

Bioquimia

Volumen **30**
Volume

Suplemento **A**
Supplement

Marzo **2005**
March

Artículo:

Resúmenes de Trabajos Libres

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



www.Medigraphic.com

E-1

LA MICROBIOLOGIA MOLECULAR COMO HERRAMIENTA EDUCATIVA DEL QFB

Perea-Cantero Rodolfo A,¹ Mendoza-Castrejón Edilberto,¹ Rodríguez-Salazar Rosa Bertha.²

¹ Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud CEPARIO Edif. G – 005. Calzada del Hueso No. 1100, Col. Villa Quietud, Del. Coyoacán. C.P. 04960. ² Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) D.F. e-mail: _ecmendo@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Educación, técnicas, biología molecular.

Introducción: La formación educativa debe apoyarse en una pedagogía científica, que busque unir la docencia, la investigación y el servicio, a partir de una enseñanza de problemas extraídos de la realidad, el método de enseñanza-aprendizaje debe abordar el objeto de conocimiento como una totalidad.

La formación profesional debe ser activa como consecuencia de la búsqueda sistemática que realiza el estudiante, coordinado por el maestro. Los fines y valores de la educación y aprendizaje metodológico, se reflejan en el nivel pedagógico con la definición y la adaptación de nuevas tecnologías y métodos como el uso de técnicas de biología molecular (PCR).^{1,2}

Dado a que los procesos relevantes para la educación son de carácter cualitativo³, interesa la conceptualización de problemas, necesidades y el establecimiento de prioridades en cuanto a objeto de investigación, previamente a cualquier determinación cuantitativa referida a dichos problemas.

Objetivo: Identificar fragmentos plásmidos por medio del dominio de métodos y técnicas de biología molecular.

Metodología: Apoyo al diseño del curriculum por medio del dominio de métodos y técnicas de laboratorio microbiológico acordes a los tiempos actuales y sus cambios en la ciencia y tecnología.

Para este trabajo, se recolectaron 50 cepas de *Staphylococcus aureus*, previamente identificadas por métodos convencionales donadas por el departamento de bacteriología perteneciente al Hospital de Ortopedia, Magdalena de las Salinas (IMSS). Las cepas se procesaron en dos fases:

- 1) Procesos Microbiológicos. Donde se confirmó la identidad de las cepas con procesos taxonómicos más sensibles, con el fin de descartar *Micrococcus* y otras especies de *Staphylococcus*, de igual forma en esta etapa se realizaron pruebas de sensibilidad a los antibióticos.
- 2) Recolección de material genético. Procesos de purificación de ADN por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Resultados: Se realizó extracción de material genético por lisis alcalina, se encontró un plásmido de 20 kb pertenecientes a una cepa de *Staphylococcus aureus* marcada como tres, obtenida el día 28 de Julio del 2000, las demás cepas no presentaron plásmidos en el corrimiento en gel de agarosa por electroforesis. Con estos resultados obtenidos, se sugiere una investigación aún más extensa de las causas que propician la resistencia del microorganismo por medio de la técnica de PCR.

La exactitud y aptitud que generan los resultados son de gran valor para formación de nuestros estudiantes elevando así su calidad profesional y abriéndoles espacios y posibilidades de desarrollo para una futura práctica profesional.

Discusión: Es necesario generar futuros profesionistas con los conocimientos acordes a los tiempos actuales y sus cambios en la ciencia y tecnología. Para vencer los sin duda innumerables obstáculos, sólo es viable si el proyecto y la ejecución de la educación cuentan con una base de docentes y estudiantes con fuertes valores de la educación y bases metodológicas sólidas, que se reflejarán en el nivel pedagógico, con la definición y la adaptación de nuevas tecnologías y métodos conforme el avance científico de nuestros tiempos.

Conclusiones: El modelo de estudio apoya al diseño curricular y proporciona bases sólidas metodológicas

REFERENCIAS

1. Bergman A. *Genome evolution in bacteria*. Boston, USA; 1986. p. 229-293.
2. Pellón JR. *La ingeniería genética y sus aplicaciones*. Zaragoza, España: Acribia; 1986. p. 237.
3. Primrose SB. *Wardlaw source book of experiments for teaching of Microbiology*. London: Academic Press; 1982.

E-2

METODOLOGÍA PARA PROPORCIONAR BASES DE CONOCIMIENTOS MUTAGÉNICOS MICROBIOLÓGICOS

Rodríguez-Salazar Rosa Bertha,¹ Perea-Cantero Rodolfo A,² Castrejón-Mendoza Edilberto.²

¹ Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI 14080 México D.F. ² Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. e-mail ecmendo@correo.uam.mx

Palabras clave: Metodología, mutagenicidad, educación.

Introducción: Promover la comprensión y uso de herramientas metodológicas para resolver problemas cuando se tenga que hacer uso de ellas en la vida profesional es solo rutinario para centrar la mayor atención al pensamiento creativo, por ello se propone una metodología para proporcionarle bases a los alumnos en conocimientos y técnicas microbiológicas. Los mutágenos son agentes químicos o físicos que afectan al ADN por alteración de la secuencia de bases¹. Los mutágenos son útiles el laboratorio porque hacen más fácil el aislamiento de los mutantes. Aunque la mayor parte de los mutágenos actúan fortuitamente, se dispone de ciertos métodos para inducir cambios en genes específicos o en sitios específicos de genes.^{2,3}

Objetivo: Seleccionar, depurar, resaltar y ejemplificar la metodología que requiere una amplia base de conocimientos.

Metodología: Se utilizó la técnica de replicación de placas, esta prueba esta diseñada para medir la mutación inversa. Es fácil contar unos cuantos prototifos en un vasto número de células que requieren histidina. El método para la preselección y determinación fue el siguiente: Paso 1: optimización del rendimiento de mutantes. Paso 2: escoger los mutantes y eliminar los tipos salvajes. Paso 3: replicación de placas. Esta prueba esta diseñada para medir la mutación inversa y no la mutación directa.

Resultados: Los integrantes del proyecto Cepario pensamos que muchos estudiantes, especialmente los que cuentan con menos antecedentes científicos, se sienten intimidados con la aparición de los grandes avances de la tecnología, y una de nuestras principales preocupaciones es ofrecer tecnología en la educación y familiarizar al estudiante con esta nueva tecnología, y así promover la comprensión y la capacidad para resolver problemas cuando tengan que hacer que hacer uso de ella en la vida profesional, ya que ésta será sólo una herramienta, y dejen su mayor atención al pensamiento creativo de la biotecnología sobre cepas bacterianas mutantes para identificar sustancias químicas potencialmente peligrosas. También la sensibilidad mediante la

cual se pueden detectar mutantes seleccionables en poblaciones grandes de bacterias, ya que las bacterias se pueden utilizar como agentes de escrutinio de la mutagenicidad potencial de las sustancias químicas, siendo esto muy importante.

Discusión: En el vasto campo del conocimiento universitario acumulado en microbiología y biología celular, carece esencialmente de valor si no se puede utilizar. Por ello, las experiencias formativas en el Proyecto Cepario incorporan frecuentes ejercicios metodológicos sobre biología celular microbiana y biología molecular, entre otras, con problemas sencillos metodológicos y técnicos. Los estudiantes ponen a prueba sus conocimientos y los aplican a la resolución de problemas dentro de un proyecto dirigido y coordinado por un profesor con experiencia, familiarizándose así y sintiéndose cómodos con las nuevas tecnologías y con lo que de éstas aprenden. Cuando lo aprendido resulta útil significa que lo retendrán, más allá de su experiencia universitaria, para el futuro desempeño de su vida profesional y porque no pensar, como futuros investigadores.

Conclusiones: Cualquier estudiante de química o de ciencias biológicas, por modestas que sean sus ambiciones, estará mal preparado si contempla sus recursos sin tener conocimiento de las técnicas actuales y una percepción madura de las implicaciones de la investigación sobre las generaciones por venir.

REFERENCIAS

1. Wagner RP, Michell HK. *Genetic and metabolism*. 4a ed. Chichester, RU: Wiley; 1984.
2. Franks N, Teich P. *An introduction to the cellular and molecular biology of cancer*. Reino Unido: Oxford University Press; 1997.
3. Maniatis T, Goodbourn S, Fisher JA. Regulation of inducible and tissue-specific gene expression. *Science* 1997; 236: 127-144.

E-3

ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA

Aguilar-Santelises Leonor, Corona-Ortega María Teresa, Mendoza-Rincón Jorge Flavio, Cruz-Millán Margarita, Rangel-Corona Rosalva, García del Valle Araceli.

Laboratorio de Biología Celular y de los Tejidos I. Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza". UNAM. 15000 México, D.F. Apoyo de DGAPA PAPIIME 201803. e-mail: lsante02@yahoo.com.mx

Palabras clave: Biología molecular, enseñanza, bioquímica.

Introducción: La actualización de los programas de estudio es un proceso de suma trascendencia para la FES Zaragoza, porque permite estar a la vanguardia de los principales avances científicos y tecnológicos que tienen lugar en las diversas disciplinas que conforman las carreras profesionales, así como porque las innovaciones educativas que van emergiendo ofrecen mejores opciones en el proceso de formación de los estudiantes. En el plan de estudios de la carrera de QFB, la línea curricular Bioquímica es parte medular¹, además constantemente se generan nuevos conocimientos que impactan tanto la teoría como la práctica de las asignaturas de esta línea curricular. Por estas razones, es indispensable realizar prácticas de laboratorio acordes con esta realidad para lograr una mejora en el proceso de enseñanza-aprendizaje y en la vinculación teoría práctica de los módulos relacionados con Bioquímica de la FES Zaragoza.

Con base en lo anterior un grupo de profesores trabajamos en un proyecto en donde nos proponemos realizar diferentes actividades tales como actualizar los programas de estudio de los módulos del área, con la instrumentación de nuevos protocolos de prácticas^{2,3}; elaborar y publicar materiales educativos para el mejoramiento de la enseñanza de la Bioquímica y sus áreas afines; y facilitar la actualización de los docentes, organizando cursos y foros de interacción de alumnos y profesores, esperando mejorar el proceso enseñanza-aprendizaje de la línea curricular bioquímica de la FES-Zaragoza.

Metodología: Para lograr nuestros objetivos se han realizado diversas actividades: la instrumentación de nuevos protocolos de prácticas, la realización de cursos de actualización de profesores para promover su formación en el manejo de técnicas y conocimientos de vanguardia y un curso de introducción a bioquímica para alumnos que van a iniciar con el curso de bioquímica. Se organizó un foro de divulgación en bioquímica, además de la compra de equipo y material especial para realizar nuevas prácticas. Se adquirieron diversos libros especializados de bioquímica y biología molecular los cuales están a disposición de alumnos y docentes.

Así también se han elaborado diversos materiales educativos que nos apoyaran para facilitar el aprendizaje teórico-práctico de los estudiantes.

Resultados y Discusión: Se realizaron con tres grupos del módulo de BCTI, las prácticas de electroforesis de proteínas

plasmáticas, obtención de ADN de leucocitos de sangre periférica, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), electroforesis de ADN y cinética enzimática cuantitativa. Se impartieron tres cursos de actualización para profesores y un curso de introducción para los estudiantes. Se elaboraron diversos materiales impresos, como los Protocolos de Bioquímica Celular y de los Tejidos, en donde se proporcionan a los estudiantes tres prácticas (determinación de colesterol de la yema de huevo, análisis e identificación de lípidos de la yema de huevo por cromatografía en capa fina y cinética enzimática); aplicación de citometría de flujo, ELISA celular e incorporación de isótopos radiactivos en el cultivo celular y protocolos de biología molecular. El Foro de divulgación de la línea curricular bioquímica, se llevó a cabo en las instalaciones de la FES Zaragoza y se logró la participación de alumnos de las carreras de QFB y Biología, se expusieron trabajos de diferentes temas del área bioquímica, oncología, educación y cómputo, impartidos por profesores e investigadores de la FES Zaragoza y de otras dependencias de la UNAM. Adicionalmente se presentó y comentó un nuevo libro de Hematología Clínica a profesores y alumnos.

Conclusiones: Con el desarrollo de este proyecto, en donde se modernizan las prácticas de laboratorio, se proponen y realizan cursos de actualización de profesores, se elaboran materiales didácticos y se organizan actividades de divulgación en la línea curricular bioquímica, se ha iniciado el proceso de proporcionar a los estudiantes los conocimientos y fundamentos para la realización de técnicas como electroforesis de proteínas y ADN, cultivo celular, PCR, así como técnicas en microescala, que son utilizadas en la actualidad, tanto en investigación como en el campo laboral, lo que a futuro se espera repercutirá en un mejor desempeño profesional de nuestros egresados.

REFERENCIAS

1. Escuela Nacional de Estudios Profesionales (ENEP) Zaragoza. *Plan de Estudios de la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo*. UNAM; 1976.
2. Lodish H. *Molecular cell biology*. 5° ed. Editorial W.H. Freeman; 2004.
3. Stryer L. *Bioquímica*. Tomo I y II, Madrid: Interamericana-McGraw-Hill; 1998.

E - 4

INSTRUMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS TEJIDOS

García del Valle Araceli,¹ Corona-Ortega María Teresa,¹ Rangel-Corona Rosalva,¹ Mendoza-Rincón Jorge Flavio, Cruz-Millán Margarita,² Ocotitla-Jiménez Raúl,¹ Aguilar-Santelises Leonor.²

¹Laboratorio de Oncología, ²Laboratorio Multimedia. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Apartado Postal 09-020, 15000 México, D.F. e-mail: jime567@prodigy.net.mx. Apoyo de DGAPA PAPIME 201803.

Palabras clave: Biología molecular, PCR, enseñanza.

Introducción: En la carrera de QFB existen dos líneas curriculares distintas, las cuales son el área Farmacéutica y el área de Bioquímica Clínica, esta última comienza desde 4° semestre de la carrera con la materia de Bioquímica Celular y de los Tejidos I y concluye en 9o semestre¹. Dentro de la línea curricular Bioquímica se ubica la Biología Molecular y Celular, la cual se encuentra en una etapa de constante crecimiento.

Actualmente se dispone de nuevas técnicas de investigación de biología molecular, muy reproducibles, que nos aportan datos sumamente confiables y que permiten explorar los procesos más intrincados que se dan en las células vivas, de tal forma que han dado lugar a aplicaciones prácticas muy importantes en los campos de la medicina, la farmacia, la genética y otros relacionados, por ejemplo las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa y retrotranscripción (PCR y RT-PCR), electroforesis tanto en agarosa como en geles de poliacrilamida, tinciones histoquímicas, técnicas de ELISA, cromatografía y técnicas en microescala, entre otras.^{2,3}

Por lo anterior, resulta indispensable actualizar el contenido del manual de prácticas del laboratorio de BCT-I, con la finalidad de que al alumno se le permita el mejor desempeño, aprovechamiento y conocimiento del contenido del programa, asimismo, esto fortalecerá las habilidades técnicas de los alumnos y les permitirá contar con mejores herramientas para su futuro desempeño laboral y profesional.

Objetivo: Diseñar, instrumentar y validar nuevos protocolos de prácticas de biología molecular que puedan ser implementados en los laboratorios de Bioquímica Celular y de los Tejidos de la FES Zaragoza. Así también se han elaborado diversos materiales educativos que nos apoyarán para facilitar el aprendizaje teórico-práctico de los estudiantes.

Metodología: Se realizó una investigación bibliográfica exhaustiva de nuevas técnicas. Se elaboraron las propuestas de los protocolos tomando en cuenta las condiciones e infraes-

tructura de nuestros laboratorios en cuanto a material y equipo y proponiendo la compra de otros. Se realizaron pruebas para optimizar los resultados apoyándonos con alumnos de servicio social y tesis. Se elaboró un protocolo final que fue dado a conocer al resto de los profesores del módulo y finalmente estos protocolos fueron instrumentados con los alumnos del módulo de BCT-I.

Resultados y discusión: Actualmente se tienen implementadas las siguientes técnicas de biología molecular: extracción de ADN de muestras sanguíneas, aplicación de PCR para amplificar el gen MICA y electroforesis de ADN en geles de agarosa. Se presentaron estos productos a los alumnos para que los pongan en práctica y se de una retroalimentación entre ellos y los profesores de tal manera que aporten sugerencias.

Conclusiones: Se espera que estos protocolos permitan al alumno realizar técnicas actuales en donde pueda aplicar los conocimientos teóricos; así como que sean capaces de poner en marcha un proceso de razonamiento que les permitirá una mejor comprensión de los fenómenos biológicos.

Finalmente, con lo anterior se propone realizar una mejora en el proceso de enseñanza-aprendizaje y en la vinculación teoría-práctica de los módulos relacionados con biología molecular, como son: Bioquímica, Biología Celular, Genética y Nutrición de la carrera de Química Farmacéutico Biológica

REFERENCIAS

1. Escuela Nacional de Estudios Profesionales (ENEP) Zaragoza. *Plan de Estudios de la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo*. UNAM; 1976.
2. McKee T, McKee JR. *Bioquímica: la base molecular de la vida*. Colombia: McGraw-Hill-Interamericana; 2003.
3. Karp G. *Biología celular y molecular*. México: McGraw-Hill-Interamericana; 1998.

