8). **Resultados:** Se identificaron 17 serotipos y 6 fueron no tipificables (NT). El serotipo predominante fue el 19F (18,3 %), seguido de 19A y 6A (13,3 %); 6B y NT (10%); 22F (6,7%); 23F y 3 (5 %); y 23B (3%). Los porcentajes de resistencia observados fueron: trimetoprima-sulfametoxazol 33,3 %, eritromicina 33,3%, clindamicina 20 % y tetraciclina 10 %. No hubo resistentes a penicilina, vancomicina, rifampicina ni levofloxacina. **Conclusiones:** Se requieren nuevos estudios y un mayor número de aislamientos para realizar un análisis adecuado de la cobertura de las infecciones no invasivas en pediatría en nuestra región, aunque parece evidente la eficacia in vitro de las aminopenicilinas.

**Palabras clave:** *Streptococcus pneumoniae*, serotipos, infecciones no invasoras.

## Abstract

**Introduction and objectives:** *S. pneumoniae* infections cause a high rate of morbi-mortality. More than 90 pneumococci serotypes have

been recognized with a different geographical distribution, making difficult the development of a global vaccine. The objective was to identify the susceptibility of *S. pneumoniae* to antimicrobial agents and to determine the prevalence of the different serotypes that cause non-invasive pneumococcal infections in our area. **Materials and methods:** The prevalence of pneumococci serotypes isolated from non-invasive infections and their antibiotic susceptibility was determined in children aged less than 6 years old. During the 2005-2008 period, 60 isolates recovered from acute middle otitis (n=44), maxillary sinusitis (n=8) and conjunctivitis secretions (n=8) were studied. **Results:** Seventeen serotypes were indentified and six of them were non-typable (NT). The prevalent serotype was 19F (18.3%) followed by 19A and 6A (13.3%); 6B and NT (10%); 22F (6.7%); 23F and 3 (5%); and 23B (3%). The observed rates of resistance were: trimethoprim-sulphamethoxazol, 33.3%; erythromycin, 33.3%; clindamycin 20% and tetracycline, 10%. We did not found isolates resistant to penicillin considering the CLSI break point for non meningial infections as well as for, vancomycin, rifampin or levofloxacin. Aminopenicillins show 100% susceptibility to non invasive pneumococci. **Conclusions:** New studies and a larger number of isolations are required in order to perform an accurate analysis of the prevention and treatment of pneumococcal infections in our area.

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae*, serotypes, non invasive diseases.

### Introducción

*Streptococcus pneumoniae* juega un rol preponderante en las infecciones invasivas como bacteriemias, neumonías, meningitis y no invasivas: otitis media aguda (OMA) sinusitis y conjuntivitis.<sup>(1)</sup>

La elevada prevalencia de OMA y sinusitis implica un gasto importante en el uso de antibacterianos, particularmente en pediatría, lo cual ha favorecido la aparición de elevados porcentajes de resistencia. Por esto existe un creciente interés en la utilización de vacunas que prevengan la aparición de estas patologías.<sup>(2)</sup>

Se han identificado más de 90 serotipos inmunológicamente distintos de *S. pneumoniae* basados en la composición de los polisacáridos capsulares específicos lo que dificulta las estrategias de vacunación. Las vacunas antineumocócicas disponibles en la actualidad han sido diseñadas para la prevención de enfermedades invasoras pero existen resultados controvertidos cuando se refiere a enfermedades no invasivas como la otitis media y no existen antecedentes de evaluaciones de la vacuna en sinusitis y conjuntivitis. Hay trabajos donde se observa un incremento en la incidencia de otitis por serotipos no vacunales.<sup>(4)</sup>

### Objetivos

Los objetivos fueron determinar la prevalencia de los distintos serotipos de *S. pneumoniae* causales de infecciones neumocócicas no invasoras y conocer la sensibilidad frente a los antibacterianos en nuestra área.