H-1

PROTOCOLO DE CONGELACIÓN DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS A -80°C, EXPERIENCIA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO, SSA

Núñez-Farfán Rosa Ma,¹ Delgado-Ochoa Ma. de los Dolores,¹ Vidal-Saucedo Fernando,¹ Piña-Olvera Víctor,¹ Rivero-Aviles Araceli J,¹ Tejeda-Romero Mónica,² Cruz-Rico Jorge.²

¹Laboratorio de Histocompatibilidad de la Unidad de Investigación. ²Servicio de Hematología del Hospital Juárez de México, SSA.

Palabras clave: Células hematopoyéticas, trasplante, médula ósea, criopreservación.

Introducción: El trasplante de médula ósea (TMO) es el tratamiento de elección para varias enfermedades como: linfomas, tumores sólidos y varias leucemias¹. Para llevarse a cabo el TMO se ha desarrollado la técnica de criopreservación de células hematopoyéticas (CH) con diferentes soluciones de criopreservación, entre ellas se encuentran el dimetilsulfóxido (DMSO) como crioprotector intracelular y el hidroxietil almidón (HES) como crioprotector extracelular; así mismo se han ocupado diferentes temperaturas: refrigeración en donde las CH duran hasta una semana, a -80°C por 16 meses y a -195°C durante varios años². En la actualidad se encuentra en estudio la aplicación de CH en pacientes que han sufrido: infarto al miocardio, destrucción del ligamento periodontal, en generación de precursores neuronales en piel en el tratamiento de esclerosis amiotrófica lateral, en terapia de diabetes mellitus, entre otros.³

Objetivo: Establecer la eficacia del método de criopreservación de células hematopoyéticas (médula ósea, células tallo y cordón umbilical) a -80°C para utilizarlas en TMO.

Metodología: Se congelaron células hematopoyéticas de 16 pacientes entre ellas un cordón umbilical, siendo 36 eventos en total de criopreservación, fueron obtenidas en quirófano y por aféresis utilizando la máquina Baxter 3000, a todas las muestras se les realizó al momento de ser recibidas lo siguiente: obtención del peso, biometría hemática (BH), prueba de esterilidad (cultivo de bacterias aerobias, anaerobias y hongos), viabilidad y cultivo de línea celular blanca. Se llevó a cabo el método de criopreservación con una solución de anticoagulante citrato dextrosa (ACD) al 7%, dimetilsulfóxido (DSMO) al 20% y plasma, mezclándose las células hematopoyéticas con la solución de criopreservación en bolsas de criopreservación. Al término del procedimiento, se tomó una muestra control para realizar: BH, prueba de esterilidad (cultivo de bacterias y hongos), viabilidad y cultivo de línea celular blanca y después se colocaron por dos horas en el refrigerador, otras dos horas en hielo seco y se pasaron a un congelador Revco a -80°C.

Resultados: Se realizaron revisiones periódicas de los procesos de criopreservación. La primera revisión fue al término del proceso (tiempo cero), la segunda a los tres años de criopreservación

y la tercera a los seis años, observándose que la cantidad de leucocitos totales y mononucleares bajaron un 25 % a los 3 años y 20% a los seis años. Con relación a la hemoglobina/hematocrito, se obtuvo una considerable baja; así mismo, en la prueba de esterilidad durante las tres revisiones sólo se encontró el desarrollo de cocos Gram positivos en una muestra la cual desde el principio desarrollo dicho microorganismo.

Las unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en el cultivo de la línea blanca también bajó, a los tres años 20%, más 25% a los seis años; en la viabilidad que se realizó con azul tripano se obtuvo un decremento del 25% a los 3 años y del 20 % a los seis años.

Discusión: En los 36 procedimientos de criopreservación que se realizaron se observó que el DMSO es un crioprotector adecuado para el método, la técnica de criopreservación a -80°C es útil no sólo para 16 meses como lo menciona la literatura, puede ser útil hasta por 36 meses, pasando dicho tiempo la cantidad de células baja. Se debe tener un control estricto del congelador Revco para mantener constante la temperatura a -80°C. Al realizar el cultivo de la línea blanca se debe tener experiencia para contar las UFC.

Conclusiones: El método de criopreservación a -80°C se recomienda ya que tiene un bajo costo en comparación con el de -195°C en N₂ líquido y es útil por 36 meses, manteniendo una buena viabilidad celular y así poder ser utilizadas en el TMO.

REFERENCIAS

1. Sarda P. Cultivo de precursores granulopoyético-macrofágicos y su aplicación en el trasplante de médula ósea. *Biol Clin Hematol* 1994; 16: 85-92.
2. Stiff PS, Koester AR, Weidner MK, Dverak K, Fisher RI. Autologous bone marrow transplantation using unfractionated cells cryopreserved in dimethylsulfoxide and hydroxyethyl starch without controlled-rate freezing. *Blood* 1987; 70: 974-978.
3. Wollert K, *et al.* Intercoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141-220.

H-2

NIVELES DE HEMOGLOBINA EN MUJERES DE LA POBLACION DE TRINITARIA (1700 MSNM) MUNICIPIO DE COMITAN, CHIAPAS

Sosa-García Yolanda Guadalupe,¹ Ramos-Aguilar Paola,¹ García-Pérez Leyver,¹ Jiménez-Bautista Júnior Misael,¹ Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel.²

¹Estudiantes del 3º sem. de la carrera de Q.F.B. ²Catedrático del Programa de Q.F.B. UNACH, Facultad de Ciencias Químicas. Km. 2 carretera a Puerto Madero, Tapachula Chiapas. e-mail: qfbmarf@yahoo.com.mx

Palabras clave: Biometría hemática, mujeres, comunidad

Introducción: El perfil hematológico (biometría hemática [BH]) es un estudio cualitativo y cuantitativo de la sangre. La carencia de hierro es una de las deficiencias nutricionales más extensas causante más común de anemias.¹ En las mujeres la demanda de hierro es muy alta debido a la pérdida periódica de sangre asociada a la menstruación.² La deficiencia de hierro en el organismo se presenta en tres estadios, en la etapa temprana se manifiesta una disminución de la concentración sérica de hierro y ferritina, si avanza la deficiencia se disminuye la saturación de transferrina, la glicoproteína que transporta el hierro y aumenta la protoporfirina, finalmente, en una deficiencia aguda se observa una disminución variable en la concentración de hemoglobina³, reflejándose esto en la palidez de la piel y de tegumentos.

Objetivo: Evaluar el perfil hematológico en mujeres de la región alta del estado de Chiapas.

Metodología: La presente investigación es de carácter transversal, prospectivo, observacional y descriptivo. Se recolectaron muestras en mujeres de 20 y 40 años de Trinitaria, Chiapas, que se encuentra a una altura de 1700 msnm. Las muestras fueron recolectadas en el lapso de 8:00 a.m. a 14:00 p.m. La población total fue de 30 pacientes. Se consideraron para la determinación de la BH dos parámetros: el cuantitativo fórmula roja (FR) y el cualitativo fórmula blanca (FB). Dentro de la FR se consideró el análisis de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), concentración media de Hb (CMHC); mientras que en la FB se llevó a cabo la lectura de la diferencial a través de la tinción de Wright. Dichos análisis se realizaron en un equipo Coulter Vekmac, modelo 1998-1998, el cual utiliza los reactivos de Lyse, Scatter-Park, Isoton 3 y Hysel.

Resultados: El promedio de la hemoglobina fue de 13.15 ± 0.33 g/dL con un intervalo de confianza al 95% de [12.81–13.48 g/dL]. La distribución de los resultados se encuentra en la figura 1. Encontrándose que el 53.3% estaba en el rango de 12.6 a 13.4 g/dL y sólo el 16.7% se encontró por debajo del límite inferior del intervalo de confianza. Con relación a la varianza de la variable se encontró que ésta fue de 0.81 con intervalo de confianza al 95% de 0.51 – 1.46.

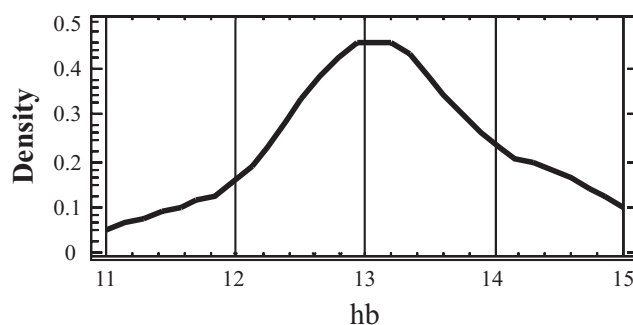


Figura 1: Niveles de hemoglobina de los pacientes estudiados.

Discusión: Se encontró que la media de la hemoglobina (13.15 g/dL) de la población estudiada, se encuentra dentro de los intervalos de referencia (12.5 a 16.5 g/dL) con respecto a la altura en la que se encuentra esta localidad, reportada por otros autores. En los pacientes valorados con hemoglobina baja (< 12.8 g/dL, de acuerdo al límite inferior calculado) es probable que la causa sea deba a que acababan de pasar por su periodo menstrual o se encontraban en él, en el momento de la toma de la muestra.

Conclusión: De acuerdo a los resultados de este trabajo se observa que los niveles de hemoglobina de las mujeres que habitan en esta población se encuentran ligeramente elevados en comparación a los valores de referencia generales reportados en la bibliografía, en los cuales no se toma en consideración la altura en la que se encuentra la población en estudio.

REFERENCIAS

1. Ángel G. *Interpretación clínica del laboratorio*. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1994. p. 245-249.
2. Ruiz-Argüelles G.J. *Fundamentos de hematología*. 2ª ed. México: Panamericana; 1989. p. 31-44.
3. Woodliff HJ. *Hematología clínica*. México: El Manual Moderno; 1981. p. 13-20.

H-3

ESTUDIO DE TROMBOFILIA EN PACIENTES CON TROMBOSIS DE REPETICIÓN

Cruz-Gómez Yolanda, Howland-Alvarez Ivón.

Laboratorio Clínico, Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ), Ciudad de la Habana, Cuba. e-mail: ycruz@cimeq.sld.cu

Palabras Clave: Trombofilia, proteína C, proteína S, antitrombina III.

Introducción: La trombofilia es un síndrome caracterizado por episodios trombóticos recurrentes, que en la mayoría de los casos tienen lugar en el sistema venoso. El conocimiento adquirido en los últimos años acerca de los mecanismos reguladores o moduladores de la coagulación sanguínea, ha permitido establecer los elementos etiopatogénicos fundamentales en este síndrome.¹ El hallazgo de un número cada día mayor de pacientes con este trastorno, demuestra que no es tan poco frecuente como inicialmente se pensaba y para algunos autores la prevalencia de esta es superior a la de la hemofilia.² Con frecuencia los eventos trombóticos son recurrentes y se presentan en sitios pocos usuales no pudiendo ser explicados por los factores de riesgo bien conocidos.³

Las principales causas de trombofilia descritas hasta ahora son, el déficit de Antitrombina III, del Cofactor II de la heparina, déficit de Proteína C, déficit de Proteína S, déficit de Plasminógeno, déficit del inhibidor de la vía del Factor Tisular y la detección de la resistencia a la activación de la Proteína C.

Objetivo: Estudiar los principales marcadores de trombosis en pacientes que presentaron eventos trombóticos recurrentes atendidos en la consulta de Hematología de nuestro centro en el período comprendido entre noviembre del 2002-septiembre del 2004.

Metodología: Se realizó un estudio a 45 pacientes que habían presentado más de un evento trombótico en los últimos 5 años. Se estudiaron los niveles de proteína C, proteína S, resistencia a la proteína C activada (RPCA), antitrombina III (AT III).

Resultados: Se encontró que el 52 % de los sujetos presentaban déficit de proteína C, el 6% déficit de resistencia a la proteína C activada (RPCA) y un 11% con déficit de proteína S. Solo tres pacientes presentaron deficiencia combinada: uno de ellos de proteínas C y S y dos con proteína C y AT III.

Discusión: Los pacientes que presentaron deficiencias combinadas de inhibidores de la coagulación fueron los que tuvieron mayor número de eventos trombóticos en el tiempo pero esto parece ser de baja incidencia. El déficit de proteína C fue el de más incidencia, lo que corresponde con lo descrito por otros autores hasta el momento.

Conclusiones: El marcador de trombosis de repetición más frecuente fue la deficiencia de proteína C. La deficiencia combinada se presenta con muy baja frecuencia.

REFERENCIAS

1. Briet E, *et al.* Regulation of Blood coagulation and thrombosis. *Haemost* 1985; 15: 228.
2. Shafer A. The hipercoagulable states. *Ann Intern Med* 1985; 102: 814 -28.
3. Girolami A, Simioni P, Zanardi S, *et al.* The hereditary thrombosis, *Rev Iberoam de Tromb Hemos* 1993, 6: 113-117.

I - 1

EFICACIA DE UNA VACUNA CONTRA LA MENINGITIS DE LOS SEROGRUPOS B Y C DE *Neisseria meningitidis*

Hernández-Roche Jonatan, Cuevas Iván, Montero Ricardo, Beoto Sucet, Alfalla Georgina.

Instituto Finlay, Ave 27, No. 19805. AP.16017. 11600 La Lisa, Ciudad Habana, Cuba. Fax: (53 7) 272-0809, (53 7) 208-6075.

e-mail: jhernandez@finlay.edu.cu; jonatanhr@yahoo.com

Palabras clave: Meningitis, serogrupos B y C, vacuna.

Introducción: La meningitis es una afección severa dada por la infección de las meninges que provoca muchas muertes y deja secuelas neurológicas permanentes en aquellos que sobreviven.^{1,2} Diferentes bacterias pueden causar meningitis. Entre ellas se destaca *Neisseria meningitidis*, una de las causas de grandes brotes epidémicos alrededor del mundo. Más de 12 serogrupos han sido identificados y 4 de ellos (A, B, C, W₁₃₅) son reconocidos como causantes de epidemias. En el año 1989 el Instituto Finlay³ desarrolla una vacuna eficaz contra meningitis por el serogrupo B, previo a un estado de epidemia tanto en Cuba como en Brasil. El objetivo de este trabajo es mostrar el efecto de la vacunación por la vacuna antimeningocócica en la prevención y control de casos y aumentos de la incidencia de la enfermedad meningocócica producida por *Neisseria meningitidis* del grupo B, tanto en Cuba y en otros países de América Latina.

Metodología: Se utiliza la vacuna antimeningocócica absorbida en gel de hidróxido de aluminio, como adyuvante, compuesta por Vesícula Purificada de Proteínas de Membrana Externa del serogrupo B y Polisacárido capsular purificado del serogrupo C de *Neisseria meningitidis*. Una vez completados satisfactoriamente los estudios preclínicos (seguridad y eficacia en modelo animal), se realizaron los estudios clínicos fase I, II, III (aleatorio, prospectivo, doble ciego con uso de placebo) en el que participaron 106 000 estudiantes entre 10 y 14 años³. La vía de administración fue intramuscular. Posteriormente, se evaluaron los resultados y se realizaron los estudios estadísticos correspondientes. Se analizó además, la incidencia de su aplicación en la morbilidad y mortalidad tanto en Cuba como en Latinoamérica.

Resultados y discusión: En una experiencia de casi 15 años se ha demostrado que la vacuna antimeningocócica es un instrumento útil en el control de brotes y epidemias de enfermedad meningocócica producida por *Neisseria meningitidis* del grupo B; esto queda evidenciado por la dramática disminución de las tasas de morbilidad y mortalidad de la enfermedad a partir de su introducción en el Programa Nacional de Vacunación Infantil en 1991³. Entre 1987 y 1989 se realizó en Cuba el estudio de fase III el que se determinó una eficacia del 83%.

En Brasil, en 6 estados se determinó en menores de 6 años, una efectividad de 75% para la enfermedad meningocócica y de 72% para la enfermedad meningocócica producida por el grupo

B. Las estadísticas del Centro de Información Epidemiológica del Municipio Río de Janeiro señalaron que la tasa de la enfermedad disminuyó en un 50% después de la aplicación de la vacuna.^{2,3}

En 1994 en Colombia se evaluó la cohorte de Itagüí vacunada 4 años antes, obteniéndose por varios métodos y previa revisión de 500 000 egresos hospitalarios una efectividad superior al 95%. Se realizan a partir de este año 12 campañas de vacunación en diferentes localidades del país.³ En Uruguay la vacunación con la vacuna antimeningocócica fue exitosa para el control del brote epidémico en el año 2001 en Canelones y Montevideo, Uruguay. Se logró reducir el número de casos en el grupo etario donde predominaban, y la disminución de los casos fatales. Durante todas las campañas y vacunación sistemática realizadas en Cuba y demás países, los eventos adversos han sido monitoreados y la vacuna ha sido considerada segura y poco reactogénica. La aplicación de la vacuna antimeningocócica ha permitido una reducción en las tasas de morbilidad y mortalidad. De una tasa inicial en 1983 de 14.3 de morbilidad y 2.1 de mortalidad por cada 100 000 habitantes, se redujo a 2.4 y 0.7 en 1991³ (a los dos años de aplicada masivamente la vacuna). Actualmente se encuentran las tasas entre 0.4 y 0.1 de morbilidad y mortalidad, respectivamente. Esta vacuna es única de su tipo contra el serogrupo B, y se ha aplicado también en Argentina, Siria, R. Dominicana, entre otros países.

Conclusiones:

- La vacuna es efectiva y protege contra la infección por los serogrupos B y C y contribuye a la prevención y control de la enfermedad meningocócica.
- La incidencia de la mortalidad y morbilidad disminuyó drásticamente con la aplicación de la vacuna.

REFERENCIAS

1. Pinder AJ, Dresner M. Meningococcal meningitis after combined spinal-epidural analgesia. *Int J Obstet Anesth* 2003; 12: 183-187.
2. WHO International Travel and Health. <http://who.int>
3. Incidencia de algunas enfermedades de declaración obligatoria. 1970-2002. Anuario. *Ministerio Nacional de Salud* 2003.

I-2

SISTEMA DE AGLUTINACIÓN CON LÁTEX PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA LEPTOSPIROSIS EN CUBA

Obregón Ana Margarita, Fernández Carmen, Rodríguez Islay, Balbis Yinia, Martínez Beatriz, Rodríguez José.
Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Ciudad de la Habana. Cuba.
e-mail: amobregon@ikp.sld.cu

Palabras clave: Leptospiriosis, diagnóstico, látex, técnica de microaglutinación (MAT), técnica de hemaglutinación (HA).

Introducción: El diagnóstico de laboratorio de la leptospiriosis, se hace muy difícil en países subdesarrollados, donde las condiciones materiales influyen y muchas ocasiones determinan la no confirmación final del caso en estudio. En el presente trabajo, se reporta por vez primera en Cuba, el diseño de un sistema látex para el diagnóstico rápido de la leptospiriosis, capaz de detectar anticuerpos específicos en muestras de sueros de humanos y animales, utilizando los serogrupos de leptospiras de mayor circulación a nivel nacional.^{1,2}

Metodología: Se realizó un estudio analítico-descriptivo, en 706 sueros humanos procedentes de 645 pacientes y 29 sueros de animales, durante el período comprendido desde el 1 de enero de 2002 y el 30 de julio de 2004. Todas las muestras fueron recibidas en el laboratorio nacional de referencia de Leptospiras, del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Fueron conjugadas partículas de látex comerciales con células completas formalinizadas de los serogrupos Icterohamorrhagiae, Canicola, Pomona y Sejroe. Se preparó adicionalmente, un conjugado de látex con la mezcla de las células de estos cuatro serogrupos a parte iguales (látex-pool). Se determinaron los parámetros de sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivos y negativos para los sistemas látex, quienes fueron además comparados con las técnicas convencionales de MAT, HA y el sistema comercial Lepto Tek Dri Dot. Fue estudiada además, la reproducibilidad y estabilidad de los sistemas látex por un periodo de 6 meses.

Resultados: Se obtuvieron 6 lotes antigénicos que presentaron entre 1.4 y 1.5×10^9 células/mL. El látex constituido por el pool, presentó el mejor comportamiento, con los valores de sensibilidad y especificidad de 93.8 y 90.4% respectivamente. El látex-pool se comportó de manera similar a la MAT, cuando se estudiaron los casos presuntivos de Leptospiriosis. Nuestro látex superó al estuche comercial Lepto Tek Dri Dot. El látex pool reconoció todos los casos positivos por MAT en los sueros de animales. Todos los látex evaluados fueron altamente reproducibles y 100% estables durante 6 meses.

Discusión: En nuestra investigación hemos demostrado que utilizando los serogrupos de Leptospiras que circulan mayormente a nivel nacional, conjugados a partículas de látex, ha permitido disponer de un sistema, que en calidad de resultados, ha igualado a los obtenidos por los métodos convencionales incluyendo el de referencia internacional y ha superado a los del estuche comercial que es empleado mundialmente. Este fenómeno posibilitó el perfeccionamiento aun más de la vigilancia de laboratorio de la enfermedad, por permitir el uso de un sistema

rápido, sencillo y útil para el tamizaje de Leptospiriosis en humanos y en animales. En esta investigación, el 80% de los casos presuntivos estudiados coincidieron por el Lepto Tek Dri Dot y el látex pool. Pudiera inferirse que el látex diseñado y evaluado en nuestras condiciones reconoce también anticuerpos totales a leptospiras. El látex pool, reconoció un alto porcentaje de casos positivos (93.3%). Reportes internacionales reflejan valores inferiores de sensibilidad y superiores de especificidad comparado con el nuestro²⁻⁶. El látex pool reconoció en un 100% de los sueros animales en estudio, en la literatura revisada no encontramos reportes relacionados a la evaluación de sueros de animales. Este constituye el primer reporte realizado en Cuba.

Conclusiones: El sistema de látex cubano utilizando los serogrupos de Leptospiras de mayor circulación en Cuba, superó en cuanto a sensibilidad, eficiencia global, reproducibilidad y estabilidad a las técnicas convencionales de MAT y HA y el estuche comercial Lepto Tek Dri Dot, estudiando sueros humanos y de animales, lo que constituye el primer reporte a nivel nacional. El látex-pool por sus óptimos resultados se recomienda como método inicial en la búsqueda de anticuerpos totales a Leptospiras en muestras de humanos y de animales.

REFERENCIAS

1. Terpstra WJ, Adler B, Ananyina J, Andre-Fontaine G, Ansdell V, Ashford DA, *et al.* *Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control*. Geneva: World Health Organization. International Society; 2001.
2. Smiths HL, Vander-Hoorn MA, Goris M, Gussenhoven GC, Yersin C, Sasaki DM, *et al.* Simple latex agglutination assay for rapid serodiagnosis of human Leptospirosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1272-1275.
3. Organon Teknika. *Lepto Tek Dri Dot: a leptospira specific immunoassay for use on human serum samples*. August 2000. Disponible en: <http://www.organonteknika.com>. Acceso el 20 de abril de 2002.
4. Ramadass P, Samuel B, Nachimuthu K. A rapid latex de agglutination test for detection of leptospira antibodies. *Vet Microbiol* 1999; 70 (1-2): 137-140.
5. Smiths HL, Howard DC, Eapen CK, Kurialose M, *et al.* Latex based, rapid and easy assay for human Leptospirosis in a single test format. *Trop Med Internat Health* 2001; 6:114-118.
6. Effler PV, Bogard AK, Domen HY, Katz AR, Higa HY, Sasaki DM. Evaluation of eight rapid screening test for acute Leptospirosis in Hawaii. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1464-1469.

I-3

ASOCIACIONES DE ALELOS HLA-C EN PACIENTES CON CÁNCER CÉRVICO-UTERINO AVANZADO Y DEFECTOS EN MOLÉCULAS DEL PROCESAMIENTO ANTIGÉNICO HLA CLASE I.

González-Franco Michele-Ek, Monroy-García Alberto, Hernández-Montes Jorge, Mora-García Ma. de Lourdes.

Unidad de investigación en Diferenciación Celular y Cáncer. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Batalla 5 de Mayo s/n Col. Ejército de Oriente. e-mail: micheleek@hotmail.com

Palabras clave: Cáncer cérvico-uterino, alelos HLA-A,B,C, HLA clase I.

Introducción: En el cáncer cérvico-uterino (CaCu), la infección por genotipos oncogénicos de virus del papiloma humano (VPH), constituye el factor de riesgo más significativo para desarrollar esta patología, por lo que la respuesta inmune del hospedero juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad.¹ Existen evidencias que indican que algunos haplotipos, HLA clase I o II, están asociados positivamente con el desarrollo del cáncer cervical invasor, por ejemplo los alelos HLA-A2, HLA-DQ3, DR5.² Asimismo, se ha reportado que ciertas alteraciones en la expresión de HLA clase I se asocia con defectos en la expresión de moléculas participantes en el procesamiento antigénico.³ No obstante poco se conoce sobre la asociaciones alélicas HLA clase I con defectos en el procesamiento antigénico.

Objetivo: Analizar las frecuencias alélicas HLA clase I en las pacientes con cáncer cervico-uterino (CaCu) avanzado y su relación con la pérdida de la expresión de las moléculas involucradas en la presentación de antígenos (LMP-2, LMP-7 y LMP-10, PA28 α y PA28 β , TAP-1 y TAP-2) en tumores de estas pacientes.

Metodología: Se utilizó sangre periférica y biopsias tumorales de 100 pacientes con cáncer cervico-uterino y muestras sanguíneas de 100 donadoras sanas sin evidencia de lesiones cervicales.

Se utilizó la técnica de microcitotoxicidad para tipificar los alelos HLA clase I en linfocitos T CD3+ de sangre periférica de pacientes y donadoras normales, empleando placas Terasaki (One lambda USA). La amplificación de segmentos de las moléculas TAP1, TAP2, LMP2, LMP7, LMP10, PA28 α y β se hizo por la técnica de RT-PCR. Para realizar los análisis estadísticos de las frecuencias alélicas de cada locus, se utilizó la chi cuadrada exacta de Fisher, con intervalos de confianza al 95%.

Resultados: Los resultados obtenidos nos muestran que los alelos más frecuentes en ambos grupos fueron HLA-A2, -B35 y -Cw4; el alelo HLA-Cw10 fue más frecuente en las pacientes con CaCu versus mujeres sanas. Al analizar las asociaciones alélicas en ambos grupos, encontramos que las asociaciones de HLA-

B39, -B35, -A3, -A24 y -A1 con el alelo HLA-Cw7 y los alelos HLA-A1 y -B39 con HLA-Cw4, fueron por lo menos dos veces más frecuentes en las donadoras sanas. En el análisis de las moléculas del procesamiento antigénico en tumores de estas pacientes encontramos que TAP-1, TAP-2 y LMP10 estuvieron ausentes en un 37, 43, y 47% respectivamente, además de que estas pacientes presentaron una baja frecuencia de las asociaciones alélicas antes mencionadas.

Discusión: Varios estudios han mostrado que péptidos derivados de proteínas virales son frecuentemente presentados por los alelos HLA-B35 y -B39.⁴ Asimismo los alelos HLA-Cw4 y Cw7 también han sido caracterizadas por presentar antígenos tumorales.⁵

Conclusiones: Por lo encontrado en los resultados se sugiere que las asociaciones alélicas: HLA-B39, -B35, -A3, -A24 y -A1 con el alelo HLA-Cw7 y los alelos HLA-A1 y -B39 con HLA-Cw4 pueden ser protectoras contra el CaCu.

REFERENCIAS

1. Alonso P, Lazcano E, Hernández M. *Cáncer cervicouterino, diagnóstico, prevención y control*. México: Editorial Médica Panamericana; 2000.p. 3-9.
2. Silva B, Vargas G, Zúñiga J, Rodríguez T, Hernández B, Osnaya N, *et al*. Genetic features of Mexican women predisposing to cancer of the uterine cervix. *Hum Pathol* 1999; 30: 626-628.
3. García-Lora A, Algarra I, Garrido F. MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape. *J Cell Physiol* 2003; 195: 346-355.
4. Marsh S, Parham P, Barber L. *The HLA facts books: Factsbook Series*. London; 2002.p.7-56.
5. Ríos A, Rodríguez JM, Moya MR, Galindo PJ, Cariteras M, Alvarez MR, *et al*. Frequency of HLA-C alleles in differentiated thyroid carcinoma in southeastern Spain, HLA-Cw7 as a Poor Prognosis Factor. *American Cancer Society* 2004; 100: 264-269.

I - 4

DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS NO ÓRGANO ESPECÍFICOS Y ÓRGANO ESPECÍFICOS EN PACIENTES CON HEPATITIS C

Asín Odalis,¹ Muñiz Mabel.²

¹Departamento de Bacteriología-Micología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Autopista Novia del Mediodía Km. 6 1/2. PO BOX 601 Marianao 13. Lisa Ciudad Habana, Cuba. ²Laboratorios BETERA. Calle 102 % 31 y 31B. e-mail: oasin@ipk.sld.cu

Palabras clave: VHC, autoanticuerpos, autoinmunidad.

Introducción: El virus de la hepatitis C (VHC) fue descubierto y caracterizado en 1989, es un virus ARN de aproximadamente entre 30 y 34 nm perteneciente a la familia de los Flavivirus. Está formado por una envoltura externa de lipoproteínas que rodea una cápside nuclear proteica en cuyo interior se encuentra el material genético.¹ Este virus es el único agente responsable de la hepatitis no A no B de transmisión parenteral, se caracteriza clínicamente por ser poco aparente pero con una marcada tendencia a la cronicidad, es el responsable del 90% de las hepatitis postransfusionales.² Este virus ha sido frecuentemente asociado con la presencia de anticuerpos órgano específicos y no órgano específicos en el suero de pacientes enfermos por lo que nos propusimos estudiar a antiguos donantes de plasmaferesis que habían contraído esta enfermedad.

Metodología: Se estudiaron seis pacientes antiguos donantes de plasma del banco de sangre de Marianao con diagnóstico molecular, serológico e histológico de hepatitis C. Como controles se estudiaron los sueros de 18 individuos supuestamente sanos donantes de sangre del mismo centro a los cuales se realizaron además los estudios serológicos para descartar positividad a hepatitis C y B así como al VIH.

Para la detección de los autoanticuerpos antinucleares (ANA), anti ADN de doble cadena (ADN_{ds}), anticuerpos antimúsculo liso (ASMA), anticuerpos anticélulas parietales (APCA), anticuerpos antitiroideos (ATA) anticuerpos anticélulas β de los islotes pancreáticos (ICA), anticuerpos antimitocondriales (AMA), se utilizaron reactivos comerciales Biosystem. Para el procesamiento estadístico se empleó el programa informático SYSTATISTICA 4.2 y se escogió 5% como nivel de significancia estadística ($p=0.05$).

Resultados y discusión: Al evaluar la posible afectación sistémica en la hepatitis C mediante la correlación de ANA y anti ADN_{ds} en pacientes y en controles no encontramos resultados significativos para los ANA ($p=0.15$) ni para los

ADN_{ds} ($p=0.40$). Cuando comparamos la presencia de autoanticuerpos específicos de órganos en pacientes y controles encontramos que los ATA, APCA e ICA no mostraron reactividad positiva.

Los AMA y ASMA sí mostraron reactividad positiva en pacientes y controles y existió una diferencia altamente significativa ($p<0.0001$) entre ambos grupos.

Los ASMA se han observado en 20 – 30 % de los pacientes con hepatitis C, raramente se han encontrado AMA en estos casos.³

Se ha postulado que los agentes infecciosos pueden inducir autoinmunidad mediante dos mecanismos fundamentales: 1. Efecto directo (mimetismo molecular), 2. Efecto indirecto (activación de células T y B auto reactivas).

A pesar de que estudios clínicos y epidemiológicos han establecido la asociación entre la hepatitis C y la autoinmunidad no se han definido criterios concretos válidos para diferenciar entre la autoinmunidad asociada a virus y la enfermedad autoinmune genuina.

Conclusiones: Por todo lo anteriormente expuesto concluimos que estos autoanticuerpos pudieran estar relacionados con esta enfermedad y probablemente constituyan un fenómeno secundario a la lesión tisular que se produce en ella apareciendo como consecuencia y no como causa de la hepatitis C.

REFERENCIAS

1. Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Monabe S, Murakami S, Fujita J, *et al.* Structure and organization of the virus genome isolated from human carriers. *J Virol* 1999; 65: 1105-1113.
2. Rizeto M, Feinstone SM, Bonino F, Brunnetto MR, Baldi M, Rassam SW, *et al.* Hepatitis C. *Europ J Gastroenterol Hepatol* 2000; 3: 569-606.
3. Vogel A, Manns MP, Sbrassburg CP. Autoimmunity and viruses. *Clinic in liver disease* 2002; 6: 3261 -3267.

I-5

EFECTO DE LA TRIPSINA EN LOS NIVELES DE RECEPTORES DE ACTIVACIÓN EN CÉLULAS NK

Figueroa-Robles Víctor H, Del Toro-Arreola S, Del Toro-Arreola A, Ramírez-Dueñas G, Albarrán-Somoza B, Daneri-Navarro A. Laboratorio de Inmunología, CUCS, UdeG. e-mail: victor.figueroa@cucs.udg.mx

Palabras clave: Cáncer, tripsina, células NK

Introducción: El cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo, donde las enzimas proteolíticas juegan un papel fundamental en los procesos de invasión y metástasis de las células tumorales.¹ Algunos reportes muestran que la concentración de tripsina está aumentada y que correlaciona con el grado de malignidad en muchos tumores.²

Por otro lado, las células NK, como parte de la respuesta inmunológica, son importantes en el control de las infecciones por virus y de células tumorales. Su actividad está regulada por receptores de inhibición y activación.³ Sin embargo, se desconoce si la expresión de los receptores de activación NKp30, 2B4 y NKp80 en la superficie celular son modificados por la tripsina.