### Materiales y métodos

Se trata de un estudio observacional, descriptivo transversal. Durante el período abril 2005 a julio 2008 se estudiaron 60 aislamientos provenientes de pacientes pediátricos de 0 a 6 que concurren directamente o por derivación de otros centros provinciales a la Clínica Universitaria Privada Reina Fabiola de la ciudad de Córdoba, Argentina. La institución es de carácter polivalente, consta de 120 camas y un servicio de Pediatría y Neonatología. Se excluyeron los recuperados de pacientes provenientes de patologías invasivas y la de los niños mayores de 6 años. La población fue agrupada en dos categorías (menores de 2 años y de 2 a 6 años). Las muestras fueron obtenidas por timpanocentesis, punción de senos paranasales e hisopados conjuntivales respectivamente de infecciones no invasoras que se categorizaron como otitis media aguda, sinusitis maxilares y conjuntivitis. Los especímenes de oído medio y senos paranasales fueron sembrados en placas de agar chocolate y caldo tioglicolato e incubados en capnofilia a 35°C por 72 hs. Las muestras conjuntivales fueron sembradas en forma semicuantitativa de ocho "C", en placas de agar chocolate e incubadas en CO<sub>2</sub> (método de la vela), a 35°C por 72 hs. La identificación de *S. pneumoniae* fue realizada por sensibilidad a optoquina y solubilidad en sales biliares. El serotipo se determinó por la técnica de Quellung aplicando el esquema de Skov Sorensen utilizando antisueros específicos producidos por el Stattens Seruminstitut (Copenague, Dinamarca). El lote consta de un denominado "omniserum" mezcla de todos los serotipos de neumococos. Se consideró a una cepa como no tipificable serológicamente cuando no reaccionó con el "omniserum" ni con ninguno de los 12 sueros polivalentes; antes de considerarlos como tales se sembraron nuevamente y se repitió todo el proceso hasta tres veces.

Las pruebas de sensibilidad se efectuaron por el método de difusión en agar a los siguientes antimicrobianos: eritromicina (Eri), clindamicina (Cli), levofloxacina (Lev), tetraciclinas (Tet), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), rifampicina (Rif) vancomicina (Van) y oxacilina (Oxa). Para determinar la sensibilidad a penicilina (Pen) se usó inicialmente un disco de Oxa 1 µg y a aquellos aislamientos que dieron un halo de inhibición menor o

igual a 19 mm se les efectuó CIM a Pen por macrodilución en caldo siguiendo las sugerencias del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M2-A8). Se utilizó como control de calidad la cepa de *S pneumoniae* ATCC 49619. Se emplearon los puntos de corte sugeridos por CLSI M-100-S19 (2009),

Se procesaron los datos de acuerdo a los estadísticos descriptivos posibles con el paquete estadístico SPSS.

### Resultados

De un total de 60 cepas estudiadas, el 65% correspondió a varones. El 83.3% fueron menores de 2 años y el 16.7% entre 2 y 6 años. Las muestras obtenidas correspondieron a infecciones no invasoras que incluyeron otitis media aguda (n=44), sinusitis maxilares (n=8) y conjuntivitis (n=8). Se identificaron 17 serotipos y 6 cepas resultaron NT. La frecuencia de los mismos y la distribución por grupos de edad se muestran en la tabla 1. En la figura 1 se observa los serotipos más frecuentes según la localización.

Los porcentajes de resistencia a los antimicrobianos ensayados se observa en la tabla 2. De los 60 aislamientos, 27 (45%) presentaron halos de inhibición a oxacilina mayor o igual a 20 mm, siendo considerados sensibles a la penicilina. A las 33 cepas que presentaron halos menores o iguales a 19 mm, se les efectuó CIM a Pen. De ellas, 31 presentaron una CIM de 0.1-1 µg/ml y a este grupo perteneció el 75% de los serotipos 19A, 19F y 6A. El resto de los serotipos con valores de CIM a penicilina entre 0.1-1 µg/ml fueron: 6B, 23B, 23F, 1, 15C y NT. Dos de los 33 aislados (6A y 14) presentaron una CIM de 2 µg/ml.

Según los nuevos puntos de corte propuestos por CLSI para penicilina para infecciones respiratorias en 2009 no se detectó resistencia a esta droga. Todos los aislados fueron sensibles a levofloxacina, rifampicina y vancomicina. Los perfiles de resistencia observados con mayor frecuencia fueron: Eri-Cli-Tet-TMS 8,8%, Eri-TMS 7 % y Eri-Cli-TMS 7% (tabla 3).