Objetivo: Evaluar el efecto de la tripsina en la expresión de NKp30, 2B4 y NKp80 en la superficie de células NK.

Metodología: Se obtuvieron 20 mL de sangre periférica en tubos con EDTA de 5 individuos sanos, se separaron células mononucleares con Ficoll-Hypaque (Sigma, EU). Se formaron cuatro grupos: el primero sin tripsina, el segundo con diferentes concentraciones de tripsina (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3 y 3.6 $\mu\text{g/mL}$), el tercero con tripsina mas un inhibidor específico para tripsina (aprotinina 15 $\mu\text{g/mL}$) y el último grupo 15 $\mu\text{g/mL}$ de aprotinina. Las células fueron cultivadas en medio RPMI-1640 por 6 horas. Se realizó una tinción indirecta utilizando anticuerpos para NKp46, NKp30, NKG2D, 2B4, NKp80 y se utilizó un anticuerpo secundario marcado con FITC; por último se combinó con el método directo utilizando anti-CD3-PC5 y anti-CD56-PE. Las muestras fueron analizadas en un citómetro de flujo EPICS-XL marca Coulter. El análisis estadístico se realizó con SPSS v. 10.0.

Resultados: Se obtuvieron diferentes grados de susceptibilidad al corte proteolítico por tripsina de los receptores de activación. Los receptores NKp80, 2B4 y NKp30 fueron los más susceptibles con diferencia significativa ($p < 0.01$) entre el grupo control y el sometido a diferentes concentraciones de tripsina. Además, pudimos observar que el marcador de superficie para células NK CD56 también mostró susceptibilidad a

concentraciones mayores de 0.4 $\mu\text{g/mL}$ con diferencia significativa ($p < 0.01$). La especificidad del corte proteolítico por tripsina quedó demostrada al no modificarse la expresión en la superficie celular tanto del marcador como de los receptores de activación al incubar con aprotinina.

Discusión: Si bien es cierto que las enzimas proteolíticas participan en muchos procesos normales, un desbalance en su concentración puede ocasionar diferentes alteraciones como la invasión y metástasis de células tumorales. Se ha demostrado que la tripsina mantiene una correlación directa con el grado de malignidad. Nosotros encontramos que además de esto, células que participan en la repuesta inmune como las NK también son afectadas. Haber encontrado que los receptores NKp30, 2B4, CD56 y NKp80 son modificados por tripsina, indica que seguramente en el microambiente existe una baja respuesta contra células tumorales mediada por NK. Sin embargo, es importante señalar que hace falta evaluar otros receptores de células NK como NKp46 y NKG2D que están directamente involucrados en su citotoxicidad.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que la tripsina podría jugar un papel muy importante en la evasión tumoral. El uso de inhibidores específicos para tripsina podría ser un blanco más para la inmunoterapia del cáncer.

REFERENCIAS

1. Nishikawa M, *et al.* NS-398 inhibits tumor growth and liver metastasis of colon cancer through induction of apoptosis and suppression of the plasminogen activation system in a mouse model. *J Am Coll Surg* 2004; 199:428-435.
2. Kato Y, *et al.* Production of trypsin by human gastric cancer cells correlates with their malignant phenotype. *Eur J Cancer* 1998; 34:1117-1123.
3. Moretta L, Bottino C, Pende D, Mingari MC, Biassoni R, Moretta A. Human natural killer cells: their origin, receptors and function. *Eur J Immunol* 2002; 32: 1205-1211.

I-6

EXPERIENCIA DEL LABORATORIO DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN EL PROTOCOLO DE TRASPLANTE DE RIÑÓN DE DONADOR VIVO RELACIONADO DE 1991 AL 2004 EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO, SSA.

Delgado-Ochoa Ma de los Dolores¹, Vidal-Saucedo Fernando¹, Núñez-Farfán Rosa Ma¹, Piña-Olvera Víctor¹, Rivero-Aviles Araceli J¹, González Armando², Bazán-Borges Andrés J.²

¹Laboratorio de Histocompatibilidad de la Unidad de Investigación. ²Servicio de Trasplante Renal del Hospital Juárez de México, SSA.

Palabras clave: Trasplante renal, antígenos leucocitarios del humano, donación.

Introducción: El tratamiento de elección para los pacientes que presentan enfermedad renal en fase terminal es el trasplante renal. En la actualidad, la cantidad de donadores cadavéricos es menor que los receptores renales,¹ por tal motivo se realiza el protocolo de donación vivo relacionado (padres, hermanos y tíos), así mismo el vivo emocionalmente relacionado (esposa y esposo), para llevar a cabo lo anterior es necesario realizar la prueba cruzada (PC) donde se busca si el receptor contiene anticuerpos contra el donador, además de gran importancia la tipificación de los antígenos leucocitarios del humano (HLA) clases I y II. Los HLA son una serie de proteínas hereditarias en la superficie celular que contribuyen al rechazo del trasplante, los genes que codifican dichas proteínas se encuentran en los cromosomas 6 y 15. El HLA clase I esta compuesto por A, B, C y la clase II por DR, DQ y DP.²

En el trasplante, la compatibilidad de las moléculas HLA del donante y del receptor permite el reconocimiento directo de dichas moléculas del donante y sus péptidos por las células T del receptor. Los haplotipos habitualmente se heredan intactos de cada uno de los padres, aunque en el 2% de los descendientes se produce un entrecruzamiento entre los locus A y B, lo que genera un haplotipo nuevo.³

Objetivo: Realizar un análisis retrospectivo de los estudios de histocompatibilidad efectuados a parejas receptor/donador (R/D) de trasplante renal vivo relacionado durante el periodo comprendido de 1991 al 2004.

Metodología: Se estudiaron 104 parejas receptor/donador durante el periodo de 1991 al 2004, realizándoseles PC a 4°C y 37°C. La tipificación de los HLA clase I y II se realizaron por medio de serología, con 19 sueros de A, 37 sueros de B, 22 sueros de DR, 7 sueros de DQ (placas Pel Freez y GTI).

Resultados: Se obtuvo resultado negativo en todas las PC de los 104 pacientes. Los receptores tenían una edad promedio de 28.5 años; los grupos sanguíneos (GS) encontrados fueron: O+ (68%), A+ (19%), B+ (7.5%), O- (0.9%) y AB+ (0.9%), el 64% fueron hombres. Los donadores presentaron una edad promedio de 37.5 años; GS, O+ (73%), A+ (19%), B+ (5%) y O- (0.9%), el donador de sexo masculino correspondió al 53%

y para el sexo femenino el 45%. Los alelos que compartieron las parejas R/D fueron del 0.94% para 0 alelos, 2.8% para 1 alelo, 7.5% para 2 alelos, 26.4% para 3 alelos, 25.5% para 4 alelos, 15.0% para 5 alelos, 3.7% para 6 alelos, 4.7% para 7 alelos y 6.6% para 8 alelos. La relación familiar que presentaron los donadores con respecto a los receptores fue: 29.2% hermanos, 19.8% hermanas, 19.8% madre, 12.2% padre, para hija, tío y esposo es del 2.8%, para esposa y cuñado del 1.8%, para hijo, tía, primo, cuñada y sobrina del 0.94%. De los receptores transplantados el 15% de ellos fallecieron y el 6.6% perdieron el órgano transplantado.

Discusión: El GS con mayor frecuencia de R/D fue el O+, no hay que olvidar que estos donadores son universales y el sexo masculino es el que presenta mayor demanda para trasplante renal. La mayor relación de compatibilidad de alelos se encuentra entre 3 y 4 alelos, se observó que a mayor compatibilidad de 7 y 8 alelos se tiene una mejor aceptación del órgano transplantado, esto se demuestra ya que se tienen 7 hermanos con una compatibilidad de 8 alelos idénticos en los cuales los receptores conservan el órgano en buen estado. En el presente trabajo se observa que se presenta mayor frecuencia para donar riñón en los parientes relacionados es decir hermanos, hermanas, padre y madre, no olvidando los parientes emocionalmente relacionados como esposos y cuñados. De los receptores que fallecieron fueron por causa de infección, ya que están tratados con inmunosupresores, los cuales bajan la respuesta inmune volviéndolos susceptibles a infecciones.

Conclusiones: Las técnicas utilizadas para la determinación de la PC y la tipificación de HLA clase I y II son adecuadas, pudiéndose mejorar al implementarse las técnicas de biología molecular (PCR). La mortalidad es baja esto significa que el protocolo de trasplante se lleva con éxito.

REFERENCIAS

1. Danovitch GM. *Trasplante renal*. 3° ed. España: Marben; 2002.
2. Kissmeyer-Nielsen J. *Histocompatibility techniques*. Holanda: Elsevier; 1979.
3. Kuby J. *Immunology*. 4° ed. New York: Freeman and Co; 2002.

I - 7

ACTIVACIÓN DE MACRÓFAGOS DE LA CAVIDAD PERITONEAL DE RATONES POR LA PRESENCIA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LIPOSOMAS

Corona-Ortega María Teresa,¹ Ibáñez-Hernández Miguel,² Baeza-Ramírez Isabel,² Aguilar-Santelises Leonor,¹ García del Valle Araceli,¹ Weiss-Steider Benny,¹ Rangel-Corona Rosalva.¹

¹ Laboratorio de Oncología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. ² Laboratorio de Biomembranas de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, 15000, D.F. Apoyo de DGAPA, PAPIIT IN216502, e-mail: tcvaldes@servidor.unam.mx

Palabras clave: Liposomas, cavidad peritoneal, macrófagos.

Introducción: Como parte de un proyecto de investigación encaminado a encontrar una estrategia terapéutica para el cáncer cervicouterino, nuestro grupo de trabajo se propone utilizar interleucina-2 (IL-2) encapsulada en liposomas para el tratamiento de tumores inducidos en la cavidad peritoneal de ratones. La utilización de liposomas es una estrategia para evitar los efectos tóxicos colaterales de la citocina y para hacerla llegar con mayor facilidad a las células blanco. Previamente se ha evaluado el efecto de diferentes formulaciones de liposomas vacíos y con 100 UI/mL de IL-2 en líneas celulares de carcinoma de cérvix (CaCU), observando un efecto inhibidor de la proliferación¹ y una predilección de las células epiteliales tumorales por una formulación catiónica. En un futuro se pretende aplicar esta alta concentración de IL-2 protegida en liposomas utilizando como modelo la inducción de tumores en la cavidad peritoneal de ratones; como una fase previa, en el presente trabajo se evaluó la activación de los macrófagos peritoneales en respuesta a la presencia de diferentes concentraciones de liposomas vacíos.

Metodología: Para la preparación de los liposomas se utilizaron 10 μ mol/mL de lípidos de cada formulación. Se obtuvieron macrófagos peritoneales de ratones, se enriquecieron las poblaciones *in vitro* y se dejaron estabilizar los cultivos por 24 horas. Se agregaron diferentes volúmenes de liposomas en las cajas, se dejaron interactuar por dos horas, se lavaron las cajas y se continuó el cultivo por dos días más. Posteriormente se evaluó la activación de los macrófagos mediante la detección de la aparición de receptores para la porción Fc de la Inmunoglobulina G, utilizando eritrocitos de carnero opsonizados y cuantificados por una técnica colorimétrica estandarizada utilizando ortodifelinamina como cromóforo.

Resultados y discusión: Los resultados mostraron una ligera activación de los macrófagos en presencia de bajas concentraciones de liposomas de formulación neutra, mientras que ninguna

activación e incluso un efecto tóxico en presencia de altas concentraciones de estas partículas. Por su parte, los liposomas de formulación catiónica no causaron ningún efecto. Lo anterior cobra importancia debido, en primer lugar, a que la formulación catiónica encapsulando IL-2 es la que ha causado un mejor efecto inhibidor de la proliferación de las células tumorales, y en segundo a que la formulación catiónica utilizada es natural, en contraste con otras utilizadas para encapsular IL-2.² Los resultados obtenidos indican que los macrófagos no son afectados por nuestros liposomas, lo que implica que existe la posibilidad de que los acarreadores no serían fagocitados por macrófagos³ al utilizarlos posteriormente como acarreadores de la Interleucina-2 *in vivo*.

Conclusiones: El hecho de encontrar evidencias de que los liposomas catiónicos podrían interaccionar libremente con sus células blanco es un avance para encontrar las condiciones ideales para evaluar la acción de la citocina encapsulada para el tratamiento de tumores inducidos en la cavidad peritoneal de ratones, paso preliminar para en un futuro llegar a una posible aplicación tópica de IL-2 protegida en liposomas para el tratamiento del cáncer cervicouterino.

REFERENCIAS

1. Ayala-Alpuche A. *Efecto de diferentes formulaciones de liposomas sobre la proliferación de células de CaCU*. Tesis Licenciatura; 2004.
2. Pelleque Y, Ollivon M, Barrat G. Methodology for assaying recombinant IL-2 associated with liposomes by combined gel exclusion chromatography and fluorescence. *J Chrom B* 2003; 783: 151-162.
3. Van Roijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages. *Immunol Meth* 1994; 174: 83-93.

I-8

LOCALIZACIÓN DE LIPOSOMAS EN EL TRATAMIENTO DE TUMORES INDUCIDOS EN RATONES SINGÉNICOS

Corona-Ortega María Teresa,¹ Ibáñez-Hernández Miguel,² Baeza-Ramírez Isabel,² Aguilar-Santelises Leonor,¹ García del Valle Araceli,¹ Weiss-Steider Benny,¹ **Rangel-Corona Rosalva.**¹

¹ Laboratorio de Oncología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. ² Laboratorio de Biomembranas de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, 15000, D.F. Apoyo de DGAPA IN216502, e-mail: tcvaldes@servidor.unam.mx

Palabras clave: Liposomas, carcinoma de cérvix, Interleucina-2.

Introducción: La interleucina 2 (IL-2) es una citocina muy importante involucrada en la activación de la respuesta inmune. Se ha utilizado sola o combinada en el tratamiento de diversas formas de cáncer. Aunque su aplicación es alentadora, su uso es limitado debido a sus fuertes efectos colaterales. Nuestro grupo de trabajo se propone utilizar IL-2 encapsulada en liposomas para el tratamiento de tumores inducidos en la cavidad peritoneal de ratones. La utilización de liposomas es una estrategia para evitar los efectos tóxicos de la citocina y para hacerla llegar con mayor facilidad a las células blanco. Previamente se ha evaluado el efecto de diferentes formulaciones de liposomas vacíos y con 100 UI/mL de IL-2 en líneas celulares de carcinoma de cérvix (CaCU), observando un efecto inhibitorio de la proliferación¹ y una predilección de las células epiteliales tumorales por una formulación catiónica. Además hemos implementado un modelo de inducción de tumores en ratones mediante la inyección de células de CaCu en la cavidad peritoneal de ratones singénicos.^{2,3} En el presente trabajo preliminar, se aplicaron liposomas catiónicos vacíos para evaluar la posible interacción de las partículas con los tumores inducidos en los diferentes días de tratamiento.

Metodología: Se utilizaron ratones singénicos de la cepa CBA, se inmunodeprimieron utilizando hidrocortisona, se les inyectaron las células tumorales, se continuó la inmunodepresión en un tiempo total de seis semanas y posteriormente se aplicó un tratamiento con liposomas vacíos. Cada día de tratamiento se sacrificaron lotes de ratones para extraer los tumores, fijarlos, postfijarlos e incluirlos en resina para proceder a cortarlos y contrastarlos para su evaluación en microscopía electrónica. Adicionalmente se prepararon liposomas catiónicos vacíos para su observación en microscopía electrónica.

Resultados y discusión: La observación de las microfotografías demuestra la clara localización de los liposomas interaccionando con las células tumorales, debido a que dichas partículas se arreglan en el espacio de una forma particular plenamente caracterizada en las preparaciones de liposomas catiónicos solos. Los resultados cobran importancia debido a la necesidad de detectar a las partículas cuando se aplique tratamiento con altas concentraciones de IL-2 encapsulada en dichos liposomas.

Conclusiones: Los presentes resultados preliminares forman parte de un proyecto de investigación encaminado a encontrar una estrategia terapéutica para el cáncer cervicouterino. Nuestro grupo de trabajo se propone utilizar Interleucina-2 encapsulada en liposomas para el tratamiento tópico del cáncer cervicouterino en mujeres mexicanas. El hecho de poder caracterizar y localizar los liposomas conteniendo IL-2 nos facilitará los posteriores trabajos de farmacocinética necesarios para lograr nuestra meta.

REFERENCIAS

1. Ayala-Alpuche, A. *Efecto de diferentes formulaciones de liposomas sobre la proliferación de células de CaCU*. Tesis Licenciatura; 2004.
2. Rangel R, *et al*. Inducción a la proliferación y citotoxicidad de linfocitos de sangre periférica con anticuerpos biespecíficos. *Hematología* 2002; 2: 3-12.
3. Morán H, *et al*. *Effect of IL-2 entrapped into liposomes on proliferation on cervical cancer cell lines CALO and INBL*. 18th UICC International Cancer Congress, Oslo, Noruega; 2002.

I-9

ANTÍGENOS HLA CLASE I EN PACIENTES CON ANTECEDENTES DE INFARTO DEL MIOCARDIO. ESTUDIO PRELIMINAR

García Igrid,¹ Negrín JE,² Agramonte S.³

¹Grupo de Bioquímica. Centro e Investigación y Desarrollo de Mediamentos (CIDEM). Ave 26 y Boyeros, Ciudad de la Habana. ² Servicio de Medicina Interna. Hospital CQ "Hermanos Ameijeiras". ³ Servicio de Cardiología. Hospital CQ "Joaquín Albarrán". e-mail: igprod@infomed.sld.cu.

Palabras clave: Sistema HLA, infarto al miocardio, haplotipos.

Introducción: En la actualidad los polimorfismos genéticos están considerados como los nuevos factores de riesgo para la enfermedad coronaria.^{1,2} Dentro de estos genes o grupos de genes podría estar implicado el sistema HLA como elemento de reconocimiento de la respuesta inmune, pudiendo sus antígenos ser utilizados como marcadores genético de susceptibilidad para esta enfermedad.³ El objetivo de este trabajo es determinar si existe asociación entre el infarto agudo del miocardio y el sistema HLA Clase I.

Metodología: Se estudió una muestra de 30 pacientes masculinos entre 39 y 70 años con antecedentes de infarto al miocardio y factores de riesgo ateroesclerótico (hipertensión arterial, obesidad y/o hábito de fumar) y 134 controles, a los que se les realizó la determinación serológica HLA Clase I por el método de microlinfocitotoxicidad en dos pasos modificado para doble fluorescencia (Sistema Patimed-Leica).⁴ Se calcularon las frecuencias antigénicas,⁵ determinándose la diferencia entre los grupos con la prueba χ^2 considerando como significancia estadística un valor de $p < 0.05$. Se calculó la razón de momios para padecer la enfermedad con aquellos antígenos o haplotipos que resultaron significativamente diferentes (GraphPAD InStat. Ver 1.15, 1990).

Resultados y discusión: Se encontró asociación entre haber sufrido infarto al miocardio – sistema HLA clase I. Preliminarmente los antígenos más frecuentes y significativos en los pacientes ($p < 0.05$) en comparación con los controles fueron HLA-B16, HLA-A9 y HLA-A10. Para el mismo nivel de significancia estadística el haplotipo bi-locus más frecuente fue

A9-B16, el cual fue corroborado con el análisis de independencia y asociaciones antigénicas ($p = 0.0009$). No se encontró diferencia significativa entre los pacientes HLA-B16 positivos y negativos y la hipertensión arterial, la obesidad y el hábito de fumar.

Estos resultados sugieren preliminarmente que el sistema HLA pudiera estar relacionado en la etiología de la enfermedad coronaria, por la presencia de moléculas HLA específicas que, expresadas sobre la superficie de la célula muscular lisa, podrían ser las responsables de la respuesta inmune generada a este nivel debido a la presentación de ciertos péptidos que pudieran ser considerados como aterogénicos.

Conclusiones: Se encontró preliminarmente que el haplotipo HLA-A9-B16 está asociado al infarto al miocardio.

REFERENCIAS

1. Walter DH, Zeiher AM. Genetic risk factors for myocardial infarct. *Herz* 2000; 25: 7-14.
2. Navarro-López F. Genes and coronary heart disease *Rev Española Cardiol* 2002; 55: 413-431.
3. Dogan Y, Ural D, Domanic N, Yilmaz E Relation of HLA antigens and myocardial infarction. *Anadolu Kardiyol Derg* 2001; 1:80-84.
4. Bruning JW, Douglas R, Scholtus M, Van Rood J.J. Automatic reading and recording of the microlymphocytotoxicity test. *Tissue Antigens* 1972; 2: 473-477.
5. Arlequin Software. Excoffier 1995-1998/ Geneva University/ Anthropology Unit.

I-10

ALGUNOS PARÁMETROS DE LA INMUNIDAD CELULAR Y HUMORAL EN PACIENTES CON
PIODERMITIS RECIDIVANTESSánchez Lucrecia,¹ García Mireya,² Castro Bernardo,³ Martén Isabel.¹¹ Hospital General Clínico Quirúrgico Santiago, Santiago de Cuba, Cuba. ² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba. ³ Centro Regional TecnoSuma Oriente Sur, Santiago de Cuba, Cuba.**Palabras clave:** Inmunidad, piodermitis, recurrencia.

Introducción: Por su constitución histoquímica la piel es un medio adecuado para el desarrollo de las bacterias. Para que la enfermedad se produzca es necesario que haya interacción entre el microorganismo y el huésped.¹

Objetivo: Evaluar las alteraciones de la inmunidad humoral y celular que se observan en pacientes con piodermitis recidivante.

Metodología: Se estudiaron 20 pacientes con piodermitis recidivante y 20 individuos como grupo control con edades entre 18 y 50 años, sin distinción de sexo y raza, atendidos en la consulta de Dermatología e Inmunología. A toda la muestra objeto de la investigación se les realizó conteo total de leucocitos, rosetas espontánea y activa, índice opsonofagocítico, cuantificación de Inmunoglobulina G, e inmunocomplejos circulantes (ICC). Se calcularon las medias, desviación estándar (DS) y los intervalos al 95 % de confianza.

Resultados: Se observaron valores de rosetas en el rango normal al igual que la cuantificación de inmunoglobulinas e ICC, el porcentaje de los valores del índice opsonofagocítico de los pacientes con piodermitis fue significativamente más bajo que en los del grupo control ($p < 0.01$).

Discusión: Otros autores²⁻⁴ reportan hallazgos similares. Brenneis et al (1993)² al estudiar 240 pacientes con infección persistente o recurrente encontraron valores normales de inmunoglobulinas y complemento, así como el conteo de linfocitos y la estimulación por mitógenos. La localización y tipo de las lesiones coincide con lo reportado por la Thomas et al.⁵ A causa de factores diversos como el uso de antibióticos y desórdenes metabólicos presentes se hace difícil poder demostrar

evidencias de la función alterada a nivel de fagocitosis o la quimiotaxis,^{2,6} por lo que sugerimos realizar estudios en períodos fuera de tratamiento. La utilidad de este trabajo reside en la integración de la evaluación de los datos *in vitro* en el contexto de los eventos clínicos, los parámetros inmunológicos y la terapia impuesta.

Conclusiones: Las complejas interacciones entre células y mecanismos inmunes que participan en la defensa del huésped a la infección poseen mayor relevancia que lo esperado dentro de las infecciones piógenas de la piel, por lo que el estudio de estos fenómenos puede esclarecer su patogenia y la esencia del trastorno inmune.

REFERENCIAS

1. Abbas AK, et al. *Inmunología celular y molecular*. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana; 1999. p. 13, 309-329
2. Brenneis H, et al. Chemotaxis of polymorphonuclear neutrophils (PMN) in patients suffering from recurrent infection. *Euro J Clin Invest Germany* 1993; 23: 693-698.
3. Hill HR, et al. Clinical disorders of leukocyte functions. *Contemp Top Immunobiol* 1984; 14: 345-393.
4. Rodríguez-Molina M. Función fagocítica y niveles de linfocitos T en pacientes con infecciones cutáneas frecuentes. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoterapia* 1987; 3: 315-324.
5. Thomas B, Fitzpatrick MD, et al. *Atlante di Dermatologia Clinica*. Edizione Italiana. Roma: Stefano Veraldi; 2001. p. 586-615.
6. Van Scoy RE, et al. Familial neutrophil chemotaxis defect, recurrent bacterial infections mucocutaneous candidiasis and hyperimmunoglobulinemia E. *Ann Intern Med* 1985; 82: 766.

M-1

ACTIVIDAD ANTIPLASMODIO DE *Heliopsis longipes* Y *Acmella radicans*

Hernández-Morales Alejandro,¹ Ramírez-Estudillo María del Carmen,² Hernández-Rivas Rosaura,² Molina-Torres Jorge.¹

¹ Departamento de Biotecnología y Bioquímica del CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato Km. 9.6 Libramiento Norte Irapuato-León, Apartado Postal 629 CP 36630, Irapuato, Guanajuato, México, Fax: 014626245996; e-mail: aldolasa@yahoo.com.mx

² Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV-IPN, Unidad Zacatenco, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508 Col. San Pedro Zacatenco, 07360 México, D.F. Apartado postal 14-740, 07000 México, D.F.

Palabras clave: *Heliopsis longipes*, *Acmella radicans*, Alcamidas, *Plasmodium falciparum* FCR3.

Introducción: El paludismo, parasitosis humana de mayor importancia en el mundo, tiene altas tasas de morbilidad y mortalidad. Esta enfermedad afecta principalmente a los países más pobres de las regiones tropicales. La rápida diseminación de la resistencia del parásito a los fármacos antipalúdicos presenta una amenaza, aunado a esto se están agotando rápidamente las opciones de tratamiento efectivo y el descubrimiento de nuevos fármacos no van al paso. Por esta razón surge la necesidad de buscar nuevos fármacos efectivos contra el parásito. En la búsqueda de nuevos compuestos antipalúdicos ha tomado especial interés el dirigido al estudio de plantas medicinales. En este trabajo se determinó la actividad antipalúdica *in vitro* de alcamidas aisladas de *H. longipes* y *A. radicans* contra *P. falciparum* FCR3.

Metodología: Raíces de *H. longipes* y cabezuelas florales de *A. radicans* se maceraron en etanol durante una semana. Los extractos etanólicos fueron fraccionados mediante cromatografía en columna. Las fracciones que mostraron compuestos de interés se purificaron mediante cromatografía en capa fina. Los compuestos puros se identificaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Para los bioensayos se evaluaron dosis de 2, 4, 8, 16, 20, 25, 30 y 35 µg/mL de cada compuesto puro en un cultivo de *P. falciparum* FCR3 a una parasitemia del 2% y un hematócrito del 5%.^{1,2} Se realizaron 3 repeticiones de cada tratamiento, más un control negativo con etanol y un control positivo con pirimetamina, y se incubaron a 37° C. A las 24 y 48 h se realizaron frotis, se tiñeron con Giemsa y se observaron en microscopio para cuantificar la parasitemia. Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple. La dosis letal media (DL₅₀) se determinó por análisis de regresión no lineal.

Resultados y discusión: De *H. longipes* se purificaron dos compuestos alifáticos; la alcamida (1) *N*-isobutil-2*Z*-ene-8, 10-diin-undecamida DL₅₀ 17.02 µM y el éster (2) 2*E*,6*Z*,8*E*-

decatrienoato de bornilo DL₅₀ 52.98 µM. De *A. radicans* se aislaron dos alcamidas aromáticas; (3) *N*-(2-feniletil)-3 fenil-2-propenamida DL₅₀ 12.64 µM, (4) *N*-(2-feniletil)-2*E*,4*Z*-octadienamida DL₅₀ 12.75 µM. Como control positivo (5) Pirimetamina DL₅₀ 12.00 µM.

Los trofozoitos y esquizontes de *P. falciparum* FCR3 fueron los más susceptibles a los compuestos evaluados, se observó daño a nivel de membrana parasitófora. Los compuestos evaluados mostraron buena actividad contra *P. falciparum* FCR3. De los dos compuestos alifáticos aislados de *H. longipes*, la alcamida (1) mostró mejor actividad que el éster (2), esto debido a la presencia del grupo *N*-isobutil, mayor longitud de cadena y presencia de triples ligaduras. Por otro lado las alcamidas aromáticas de *A. radicans* (3) y (4) presentaron actividad similar, sin embargo el compuesto (3), que posee dos grupos aromáticos presenta una actividad ligeramente mayor. Finalmente resulta interesante comparar la actividad de estos últimos compuestos con el control positivo (5) usado en la práctica médica. Lo que sugiere el potencial de las alcamidas de *A. radicans* para su utilización práctica.

Conclusiones: Los resultados obtenidos nos indican que las alcamidas poseen actividad biocida contra *P. falciparum* FCR3. Así mismo las alcamidas aisladas de *A. radicans* (3) y (4) parecen tener un potencial biocida mayor en comparación con las alcamidas de *H. longipes* (1) y (2).

REFERENCIAS

1. Trajer W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 1976; 193: 673-675.
2. Gupta S, Tapar M, Mariga ST, Wernsdorfer WH, Björkman A. *Plasmodium falciparum*: *in vitro* interactions of Artemisin with Amodiaquine, Pyronaridine, and Chloroquine. *Exp Parasitol* 2002; 100: 28-35.

M-2

ESTRUCTURA ELECTRÓNICA Y PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL
PÉPTIDO CIS-ASN-SER COMPONENTE DEL FACTOR ANTI-INFLAMATORIO
FILM DE *Entamoeba histolytica*

Soriano-Correa Catalina¹, Sánchez-Ruiz Juan Francisco,¹ Rico-Rosillo Guadalupe,² Giménez-Scherer Juan Antonio,² Morales-Martínez María Esther,² Kretschmer-Schmid Roberto R.²

¹Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, Carrera de Q.F.B.-UNAM. ²Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F. e-mail: csorico@yahoo.com.mx

Palabras clave: Estructura electrónica, anti-inflamatorio, tripéptido, *Entamoeba histolytica*.

Introducción: La amibiasis es un problema mundial de salud¹ causada por el protozooario *Entamoeba histolytica*. El proceso inflamatorio que acompaña a la amibiasis, especialmente el absceso hepático amibiano, es atípico y se caracteriza por una intensa reacción inflamatoria temprana. En un trabajo previo,² se estudió la producción de factores anti-inflamatorios por parte del parásito, lográndose aislar y caracterizar estructuralmente el pentapéptido nativo Met-Gln-Cis-Asn-Ser, asignado como factor inhibidor de la locomoción de monocitos humanos (FILM).² Pruebas realizadas *in vitro* muestran que este pentapéptido inhibe la locomoción de los fagocitos mononucleares, pero no la de los neutrófilos. Un péptido sintético 96% puro y con la misma secuencia posee idénticas propiedades anti-inflamatorias que el FILM nativo.² Además, se sintetizó otro péptido análogo Met-Pro-Cis-Asn-Ser en donde prolina sustituye a glutamina en la segunda posición quien también presentó actividad anti-inflamatoria. Estudios teóricos³ de la estructura electrónica de los pentapéptidos mencionados previamente han mostrado que probablemente el grupo activo del FILM nativo se localice en los residuos finales comunes al FILM y al péptido con prolina (Cis-Asn-Ser), el cual podría constituir la porción crítica funcional (o grupo farmacóforo), del FILM nativo responsable de la actividad anti-inflamatoria.

Objetivo: Determinar las propiedades estructurales, electrónicas y fisicoquímicas del tripéptido Cis-Asn-Ser derivado del FILM nativo, y relacionarlas con su actividad anti-inflamatoria a través de un estudio teórico de estructura electrónica.

Metodología: Utilizando métodos de estructura electrónica a nivel Hartree-Fock (HF) con el conjunto base 6-31+ G(d,p), se evaluaron los siguientes descriptores químico-cuánticos:

parámetros geométricos, acidez, cargas atómicas, órdenes de enlace, momento dipolar, orbitales frontera (HOMO-LUMO), dureza (reactividad química), momento dipolar y potencial electrostático.

Resultados y discusión: El análisis de las cargas atómicas muestra que la mayor carga negativa se presenta en el azufre de la Cisteína. Los orbitales frontera (HOMO) sugieren la presencia de posibles sitios reactivos (sitios nucleofílicos) en el grupo de la Cisteína, siendo esto un factor relevante en la actividad del tripéptido. El potencial electrostático ilustra también una importante densidad electrónica sobre la Cisteína. Con la utilización de métodos de estructura electrónica a nivel (HF) se identificó la estructura química espacial y los sitios reactivos más probables del tripéptido, que apuntan a predecir al segmento (...Cis-Asn-Ser) como una porción crítica funcional (o grupo farmacóforo) derivado del FILM nativo, que contribuiría de manera importante en la actividad anti-inflamatoria, lo cual abrirá posibilidades terapéuticas.

REFERENCIAS

1. WHO: *The world health report 1995*. World Health Forum 16. 377; 1995.
2. Kretschmer RR, Rico G, Giménez JA. A novel anti-inflammatory oligopeptide produced by *Entamoeba histolytica*. *Mol Biochem Parasitol* 2001; 112: 201.
3. Soriano-Correa C, Sánchez-Ruiz JF, Rico G, Jiménez JA, Velásquez JR, Kretschmer RR. Electronic structure of an anti-inflammatory pentapeptide produced by *Entamoeba histolytica*: theoretical study. (Enviado para publicación).

M-3

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE INFECCIÓN SISTÉMICA EN UN HOSPITAL INFANTIL POR CEPAS DE *Candida* Y SUS PATRONES DE SUSCEPTIBILIDADLoza-Reyes Adriana,¹ Reséndiz-Sánchez Jesús,² Bernal-Redondo Rosamaría,² Salgado-Brito Rosa.¹¹Universidad Simón Bolívar, Fax: 56299744, ²Hospital Infantil de México "Federico Gómez". e-mail: adriana_loza@hotmail.com.**Palabras clave:** *Candida*, susceptibilidad, epidemiología.