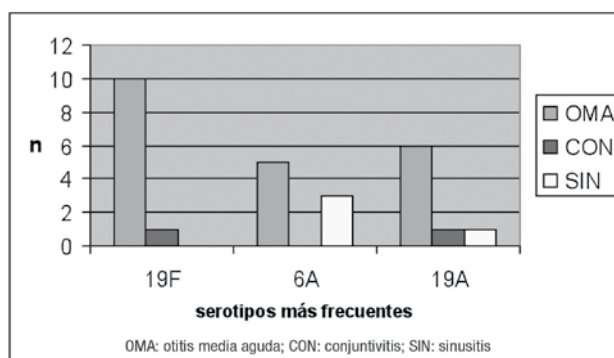
### Discusión

Las variaciones de los serotipos más prevalentes se deben a diferencias geográficas, localización de la infección, período de tiempo estudiados y la edad de los niños, entre otros factores.<sup>(5-7)</sup> En Argentina existen numerosos trabajos referidos a sensibilidad de esta bacteria en muestras no invasoras pero las investigaciones realizadas sobre serotipificación de neumococos se centran principalmente en enfermedades invasoras.<sup>(6,8,9)</sup>

Nuestros datos deben ser considerados como representativos de una ciudad Argentina, Córdoba de

**Tabla 1. Porcentajes de serotipos de *S. pneumoniae* aislados de infecciones no invasoras por grupo etáreo**

Serotipo	Menor a 2 años	Mayor o igual a 2 años	Total	%
19F	10	1	11	18,3
6A	7	1	8	13,3
19A	6	2	8	13,3
NT	3	3	6	10,0
6B	5	1	6	10,0
22F	3	1	4	6,7
23F	3		3	5,0
3	3		3	5,0
23B	1	1	2	3,3
7F	1		1	1,7
33F	1		1	1,7
18C	1		1	1,7
15C	1		1	1,7
15B	1		1	1,7
10A	1		1	1,7
14	1		1	1,7
11	1		1	1,7
1	1		1	1,7
Total	50	10	60	100,0



**Figura 1. Serotipos más frecuentes según la localización**

1.309.536 habitantes y no deben ser extrapolados a la población argentina total. Destacamos en este estudio la alta frecuencia del serotipo 19A considerado como uno de los emergentes en diferentes países<sup>(10,11)</sup> y la muy baja frecuencia del serotipo 14, que es curiosamente prevalente en cepas aisladas de procesos invasivos en Argentina.<sup>(6,8,9,12)</sup> En un estudio multicéntrico sobre serotipos causales de OMA, López en Argentina encontró una prevalencia del serotipo 14 (53,5%) seguido de 19A, 6B y 3; estos hallazgos difieren a los observados en el presente trabajo, lo que confirma la característica geográfica de la seroprevalencia.<sup>(13)</sup> Cantón en Valencia, España, observó que los serotipos 9 y 6 representaron el 86,4% de los aislamientos óticos<sup>(5)</sup> mientras que en otros países de Europa y USA prevalecieron los serotipos 19F, 23F, 14 y 6B en el mismo tipo de muestra.<sup>(13)</sup> Shouval D. en Israel encontró una asociación positiva de OMA con los serotipos 1, 3, 5, 12F, 19A y 19F.<sup>(14)</sup> En nuestro trabajo el 10% de los

**Tabla 2. Sensibilidad de *Streptococcus pneumoniae* a los antibacterianos**

	Eri n (%)	Clin n (%)	Lev n (%)	Tet n (%)	TMS n (%)	Rif n (%)	Van n (%)	Pen * n (%)
<b>Sensible</b>	40 (66,7)	48 (80)	60 (100)	54 (90)	40 (66,7)	60 (100)	60(100)	60 (100)
<b>Intermedio</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Resistente</b>	20 (33,3)	12 (20)	0,0	6 (10)	20 (33,3)	0,0	0,0	0,0
Total	60	60	60	60	60	60	60	60

Eri: eritromicina, Clin: clindamicina, Lev: levofloxacina, Tet: tetraciclina, TMS: trimetoprima-sulfametoxazol, Rif: rifampicina, Van: vancomicina, Pen: penicilina; \*Según los puntos de corte de CLSI 2008, M100-S9.

aislamientos correspondió a cepas NT. Existen reportes que comunican la asociación de cepas NT con secreciones conjuntivales y cultivos nasofaríngeos.<sup>(14,15)</sup> En España, Marco obtuvo un porcentaje similar de NT (9,6%) en muestras respiratorias incluidas otitis media.<sup>(16)</sup>