Introducción: En los últimos años la frecuencia de candidosis sistémica causada por especies no-*albicans* ha aumentado, a lo que se añade la resistencia a antifúngicos.¹ En el Hospital Infantil de México "Federico Gómez" (HIMFG) la candidosis sistémica es una importante causa de morbilidad y mortalidad, por lo que es necesario conocer específicamente las cepas de *Candida* causantes de infección sistémica y sus patrones de susceptibilidad para establecer las medidas terapéuticas y preventivas oportunas.

Metodología: Aislamiento durante el periodo 2001-2003 de cepas de *Candida* causantes de infección sistémica en niños hospitalizados en el HIMFG.

La diferenciación entre cepas *C. albicans* y no-*albicans* se realizó mediante pruebas biológicas (formación de tubos germinativos y formación de clamidoconidias).

Para la identificación específica se efectuaron pruebas bioquímicas, empleando el equipo comercial ID32C.*

La susceptibilidad a antifúngicos se determinó mediante el equipo comercial FUNGITEST.*

Resultados y discusión: Se estudiaron 50 cepas provenientes de distintos productos biológicos: orina (74%), sangre (8%), tejidos (4%), broncoaspirados (4%) y secreciones de otros sitios anatómicos normalmente estériles (10%) cuyos exámenes directos mostraron blastoconidias y/o pseudomicelios. Mediante el ID32C* se identificaron las siguientes especies: *C. albicans* (54%), *C. glabrata* (16%), *C. tropicalis* (14%), *C. parapsilosis* (8%), *C. lusitanae* (6%) y *C. norvegensis* (2%). La misma tendencia se reporta en diferentes estudios.² Aproximadamente el 95% de las infecciones sistémicas ocurren por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, siendo cada vez más común el aislamiento de estas tres últimas especies mencionadas.³

En las pruebas de susceptibilidad antifúngica el 98% de las cepas fueron sensibles a la anfotericina B; 94% a la 5-fluorocitosina; 84% al ketoconazol; 80% al fluconazol; 64% al miconazol y 60% al itraconazol.

De las 50 cepas estudiadas, 30 correspondieron a pacientes masculinos (60%) y 20 a femeninos (40%). Sus edades oscilaron entre los 10 días y los 16 años, con un promedio de 5 años para los niños y de 6 años para las niñas. Los grupos de edad más

afectados para ambos sexos fueron los preescolares (32%) y los escolares (36%).

Los pacientes fueron clasificados como inmunocomprometidos (36%), infectados (32%) y niños con otras patologías (32%) de acuerdo con el factor de oportunismo. El mayor número de candidosis se encontró asociada a algún tipo de inmunocompromiso, especialmente a transplantes y neoplasias.

Los pacientes resultaron estar distribuidos en once salas del HIMFG: Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (24%), Terapia Quirúrgica (20%), Cirugía (12%), Infectología (8%), Nefrología (10%), Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (8%), Gastroenterología (4%), Medicinas (4%), Terapia Intensiva (4%), Neurología (2%) y Oncología (2%).

Conclusiones: En la población estudiada *C. albicans* es la especie más frecuentemente implicada en candidosis sistémica.

Las especies *C. no-albicans* presentaron resistencia cruzada a los azoles comúnmente utilizados en la práctica clínica, lo que podría determinar una terapéutica inadecuada y el deterioro del paciente.

El paciente pediátrico con algún tipo de inmunocompromiso tiene mayor riesgo de infectarse.

REFERENCIAS

1. Argüero LB, Alvarez GM, Bonifaz A. Importancia de las infecciones producidas por *Candida* sp. en pacientes con cáncer. *Laborat Acta* 1999; 1: 11-15.
2. Fatima S, Roberta R, Mara B, Cezar M, Eleonora M, Magalhaes L. Prevalence and *in vitro* antifungal susceptibility of *Candida* sp. isolated from clinical specimens in Sao Paulo, Brazil. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15: 16-18.
3. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ. Activities of Fluconazole and Voriconazole against 1 586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and etest methods: Report from the ARTEMIS global antifungal susceptibility program, 2001. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1440-1446.

M-4

DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA EN CEPAS DE REFERENCIAS DE LEPTOSPIRAS.

Obregón Ana Margarita, Llanes Rafael, Fernández Carmen, Hernández Idialis, Rodríguez José.

Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Ciudad de la Habana. Cuba. e-mail: amobregon@ikp.sld.cu

Palabras clave: Leptospirosis, susceptibilidad, concentración mínima inhibitoria.

Introducción: Partiendo de la importancia que reviste el conocimiento del fenómeno de resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos y del hecho de que en Cuba no se ha realizado un estudio que permita evaluar el comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de leptospiras, nos propusimos desarrollar un método para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando cepas de referencia, pertenecientes al complejo patogénico *L. interrogans* y *L. biflexa* frente a 5 antibióticos comúnmente empleados en la terapéutica de esta enfermedad, lo que permitirá en un futuro cercano, comenzar el estudio de los aislamientos autóctonos circulantes nacionalmente.

Metodología: Se realizó un estudio experimental con las cepas de referencia: *Ballum ballum* cepa MUS-127, *Canicola canicola* cepa Hond Utrecht-IV, *Semarangapatoc* cepa patoc I, *Icterohaemorrhagiae* copenhageni cepa M-20, *Pomona pomona* cepa pomona, *Manhao manhao* cepa LGO, *Tarassovitarassovi* cepa perepelicin, pertenecientes al cepario de colección del Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Estas cepas fueron elegidas por representar los serogrupos de leptospiras que circulan más frecuentemente en Cuba. Los antimicrobianos utilizados fueron: Penicilina (Merck), Ciprofloxacina (Sigma), Cloranfenicol (Sigma), Rifampicina (Sigma), Tetraciclina (Sigma). Estas fueron diluidas en sus respectivos solventes (agua o etanol absoluto) hasta alcanzar un rango de concentración que fluctuó de 12.52–0.04 µg/mL. La CIM se estableció en función de la menor concentración del antibiótico donde se observó la inhibición de la movilidad bacteriana por examen directo en campo oscuro.

Resultados: Los rangos de CMI fueron: penicilina, 0.095–12.52 µg/mL, tetraciclina 0.156–3.13 µg/mL, cloranfenicol 0.08–12.52 µg/mL, rifampicina 0.08–1.56 µg/mL y ciprofloxacina 0.15–2.4 µg/mL. De forma general los antibióticos que presentaron los valores de CMI más bajos fueron la ciprofloxacina, rifampicina y la tetraciclina y el valor más elevado se obtuvo frente al cloranfenicol y la penicilina. La cepa patoc I, presentó el valor más elevado de CMI (12.56 µg/mL), frente a la penicilina y el cloranfenicol. La cepa perepelicin del serovar tarassovi mostró los valores más bajos de CMI. De forma general, la mayoría de los serovares de leptospiras fueron sensibles a los fármacos ensayados; sin embargo, la cepa perepelicin del serovar tarassovi a pesar de haber tenido la CMI más baja, fue resistente frente a todos los antibióticos ensayados. La cepa MUS 127 del serovar ballum fue resistente en un 80% a los antibióticos evaluados. Las cepas LGO (serovar manhao), y pomona (serovar pomona) fueron resistentes frente a los

antibióticos de cloranfenicol y rifampicina. La cepa patoc I del serovar patoc fue sensible a todos los antibióticos en estudio.

Discusión: A diferencia de otras bacterias, no existe en el caso de las espiroquetas un método uniforme y estandarizado para el análisis de la susceptibilidad (CMI) frente a los diferentes agentes antimicrobianos. En nuestra investigación fue utilizado el método de macrodilución en caldo, empleando el medio de cultivo Korthof el cual utiliza como suplemento albúmina bovina fracción V. La CMI (para las borrelias y leptospiras) se mide generalmente considerando la más baja concentración del antimicrobiano que inhibe la movilidad del microorganismo observada por EDCO, después de 48 a 72 horas de incubación si se utiliza el método de microdilución en caldo.¹ Aunque no es un fenómeno muy frecuente, ya comienzan a aparecer algunas cepas de leptospiras resistentes a la penicilina, por el uso indiscriminado para muchas infecciones bacterianas.² En nuestra investigación, las cepas MUS 120, LGO y perepelicin fueron resistentes frente a la penicilina, aunque el mayor número de cepas resistentes se presentó frente a rifampicina y cloranfenicol, lo que coincide con otros autores.³

Conclusiones: Con esta investigación realizada por vez primera en Cuba, se logró desarrollar un método que permitió determinar la susceptibilidad *in vitro* de cepas de referencia de leptospiras frente a diferentes antibióticos. Fueron empleados los serogrupos tipos de leptospiras que circulan más frecuentemente en el país. El valor más elevado de CMI se obtuvo frente a penicilina y cloranfenicol. Las cepas de los serovares de tarassovi y ballum mostraron resistencia frente a la mayoría de los antimicrobianos, siendo el resto de las cepas sensibles a los fármacos estudiados. Este estudio, permitirá en un futuro cercano, determinar la susceptibilidad antimicrobiana en cepas autóctonas aisladas de pacientes con leptospirosis a nivel nacional.

REFERENCIAS

1. Cevenini R, *et al.* Comparative *in vitro* activity of five cathelicidin derived synthetic peptides against Leptospiras, borrelias and *Treponemapallidum*. *JAntimicrob Chemother* 2002; 50: 895-902.
2. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. Leptospira and leptospirosis. 2nd ed. Australia; 1999. p. 109.
3. Takashima I, Nigoma M, Hashimoto N. Antimicrobial effects of a new carboxyquinolone drug: Q-35 on five serogroups of *L. interrogans*. *Antimicrob Ag Chemother* 1993; 37: 901-02.

M-5

VIRULENCIA DE DOS CEPAS DE *Mycobacterium habana* EN COBAYOS

Asín-Milán Odalis, Montoro Ernesto, Martínez Gerardo, Echemendía Miguel, Delgado Anileidis, Maestre Jorge Luis, Sardiñas Misleidis, Suárez Odalais, Demetrio Cantillo Jorge. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Autopista Novia del Mediodía Km. 6,5 Lisa Ciudad Habana, Cuba. Fax: (537) 204 6051. e-mail: oasin@ipk.sld.cu.

Palabras clave: *Mycobacterium habana*, tuberculosis, *M. tuberculosis*, virulencia.

Introducción: *Mycobacterium habana* fue aislada por Valdivia y cols. en 1971 en Cuba y propuesta como una nueva especie dentro del género *Mycobacterium*.¹ A partir de 1979, *M. habana* ha despertado gran interés como inmunógeno protector contra la lepra y la tuberculosis.² Comparte antígenos con *M. tuberculosis* y *M. leprae*³ y protege a los animales de experimentación contra el reto con cepas virulentas de *M. tuberculosis*.² La existencia de una colección de *M. habana* en nuestro instituto, además de los resultados encontrados por otros autores con la cepa TMC5135,^{4,5} nos motivaron al estudio de virulencia de dos cepas de *M. habana* en cobayos, con el objetivo de futuros estudios de protección contra la tuberculosis humana y animal.

Metodología: Se utilizaron cobayos hembras (CENPALAB), 9 por grupo. Las cepas de *M. habana* TMC 5135, IPK 220 y *M. bovis* BCG (Pasteur), se cultivaron en medio Sauton líquido durante un periodo de 3-4 semanas, 37°C. La vía de infección fue intratraqueal con 10⁵ células en 100 µL de salina, fue incluido otro grupo control inoculado con salina. Se realizó la determinación de la carga micobacteriana en pulmones, bazo e hígados mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), cálculo de sobrevida, curva de peso e histología (7, 21 y 35 días posterior a la infección).

Resultados y discusión: La cepa BCG presentó un patrón de multiplicación pulmonar que fue disminuyendo hasta el día 35 donde la carga micobacteriana fue mínima, se diseminó al bazo el día 35, no presentó diseminación a hígado. Las cepas de *M. habana* no se diseminaron y su patrón de multiplicación pulmonar fue discreto desapareciendo a los 35 días posterior a la infección (Cuadro). Todos los grupos presentaron ganancia progresiva de peso, 100 % de sobrevida e infiltrados inflamatorios, que fueron más difusos en el grupo infectado con BCG.

Conclusiones:

1. La cepa de BCG utilizada, a la dosis y vía empleada es más virulenta que las dos cepas de *M. habana* analizadas.
2. Por su poca virulencia la cepa de *M. habana* IPK 220 puede también ser utilizada como candidato en la elaboración de una vacuna contra la tuberculosis humana y animal.

Cuadro. Carga micobacteriana en pulmones de cobayos infectados con dos cepas de *M. habana*.

Grupos	Log ₁₀ UFC (DE)		
	Día 7	Día 21	Día 35
Control Salina	0	0	0
BCG Control	3.53 (0.16)	1.2 (0.03)	1.17 (0.05)
<i>M. habana</i>	3.19 (0.03)	1.17 (0.06)	0 *
TMC 5135			
<i>M. habana</i> IPK 220	3.07 (0.05)	0.22 (0.02)*	0 *

**p* < 0.001 cuando se compara con el control BCG. DE = desviación estándar.

REFERENCIAS

1. Valdivia JA, Suárez R, Echenendía M. *Mycobacterium habana*: probable nueva especie dentro de las micobacterias no clasificadas. Bol Hig Epid 1971; 9:65-73.
2. Gupta HP, Singh NB, Mathur IS, Gupta SK. *Mycobacterium habana* a new immunogenic strain in experimental tuberculosis of mice. Ind J Exp Biol 1979; 17:1190-1193.
3. Singh NB *et al.* Lymphostimulatory and delayed type hypersensitivity response to a candidate leprosy vaccine strain: *Mycobacterium habana*. Lep Rev 1997; 68:125-130.
4. Divya J M, Garg SK, Singh NB. Mechanisms involved in protective immune response generated by secretory proteins of *Mycobacterium habana* against experimental tuberculosis. Scand J Immunol 2000; 51: 502-510.
5. Prem Raj P, Srivastava S, Jain SK, Srivastava BS, Srivastava R. Protection by live *Mycobacterium habana* vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* H37 Rv challenge in mice. Indian J Med Res 2003; 117: 139-45.

M-6

EL PAPEL DEL FLAGELO LATERAL EN LA ADHERENCIA DE *Aeromonas* spp

Arteaga-Garibay Ramón Ignacio,^{1,4} Aguilera-Arreola Ma Guadalupe,^{1,4,5} Navarro-Ocaña Armando,² Molina-López José,² Cravioto Alejandro,² Valdespino-Pérez Abigail,¹ Castro-Escarpulli Graciela.^{1,3}

¹ Departamento de Microbiología, ENCB-IPN. ² Depto. de Salud Pública UNAM. ³ Becario COFAA y EDD. ⁴ Becario CONACYT, ⁵ Becario PIFI. e-mail: chelacastro@hotmail.com. Este trabajo es apoyado por la Coordinación de Estudios de Postgrado e Investigación del IPN. Clave: CGPI 20030305-20041203.

Palabras clave: *Aeromonas*, adherencia, flagelo.

Introducción: En las dos últimas décadas se han logrado importantes progresos en el campo de la microbiología clínica en particular de las diarreas bacterianas, lográndose, entre otras cosas, la identificación de nuevos agentes etiológicos. Un ejemplo de ello son las especies que conforman la familia *Aeromonadaceae*. Se han definido dos grandes grupos de enfermedades relacionadas con *Aeromonas* spp.: infecciones extraintestinales e infecciones intestinales. Los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por las especies de este género no se han establecido con exactitud, sin embargo, se han identificado un gran número de estructuras y enzimas extracelulares considerados factores de virulencia de *Aeromonas*.¹

Los flagelos además de ser considerados como organelos de locomoción, contribuyen en la patogénesis de algunas bacterias. Los miembros del género *Aeromonas* poseen dos distintos sistemas flagelares el sistema de flagelo polar y el sistema de flagelo lateral. El flagelo lateral se considera una adhesina que puede contribuir en la formación de microcolonias y de biopelículas en la superficie de contacto, lo que posiblemente facilite la colonización de la célula huésped. Por lo que, la expresión del flagelo lateral es considerado un factor de virulencia importante y por ello la necesidad de relacionar la presencia de éste con la capacidad de adherencia de las cepas de *Aeromonas* spp. causantes de infecciones gastrointestinales.²

Objetivo: Determinar la presencia del flagelo lateral y su relación con la adherencia en cepas de *Aeromonas* spp aisladas de cuadros diarreicos.

Metodología: En el presente trabajo se estudiaron 84 cepas de origen clínico de pacientes con gastroenteritis producidas por *Aeromonas* spp.