Diversos estudios han mostrado que la introducción de la vacuna heptavalente ha disminuído significativamente el número de infecciones invasoras causadas por serotipos contenidos en la misma entre niños menores de 24 meses de edad.<sup>(5,9,17-20)</sup> Sin embargo, en un estudio finlandés sobre la eficacia de la vacuna PV7 para OMA los episodios de esta infección causados por serotipos no vacunales aumentó 33% para los niños que recibieron la vacuna *versus* el placebo.<sup>(21)</sup> Los serogrupos 15 y 33 están emergiendo como serotipos de reemplazo;<sup>(17,22)</sup> al mismo tiempo que se observa una declinación en el serotipo 14.<sup>(17)</sup> Es necesario un número muy significativo de casos para opinar sobre la capacidad de cobertura de las vacunas polivalentes disponibles o futuras.

Desde la aparición de las primeras cepas de *S. pneumoniae* no sensibles a penicilina en la década de 1980 la resistencia ha ido en aumento y actualmente varía según los diferentes países.<sup>(5,6,8,17,23)</sup> Nuestro estudio ratifica que en nuestro medio en aislados de neumococos no invasores no hallamos resistencia a penicilina y por ende a aminopenicilinas, considerando los PC de CLSI para infecciones respiratorias.

Para eritromicina en infecciones respiratorias que incluyen sinusitis, OMA, neumonía y exacerbaciones de bronquitis crónica, la mayor resistencia se observó en países de Asia (79,6%) seguidos de Bélgica, Italia y España; para Latinoamérica fue del 15,3% siendo la más elevada la de México (27,6%).<sup>(23)</sup>

Se compararon los porcentajes de resistencia a TMS y Eri propios y de aislados de infecciones invasoras en Latinoamérica (SIREVA II) y se encontró diferencias notorias.<sup>(24)</sup> En coincidencia con otros autores<sup>(25)</sup> creemos que el incremento a nivel mundial de la resistencia a macrólidos y azólidos obedece a su abusivo uso empírico en el tratamiento de las infecciones respiratorias altas derivado de un descreimiento de la eficacia de aminopenicilinas o sus combinaciones con IBL en estas patologías.

A la vista de las variaciones geográficas observadas tanto en las series extranjeras como en las argentinas, consideramos importante incrementar el número de trabajos con el objetivo de acercarnos al mejor conocimiento de los serotipos y sensibilidad de los neumococos prevalentes en nuestro medio. Es de desear que el estudio de sensibilidad y serotipos de cepas no invasoras se extienda no solo a nuestro medio sino a toda América Latina dada la alta morbilidad de estas bacterias en la población pediátrica. Con estos datos contribuimos a la información disponible hasta el momento, la cual será sin dudas de utilidad a la hora de elaborar programas de vacunación apropiados para nuestras regiones.

#### Referencias

1. Tubau F, Liñares J, Martín R. Resistencia antibiótica en *Streptococcus pneumoniae*. Disponible: <http://www.seimc.org/control/reviBacte/pnepp.htm>. 17/8/2000.10.58.54. Consulta: 28 de febrero de 2006.
2. Finkelstein JA, Metlay JP, Davis RL, Rifas-Shiman SL, Dowell SF, Platt R. Antimicrobial use in defined populations of infants and young children. Arch Pediatr Adolesc Med 2000;154:395-400.
3. Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen J et al. Efficacy safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Pediatr Infect Dis J 2000;19:187-95.
4. Brouwer CN, Maille AR, Rovers MM, Veenhoven RH, Grobbee DE, Sanders E et al. Effect of pneumococcal vaccination on quality of life in children with recurrent acute otitis media: a randomized, controlled trial. Pediatrics 2005;115:273-9.
5. Cantón E, Montaner M, Pérez-Bellés C, Román J, Moreno R, Igual R et al. Serotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in children in the health district of Valencia and Castellón, Spain: a multicenter, prospective trial. Rev Esp Quimioterap 2003;16:412-420.
6. Grenon S, von Specht M, Corso A, Pace J y Regueira M et al. Distribución de serotipos y perfiles de sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en niños en Misiones, Argentina. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005;23:10-4.
7. Zisis NP, Syriopoulou V, Kafetzis D, Daikos GL, Tsilimingaki A, Galanakis E et al. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive infections and acute otitis media in children. Eur J Pediatr 2004;163:364-368.
8. Mayoral C, Baroni MR, Giani R, Virgolini S, Zurbriggen L, Regueira M et al. Distribución de *Streptococcus pneumoniae* aislados de infecciones invasoras en el Hospital de Niños de Santa Fe. Rev Argent Microbiol 2008;40:13-16.

9. Ruvinsky R, Gentile A, Regueira M et al. Infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia. Arch Argent Pediatr 2002;100(1): 31-43.
10. Pai R, Moore MR, Pilišvili T et al. and the Active Bacterial Core Surveillance Team. Postvaccine genetic structure of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A from children in the United States. J Infect Dis 2005;192:1988-1995.
11. Pelton SI, Huot H, Finkelstein JA, Bishop CJ, Hsu KK, Kellenberg J et al. Emergence of 19A as virulent and multidrug resistant *Pneumococcus* in Massachusetts following universal immunization of infants with pneumococcal conjugate vaccine. Pediatr Infect Dis J 2007;26:468-472.
12. Ruvinsky R. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiología y resistencia a antimicrobianos de las enfermedades invasoras en Latinoamérica. Rev Chil Infectol 2001;18(Supl 1):10-14
13. Hausdorff W, Yothers G, Dagan R, Kilpi T, Pelton S, Cohen R et al. Multinational study of pneumococcal serotypes causing acute otitis media in children. Pediatr Infect Dis J 2002;21:1008-16.
14. Shouval S, Greenberg D, Givon-Lavi N, Porat N, Dagan RS et al. Site specific disease potential of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes in pediatric invasive disease, acute otitis media and acute conjunctivitis. Pediatr Infect Dis J 2006;25:602-607.
15. Nunes S, Sá-Leão R, Carrico J, Alves CR, Mato R, Avo Brito A et al. Trends in drug resistance, serotypes and molecular types of *Streptococcus pneumoniae* colonizing preschool-age children attending day care centers in Lisbon, Portugal: a summary of 4 years of annual surveillance. J Clin Microbiol 2005;43:1285-1293.
16. Marco F, Bouza E, García de Lomas J, Aguilar L. and the Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired respiratory tract infections in Spain: the impact of serotype and geographical, seasonal and clinical factors on its susceptibility to the most commonly prescribed antibiotics. J Antimicrob Chemother 2000;46:557-564.
17. Kaplan SL, Mason EO, Wald ER, Schutze GE, Bradley JS, Tan TQ et al. Decrease of invasive pneumococcal infections in children among 8 children's hospitals in the United States after the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. Pediatrics 2004;113:443-449.
18. Messina A, Katz-Gaynor K, Barton T, Ahmad N, Ghaffar F, Rasko et al. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on serotype distribution and antimicrobial resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in Dallas, Tx, children from 1999 through 2005. Pediatr Infect Dis J. 2007;26:461-467.
19. Montoya G, Perez Cueto MC. *Streptococcus pneumoniae* aislados de infecciones invasivas: serotipos y resistencia antimicrobiana. Rev Cubana Med Gen Integr 2007;23:1.
20. Porat N, Barkai G, Jacobs MR, Trefler R, Dagan R. Four antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae* clones unrelated to the pneumococcal conjugate vaccine serotypes, including 2 new serotypes, causing acute otitis media in Southern Israel. J Infect Dis 2004;189:385-392.
21. Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva J et al. Efficacy of pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. N Engl J Med 2001;344:403-409.
22. Gonzalez Blanca E, Hulten KG, Lamberth L, Kaplan SL, Mason EO and the U.S. pediatric multicenter pneumococcal surveillance group. *Streptococcus pneumoniae* serogroups 15 and 33 an increasing cause of pneumococcal infections in children in the United States after the introduction of the pneumococcal 7-valent conjugate vaccine. Pediatric Infect Dis J 2006;25:301-305.
23. Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. J Antimicrob Chemother 2002;50,Suppl.S1, 25-37.
24. Agudelo CI, Castañeda E, Corso A, Regueira M, Brandileone MC, Brandao A et al. Resistencia a antibióticos no betalactámicos de aislamientos invasores de *Streptococcus pneumoniae* en niños latinoamericanos. SIREVA II 2000-2005. Rev Panam Salud Publica 25 2009;25(4):305-313.
25. Klugman KP, Lonks JR. Hidden epidemic to macrolides-resistant pneumococci. Emerg Infect Dis 2005;11(6):802-7.

Correspondencia:

**Fabiana Berrueto**

Basurco y Herrera 3154, 5009

Córdoba - Argentina.

e-mail: fabianaberrueto@hotmail.com