Se realizaron pruebas fenotípicas para observar la expresión del flagelo lateral así como la determinación de los genes que codifican para el flagelo lateral (*lafA*) empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Los ensayos de adherencia se realizaron según lo descrito por Cravioto *et al* (1979).³

Se determinaron propiedades de hemoaglutinación con eritrocitos humanos siguiendo la metodología propuesta por Atkinson *et al* (1980).⁴

Resultados y discusión: La presencia del flagelo lateral se determinó empleando una PCR dirigida al gen *lafA*. El 44% (37/84) del total de aislamientos tuvieron este gen. Las cepas en las que se detectaron los genes *lafA* pertenecen a las especies *A. caviae* y *A. hydrophila*. La prueba fenotípica *swarming* correlacionó con la presencia de los genes *lafA*.

Además la presencia del flagelo lateral se relacionó con factores de virulencia como hemaglutinación, adherencia en la línea celular HEp-2. Los resultados muestran que todas las cepas (37/84) que poseen flagelo lateral no aglutinan con eritrocitos humanos, lo que sugiere que la adherencia no se relaciona con la presencia de *pilus*.

Lo anterior sugiere que el flagelo pudiera estar relacionado con mecanismo de adherencia, no obstante tendrían que descartarse mecanismos de adherencia inespecíficos mediados por otras estructuras como: cápsula, LPS y OMP'S.

Conclusiones: El flagelo lateral se detectó en el 44% del total de las cepas de *Aeromonas* estudiadas tanto por métodos fenotípicos como genotípicos.

Las cepas con presencia de flagelo lateral relacionó con la capacidad de adherencia a la línea celular HEp-2.

REFERENCIAS

1. Janda JM. *Aeromonas* y *Plesiomonas*. In: Sussman M. Molecular medical microbiology. San Diego, EU: Academic Press; 2001. p. 1237-1270.
2. Kirov SM. Bacteria that express lateral flagella enable dissection of the multifunctional roles of flagella in pathogenesis. *FEMS Microbiol Lett* 2003; 224: 151-159.
3. Cravioto A, Gross RJ, Scotland SM, Rome B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Current Microb* 1979; 3: 95-99.
4. Atkinson HM, Trust TJ. Hemagglutination properties and adherence ability of *Aeromonas hydrophila*. *Infect Immune* 1980; 27: 938-946.

M-7

ESTANDARIZACIÓN DE UNA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) MÚLTIPLE PARA LA DEMOSTRACIÓN DE GENES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Aeromonas* spp

Carmona-Martínez Alma Aidee,^{1,4} Aguilera-Arreola Ma Guadalupe,^{1,3,4} Pérez-Valdespino Abigail,¹ Arteaga-Garibay Ramón Ignacio,^{1,3} Castro-Escarpulli Graciela.^{1,2}

¹Lab. de Bacteriología Médica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Plan de Ayala y Carpio S/N Col. Plutarco Elías Calles. Del. Miguel Hidalgo. C.P. 11340 México, D.F. ² Becario COFFA y EDD, ³ Becario CONACYT, ⁴ Becario PIFI. Este trabajo fue apoyado por la Coordinación General de Posgrado e Investigación. I.P.N. Clave CGPI: 2003305 y 20041203.

Palabras clave: PCR múltiple, factores de virulencia, *Aeromonas*.

Introducción: El género *Aeromonas* comprende bacilos rectos Gram negativos, anaerobios facultativos, oxidasa y catalasa positivo; fermentan la de D-glucosa como única fuente de carbono y energía. La mayoría de las especies son móviles por un flagelo polar y mesofílicas a excepción de *A. salmonicida* que es inmóvil y psicrófila. Las *Aeromonas* son capaces de producir un gran número de enzimas extracelulares y estructuras consideradas comúnmente como factores asociados a la virulencia.¹ Aunque el mecanismo de patogenidad no está dilucidado y se considera multifactorial,² la demostración de genes que codifican para factores de virulencia se ha descrito como un paso crucial en la determinación del potencial virulento de las cepas que los poseen y particularmente en las especies involucradas en algún cuadro clínico tanto para animales como para el hombre.² La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es considerada una eficiente herramienta en la microbiología clínica con fines diagnósticos, epidemiológicos y taxonómicos, siendo esta técnica conceptualmente simple, altamente específica, sensible, y receptiva para la automatización completa.³

Objetivo: Diseñar una PCR múltiple para demostrar la presencia de genes que codifican para factores putativos de virulencia y así identificar cepas potencialmente virulentas.

Metodología: Se estudiaron 23 cepas de referencia de *Aeromonas* spp. a las que se les realizó extracción de ADN empleando una matriz de purificación Insta Gene Matrix (Bio-Rad) siguiendo las instrucciones del fabricante. La búsqueda de los genes *gcat*, *alt aer/hem*, *ast y* *lafA* se realizó individualmente por PCR simple, siguiendo las concentraciones y condiciones de trabajo descritas previamente. La estandarización de la PCR múltiple se realizó modificando concentraciones y condiciones de reacción a partir de la PCR simple.

Resultados: Las condiciones de amplificación estandarizadas para la PCR múltiple fueron: 20 ciclos a una temperatura de alineamiento de 56°C y 15 ciclos a una temperatura de alineamiento de 54°C. Se encontró que los resultados de la PCR múltiple correlacionan con los obtenidos por PCR simple; y la

comparación de resultados obtenidos por ambos métodos mostró que la PCR múltiple es un método con alta sensibilidad (90.78%) y especificidad (92.06%).

Discusión: La demostración de genes asociados a la virulencia se ha vuelto una herramienta común para la identificación de cepas potencialmente virulentas⁴. Debido a que en el género *Aeromonas* el mecanismo de patogenidad es multifactorial e involucra un gran número de proteínas y estructuras, la PCR múltiple nos ayudará a detectar cinco de los genes que codifican para dichas proteínas y estructuras, descritas como más importantes para el género, ello de forma simultánea en un solo tubo de reacción, con una buena especificidad y sensibilidad.

Conclusión: La PCR múltiple es un método útil en la detección de algunos genes que codifican para factores putativos de virulencia de importancia en el género, permitiendo identificar cepas potencialmente virulentas.

REFERENCIAS

1. Castro-Escarpulli G, Aguilera-Arreola MG, Giono-Cerezo S, Hernández-Rodríguez CH, Chacón MR, Soler L, *et al.* El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México?. *Enf Infec Microb* 2002; 22: 206-216.
2. Janda JM, Abbott SL, Carnahan AM. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yueken RH. [Eds.] *Manual of clinical microbiology*. 7^a ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1995. p. 477-482.
3. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 559-570.
4. Albert MJ, Ansaruzzaman, Talukder AK, Chopra AK, Kuhn I, Rahman M, *et al.* Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and environment. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3785-3790.

M-8

MARCADORES MOLECULARES DE RESISTENCIA EN *Pseudomonas aeruginosa*
AISLADAS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICABatlle-Almodóvar Ma del Carmen,¹ Vindel Ana,² Tamargo Isis,¹ Dickinson Félix,¹ Ayala Juan.³¹ Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Habana; ² Centro de Microbiología, Instituto Carlos III, Madrid; ³ Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Madrid. email: batllemc@ipk.sld.cu**Palabras clave:** Resistencia, electroforesis en campo pulsado, betalactamasas, reacción en cadena de la polimerasa.

Introducción: La infección pulmonar crónica por *Pseudomonas aeruginosa* es la mayor causa de morbilidad en pacientes con fibrosis quística (FQ) en edades pediátricas y es la causa fundamental de infecciones nosocomiales.¹ Este patógeno presenta resistencia intrínseca y adquirida en los pacientes FQ. La electroforesis en campo pulsado ha sido reportada para determinar los genotipos de las cepas y relacionarlos con los patrones de resistencia. Diversos patrones de colonización dependen de diferencias epidemiológicas o áreas geográficas específicas.² La resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro, en muchos casos, se debe a la superproducción de cefalosporinas.³ Las enzimas betalactamasas nos indican la presencia de genes de resistencia a antibióticos betalactámicos los cuales pueden ser detectados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando oligos específicos.⁴

Objetivos: Analizar los patrones genéticos de las cepas y relacionarlos con los patrones de resistencia. Determinar la presencia de enzimas betalactamasas en las cepas resistentes a antibióticos betalactámicos en los pacientes con FQ. Identificar la frecuencia de algunas variables epidemiológicas.

Metodología: Se seleccionaron aleatoriamente 65 cepas de un total de 200 obtenidas de 15 pacientes de FQ atendidos en el Hospital Pediátrico "William Soler" durante 3 años. Se determinaron los patrones genéticos de las cepas mediante la electroforesis en campo pulsado (ECP) y se agruparon en cluster mediante dendogramas. Se relacionaron los cluster obtenidos con los patrones de resistencia de las cepas obtenidos mediante concentración mínima inhibitoria (CMI). Se determinó la actividad de betalactamasas de las cepas resistentes mediante la utilización de la técnica del nitrocefín y el agar almidón en soporte de vidrio, a los extractos proteicos obtenidos de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Se determinó la presencia de genes de resistencia mediante PCR. Se utilizó como referencia en el estudio la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Resultados: Los patrones moleculares obtenidos mediante la ECP coinciden con los patrones de resistencia para su agrupamiento en cluster. Se observó una relación clonal entre las cepas aisladas. Se detectó la presencia de actividad betalactamasa en el 28% de las cepas resistentes por CMI. Se detectó la presencia

del gen bla_{oxa} en las cepas aisladas por primera vez en Cuba, lo que puede ser utilizado como un marcador de resistencia.

Discusión: Se pudo apreciar una gran variabilidad genética entre los patrones de *Pseudomonas aeruginosa*, coincidiendo con otros estudios similares reportados.¹ Las enzimas betalactamasas fueron detectadas en cepas de pacientes a los que se le administraron antibióticos betalactámicos reiteradamente. También observamos que pacientes que coincidieron en la misma sala durante su ingreso, presentaban idéntico patrón genético, lo que pudiera sugerir la transmisión nosocomial de la cepa. Los resultados obtenidos evidencian resistencia a los antibióticos betalactámicos, con excepción de la Piperacilina, lo cual fue confirmado por la presencia del gen bla_{oxa} en las cepas.

Conclusiones: Este trabajo permitió alertar sobre la posible transmisión intrahospitalaria del germen y la resistencia a betalactámicos, posibilitando un uso racional de los antibióticos en estos pacientes. Estos resultados se obtuvieron por primera vez en Cuba, contribuyendo a la caracterización de cepas con vistas a una futura vacuna, así como a elevar la calidad de vida de estos pacientes.

REFERENCIAS

1. Wisplinghoff H, Seifert H. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Wenzel RP, Brewer TF, Butzler JP. A guide to infection control in the hospital. Boston: International Society for Infection Diseases; 2004.
2. Stuelens MJ, Schwam V, Depalano A, Baran D. Genome macrorestriction analysis of diversity and variability of *Pseudomonas aeruginosa* strains infecting cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2320-2326.
3. Nordman P, Golbert M. Extended spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemoter* 2001; 42: 128-132.
4. Des Champs CH, Poirel L, De Bonnet R, Sirot D, Chanal C, Sirot J, *et al*. Prospective survey of β -lactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated in a French hospital in 2000. *Antimicrob Agents Chemoter* 2002; 46: 3031-3034.

M-9

OBTENCIÓN DE PLÁSMIDOS Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE CUADROS DIARREICOS

Pérez-Valdespino Abigail,¹ Aguilera-Arreola Ma Guadalupe,^{1,2,3} Carmona-Martínez Alma Aidee,^{1,2} Arteaga-Garibay Ramón Ignacio,^{1,3} Castro-Escarpulli Graciela.^{1,4}

¹Lab. de Bacteriología Médica. Depto. de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I.P.N. Plan de Ayala y Carpio S/N Colonia Plutarco Elías Calles. C.P 11340, México. ²Becario PIFI, ³Becario CONACYT, ⁴Becario COFAA y EDD. Este trabajo fue apoyado por la Coordinación General de Posgrado e Investigación I.P.N. Clave CGPI 2003305 y 20041203.

Palabras clave: *Aeromonas*, plásmidos, virulencia, diarrea.

Introducción: Los microorganismos pertenecientes al género *Aeromonas* spp., son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos, oxida positivos, ubicados taxonómicamente en la familia *Aeromonadaceae*.¹ Los mecanismos de virulencia del género *Aeromonas* aun no terminan de comprenderse, sin embargo se describe como un mecanismo multifactorial que incluye enterotoxinas, enzimas extracelulares y estructuras involucradas con la adherencia.² Aunque algunos están codificados en el cromosoma, algunos otros podrían estar codificados en plásmidos como se ha descrito en otros agentes patógenos.

Objetivo: Determinar si existen plásmidos en cepas de *Aeromonas* spp. y si estos elementos genéticos guardan alguna relación con el tipo de diarrea que se presenta.

Metodología: Se estudiaron de 76 cepas de *Aeromonas* aisladas de las heces de personas que presentaron cuadros diarreicos en el estado de Hidalgo, México. Los aislamientos fueron identificados genéticamente en trabajos previos. Las cepas se sembraron en caldo Luria y se incubaron en agitación a 37°C durante 18 horas, después se obtuvo un botón celular al cual se le realizó la extracción de ADN plasmídico utilizando dos técnicas: el Kit rapid plasmid Miniprep System y la técnica Birboin & Doly. Para visualizar la presencia de los plásmidos se corrió un gel de agarosa al 0.7% a 80 volts durante 1 hora. Se emplearon 2 cepas tipo portadoras de plásmidos como testigos positivos en la extracción de plásmidos.

Resultados: De las 76 cepas sometidas al proceso de purificación de ADN plasmídico, en el 27.6% (21/76) de las cepas se encontró el mismo. Los resultados obtenidos muestran que las cepas que presentaron plásmidos son *A. caviae* (n=9), *A. hydrophila* (n=8) y *A. veronii* bt. *sobria* (n=3), estas especies están reportadas como las mas aisladas en cuadros clínicos diarreicos.¹ Además una cepa de *A. trota* presentó plásmidos. El peso molecular de cada banda en los perfiles plasmídicos se determinó empleando el software SIGMA-GEL obteniéndose pesos moleculares entre 2.5 y 3.2 Kb.

Los cuadros diarreicos que presentaron los pacientes incluyen diarrea líquida y diarrea pastosa.

Discusión: Algunos investigadores han informado aislamientos de plásmidos en cepas de *Aeromonas* spp. y éstos han tratado de relacionar algún factor de virulencia con la presencia de estos elementos genéticos.²

En nuestro estudio encontramos que los patrones plasmídicos de cepas de una misma región del país son similares ya que comparten bandas del mismo peso molecular e incluso en dos cepas de *A. caviae* los patrones fueron idénticos.

En el análisis de los patrones plasmídicos no se encontró correlación con el tipo de diarrea ya que cepas que indujeron diarrea líquida o diarrea pastosa, poseen plásmidos y viceversa, es decir, en cepas que indujeron un cuadro clínico no se detectaron plásmidos. Estos resultados no correlacionan con los resultados descritos en otros géneros bacterianos que son patógenos para el hombre (*Sihigella*, *Escherichia coli*) donde los plásmidos codifican para factores de virulencia característica que aumenta su potencial patogénico y por ello producen cuadros diarreicos más severos en los pacientes.

Lo anterior sugiere que en el género *Aeromonas* el perfil plasmídico no serviría como una herramienta epidemiológica de identificación o virulencia en brotes diarreicos.

Conclusiones: Las tres especies más frecuentemente aisladas de cuadros clínicos (*A. caviae*, *A. hydrophila* y *A. veronii* bt. *sobria*) poseen plásmidos. Se ha demostrado presencia de plásmidos en una cepa de *A. trota*. *A. caviae* es la especie en la que se encontró mayor frecuencia de plásmidos. En la mayoría de los cuadros diarreicos el tipo de diarrea fue líquida, y con menor frecuencia se presentó diarrea pastosa. No se observó relación del tipo de diarrea con la presencia de plásmidos.

REFERENCIAS

1. Castro-Escarpulli G, et. al El genero *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México?. Enf Infec Micro 2002; 22: 206-216.
2. Kirov SM, Brown RL. Plasmid and *Aeromonas* virulence. FEMS Immunol Med Microb 1997; 17: 217-223.

M-10

GENOTIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) EN MUESTRAS DE PACIENTES FEMENINOS

Valdivia- Flores Alejandra,¹ Alarcón-Hernández Ernesto,² Stalin-García L Eduardo.¹¹ Departamento de Biología Molecular, Carpermor, Laboratorio de Referencia Internacional, Alfonso Herrera No. 75, Colonia San Rafael, México D. F. Fax: (5)592-6763. e-mail: biologiamolecular@carpermor.com.mx. ² Lab. De Genética Molecular, Depto. de Bioquímica, ENCB. IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n. Col. Casco de Santo Tomás. México D.F.**Palabras clave:** Virus de papiloma humano (VPH), genotipo, reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Introducción: El virus del papiloma humano (VPH) pertenece a la familia *Papovaviridae* y es reconocido actualmente como el principal causante del cáncer cervicouterino. Éste se transmite, principalmente por vía sexual y es capaz de producir lesiones benignas (condilomas) e incluso cáncer en la región anogenital dada su capacidad de integración al genoma celular del huésped y a la alteración del ciclo celular.¹ Hay más de 100 tipos de papilomavirus, de los que sólo 40 infectan los genitales y se clasifican en dos grupos: de alto riesgo y de bajo riesgo, de acuerdo a las lesiones que produce. En el primer grupo se encuentran los siguientes tipos: 6, 11, 42, 44 y 43; mientras que en el segundo se encuentran el 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58, 68 entre otros.^{2,3}

Objetivo: Establecer una metodología confiable en la determinación del genotipo del VPH, para los tipos virales más frecuentes, en muestras de pacientes femeninos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex utilizando las regiones E6 y E7.

Metodología: Los tipos virales seleccionados para determinación del genotipo fueron: 6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52; para los cuales fueron diseñados los primers de cada región basándonos en la región más conservada entre ellos y de acuerdo a su secuencia se establecieron las condiciones de amplificación. La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de raspados endocervical positivas para la detección de VPH por el método de captura de híbridos se hizo empleando el equipo comercial del QUIAamp ultrasense. Se llevó a cabo una primera amplificación de las regiones E6 y E7 mediante una PCR multiplex para cada una de las muestras y los amplicones obtenidos fueron analizados en gel de agarosa al 4% visualizándolos en un transiluminador de luz ultravioleta. El genotipo determinado en esta primera amplificación fue confirmado mediante una PCR específica de acuerdo a los primers seleccionados.

Resultados: Se han analizado 41 muestras de raspado endocervical mediante PCR multiplex, de las cuales al 78% se les encontró el genotipo, en un primer análisis, de 1-3 tipos virales de acuerdo al tamaño de los amplicones esperados para las regiones E6 y E7. En la amplificación específica se confirmó el genotipo del 53% de las muestras, el 38% presentó una amplificación inespecífica y en el 9% restante no se presentaron amplicados. Se encontraron hasta 2 tipos virales asociados. El tipo viral más común fue el 16 en el 47% de las muestras, seguido del tipo 6 con 24%, el tipo 52 con 12%, el tipo 11 con 11% y finalmente los tipos virales 31, 33, 45 y 51 con 6%.

Discusión: Es necesario emplear un método de extracción de ácidos nucleicos eficiente en muestras de raspado endocervical, además de tener suficiente muestra que nos permita amplificar la región de interés del virus; y se requiere optimizar las condiciones de PCR cuando se van a utilizar varios pares de primers en un solo tubo.

Conclusiones: El equipo de extracción QUIAamp ultrasense resulta eficiente en la extracción de ácidos nucleicos de las muestras utilizadas. Los primers diseñados para la región E6 y E7, además de las condiciones de PCR multiplex, resultan útiles en la determinación del genotipo de VPH; para esta determinación es necesario amplificar ambas regiones para confirmar. El uso de sondas aumentaría la eficiencia de esta metodología.

REFERENCIAS

1. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microb Rev* 2003; 16: 1-17.
2. Heilmann V, Kreienberg R. Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Curr Women Health Rep* 2002; 2: 27-33.
3. Walboomers JMM, *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-19.

M-11

ANÁLISIS Y DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INSTALACIONES DEL INSTITUTO NACIONAL DE MIGRACIÓN DELEGACIÓN REGIONAL CHIAPAS

Elorza-Claros Manuel,¹ Becerra-Victorio Gerardo,² Castro-Navarro Julio César,² Rueda-Cruz José Alejandro,² Sánchez-González Roberto Alejandro.²

¹Depto. de Fisiopatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chiapas Campus IV. ²Estudiantes de la Carrera de Químico Farmacobiólogo (7° sem.) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chiapas Campus IV. Carretera a Puerto Madero Km. 2, Tapachula Chiapas, C.P. 30700. e-mail: 2 roasago@hotmail.com.

Palabras clave: Infección, migración, confinamiento.

Introducción: La crisis, el desempleo, la discriminación, y la violencia, sin duda son el motor de la migración de miles de personas que emigran de sus lugares de origen en busca de una mejor calidad de vida, encontrando a su paso infinidad de problemas que ponen en riesgo su integridad física y patrimonial, utilizando el territorio mexicano como punto de enlace por su ubicación geográfica para llegar a los Estados Unidos de América. Los flujos migratorios en tránsito provienen principalmente de Centroamérica, estas migraciones se realizan en forma indocumentada o mediante la documentación alterada o apócrifa. Lo anterior no escapa de ocasionar problemas de implicación sanitaria, en la que es imperioso trazar pautas alternativas de acción que permitan tanto a los inmigrantes no regularizados y a su entorno inmediato un tratamiento lo más digno posible cosa que en muchas ocasiones no es una realidad. Ofrecer un confinamiento en zonas bien limpias y seguras en la cuales se tenga una elevada certeza que no enfermarán y no podrán enfermar a los demás que cohabitan con ellos, por todo lo anterior la investigación ya concluida trata de abrir un cerco sanitario en el mejor tratamiento de los inmigrantes no regulares que al fin y al cabo no dejan de ser seres humanos.

Objetivos: Dar a conocer las condiciones en las que se encuentran las instalaciones del Instituto Nacional de Migración (INM), hábitat temporal de inmigrantes asegurados y área permanente de trabajo del personal, mediante un muestreo ambiental microbiológico.

Establecer la relación existente entre los agentes infecciosos encontrados en las instalaciones con la morbilidad.

Metodología: Se evaluaron las condiciones ambientales de 9 áreas de las instalaciones del INM, mediante el muestreo ambiental por caída libre o exposición al medio ambiente por cuarteo (al azar) colocando una batería de placas, las cuales se expondrán al medio por un lapso de 15 min., se realizaron cultivos, frotis, crecimiento en sal y manitol,¹ pruebas bioquímicas y serológicas. Este análisis se llevó a cabo durante el periodo comprendido entre los meses de marzo a agosto del 2004.

Resultados: La frecuencia de padecimientos respiratorios agudos conservó la mas alta tendencia en todo el periodo muestreado siendo de 56 casos para el mes de marzo con una elevación de 224 casos para el mes de junio, la mayor parte atribuidos a *S.aureus*, esto representó el 66 % de los casos aislados, la infección de mas baja frecuencia fue de vías urinarias con solamente 4 casos para el mes de marzo y 0 casos para el mes de junio representando el 1 % de los casos totales; esto quizás estuvo influenciado por la dinámica de transmisión del contacto entre los inmigrantes captados. Las bacterias aisladas en orden de importancia en las instalaciones fueron *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.* A estas bacterias se les consideró las de mayor importancia ya que fueron encontradas en la mayoría de áreas muestreadas, lo anterior muy importante sobre todo para el género *Salmonella sp.*² que fue atribuida a infección diarreica y curso asintomático en un 18 % de la totalidad de casos.

Discusión: Se pudo establecer un vínculo entre las condiciones ambientales y la morbilidad³ presente en los inmigrantes captados ya que las áreas de confinamiento no son desinfectadas y limpiadas adecuadamente.

Conclusion: Se encontró que las instalaciones del INM en la zona no son las adecuadas y esto promueve que haya enfermedad en los inmigrantes captados además de ser un foco diseminante constante ya que rara vez son tratados estos individuos y también las instalaciones rara vez son desinfectadas y limpiadas adecuadamente.

REFERENCIAS

1. Bailey-Scott. *Diagnóstico microbiológico*. 7ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1992. p. 121,140-150,762.
2. Koneman A, et al. *Diagnóstico microbiológico*. Texto y atlas a color. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2001. p. 202-203, 529, 540-542.
3. Comisión clínica de infecciones. *Guía para la prevención y control de la infección hospitalaria*. Madrid: Hospital "la Paz"; 1998.

M-12

LEPTOSPIROSIS HUMANA UNA ENFERMEDAD EN QUIEN PENSAR EN EL AMANECER DEL SIGLO XXI

Obregón-Fuentes Ana Margarita,¹ Fernández Carmen,¹ Rodríguez Islay,¹ Hurtado Idania,¹ Martínez Beatriz,¹ Rodríguez José,¹ Martínez Raydel,² Serrano Teresita,³ Díaz-Jidy Manuel.³

¹Laboratorio Nacional de Referencia de Leptospiras. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Ciudad de la Habana. Cuba. e-mail: amobregon@ikp.sld.cu. ²Subdirección de Epidemiología. ³Subdirección de Atención Médica.

Palabras clave: Leptospirosis, serodiagnóstico, epidemiología.

Introducción: Durante el primer semestre de 2002, ocurrió en la Habana un brote epidémico de dengue clásico. Paralelamente en este periodo se observó un incremento considerable en el número de casos sospechosos de Leptospirosis. En el presente trabajo, se exponen los resultados del estudio clínico - seroepidemiológico de todos los casos sospechosos, remitidos al Instituto Pedro Kouri (IPK), durante este periodo epidémico.^{1,2}

Metodología: Se realizó un estudio analítico descriptivo en 264 pacientes sospechosos que habitaban en la Habana, desde enero y hasta junio de 2002. Ciento tres pacientes tenían historias clínicas. Fueron realizadas las técnicas: hemocultivos, la MAT, HA, Lepto Tek Dri Dot y Lepto Tek Dip Stick.³

Resultados: De los pacientes con historia clínica, 33 (32%) fueron serológicamente positivos y el 97% vivían en C. Habana. El sexo masculino fue el predominante (64%), y el rango de edades más afectado fue el de 15 a 44 años (73%). El grupo de ocupación laboral permanente sin riesgo aparente (73%) y el contacto con animales domésticos (67%) seguidos de alta infestación por roedores (24%) predominaron. La fiebre (88%), cefalea (73%) y mialgias (67%) fueron los síntomas y signos predominantes. El tratamiento de elección fue la penicilina (61%). El 83% de los pacientes tuvieron valores elevados en el conteo de leucocitos y de bilirrubina y el 77% de las transaminasas. El 67% presentó valores altos de CPK. El mayor por ciento de casos positivos fue por el Lepto Tek Dip Stick (42%). De 23 pacientes confirmados por MAT, el 70.5% fueron positivos además por HA. El índice de coincidencia entre HA y MAT con respecto a los métodos de avanzada fue de un 75% y 85% respectivamente. Los serogrupos de Ballum, Canicola y Sejroe fueron los predominantes en el estudio.

Discusión: Durante nuestra investigación demostramos que el dengue y la leptospirosis continúan concomitando en frecuentes epidemias.^{4,5} Según reportes cubanos la positividad en hemocultivos procedentes de brotes es muy baja.⁶ La positividad serológica encontrada en nuestro estudio hubiera sido superior, si la mayoría o totalidad de las muestras estuvieran pareadas.⁷ Los serogrupos encontrados en nuestra investigación coinciden

con otros reportes nacionales.⁸ En nuestra investigación prevaleció la forma clínica anictérica.⁹ La alteración de los marcadores de laboratorio clínico confirmó la sospecha de la enfermedad, coincidiendo que las edades donde es más activa la vida continua siendo la de mayor riesgo.

Conclusiones: La fiebre, cefalea, mialgias, el sexo masculino y las edades entre 15 y 44 años fueron predominantes en el estudio. Serológicamente más del 75% de los casos fueron positivos al menos por una de las cuatro técnicas utilizadas. Los serogrupos de leptospiras encontrados coincidieron con los que mayormente circulan a nivel nacional.

REFERENCIAS

1. Center for Disease Control and Prevention. Outbreak of acute febrile illness among participants in EcoChallenge Sabah 2000, Malaysia. *Morb Mortal Wkly Rep* 2000; 49: 816-817.
2. Center for Disease Control and Prevention. Update: leptospirosis and unexplained acute febrile illness among athletes participating in Triathlons, Nois and Wisconsin. *Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 47: 673-676.
3. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296-320.
4. Vijayachari P, et al. Evaluation of Lepto Dri Dot as a rapid test for the diagnosis of leptospirosis. *Epidemiol Infect* 2002; 129: 617-621.
5. Effler PV, et al. Evaluation of eight rapid screening tests for acute leptospirosis in Hawaii. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1464-1469.
6. Ginebra OA. *Microorganismos espirales: Leptospirosis*. En: Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL. [Eds]. Microbiología y parasitología médica. Vol I. Ciudad de la Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 405-415.
7. Levett PN. Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease. *J Med Microbiol* 1999; 48: 417-418.
8. Saltaren A. *Agrupación serológica de cepas de leptospiras por el método de aglutinación microscópica con sueros hiperinmunes*. Ciudad de la Habana: Tesis de Maestría en Bacteriología Micología, IPK; 1996.
9. Braunwald E, et al. *Harrison's principles of internal medicine*. Vol 2. 15ª ed. New York: Mc Graw-Hill; 2001. p. 1187-1190.

M-13

DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PARÁSITOS EN ZONAS MARGINALES DE PUERTO CHIAPAS Y LOS ALREDEDORES DEL MUNICIPIO DE TAPACHULA

Estrada-González Raúl Eulises,¹ Flores-Salinas Blanca Salomé,¹ Mazariegos-Escobar Miguel Angel,¹ Rivas-Champo Deiss Yuliana,¹ Rodríguez-Feliciano Miguel Angel.²

¹ Estudiantes del 3er semestre de la carrera de QFB. ² Catedrático del Programa de QFB. UNACH Facultad de Ciencias Químicas Km. 2 Carretera a Puerto Madero, Tapachula Chiapas. e-mail: qfbmarf@yahoo.com.mx

Palabras clave: Parasitosis, niños, zonas marginales

Introducción: El parasitismo es una asociación íntima, en la cual una especie funciona como huésped que no recibe beneficio, pero si sufre algún daño, y la otra funciona como parásito, obteniendo alimento y alojamiento, pero produciendo daño al huésped.¹ En el caso de parásitos internos, la vía de entrada más común es a través de la boca. Una vez que el parásito ha conseguido entrar al cuerpo del huésped, es llevado de forma característica, o bien este se traslada de una forma activa hasta un punto de localización,² en donde va a madurar y después reproducir. En un medio cálido-húmedo es muy frecuente la infestación por parásitos intestinales. A pesar de que no siempre se padece de una sintomatología grave, estos crean las mas diversas causas de malestares digestivos que no van a ser detectados fácilmente.

En medios cálidos-húmedos, como en nuestro caso, hay una gran cantidad de parásitos.³

Objetivo: Observar la presencia de parásitos en niños menores de 10 años que viven en condiciones precarias y desfavorables de salud.

Metodología: Estudio transversal, prospectivo, comparativo y observacional. Se capturaron 13 pacientes de Brisas de Cahoacan y 7 pacientes de Puerto Chiapas. Se estudiaron muestras fecales por medio de la técnica de Faust.

Resultados: De acuerdo al estudio realizado pudimos observar que la población de Puerto Chiapas tienen un menor índice de parasitosis, ya que se encontraron 2 muestras positivas de las 7 muestras obtenidas; mientras que en la colonia Brisas de Cahoacan se encontraron 5 positivas de las 13 muestras realizadas. Entre los principales parásitos encontrados son los protozoarios: *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, en forma de quiste (Figura 1). Observando que la *Giardia lamblia* se encontró en mayor proporción en la colonia Brisas de Cahoacan.

Discusión: Aunque ambas poblaciones se encuentran en un clima cálido y húmedo favoreciendo las condiciones de vida para los parásitos, se encontraron más muestras positivas en la colonia Brisas de Cahoacan, ya que esta colonia se encuentra en

condiciones muy insalubres, pues esta ubicada en las orillas del río Cahoacan, el cual está peligrosamente contaminado por aguas de drenaje de la ciudad. Mientras que en Puerto Chiapas abunda la pobreza y la miseria, pero esta gente vive en condiciones menos insalubres.

Comparacion de parasitosis en dos Poblaciones

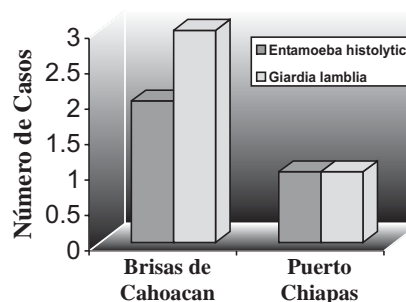


Figura 1: Comparación de parasitosis en dos poblaciones del Municipio de Tapachula, Chiapas.

Conclusiones: La población de la colonia Brisas de Cahoacan presenta un mayor índice de parasitosis, debido a que se encuentra en condiciones de más contaminación en comparación con la población de Puerto Chiapas.

REFERENCIAS

1. Biagi F. *Enfermedades parasitarias*. México: Ediciones Científicas: La Prensa Médica Mexicana; 1976. p. 35-39.
2. Chester P, Clifton R, Wayne E. *Parasitología clínica*. España: Salvat Editores; 1986. p. 14-15, 52-53.
3. Angel G, Angel M. *Interpretación clínica de laboratorio*. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1996. p. 467.

M-14

INDUCCIÓN DE TUBO GERMINAL EN ESPECIES DEL GÉNERO *Candida* EN UN MEDIO DE CULTIVO SINTÉTICO

Rodríguez-Hernández Aida Araceli, Ortiz-Saldivar María Blanca, García de la Cruz Ramón Fernando, Robledo-Briones Angélica Mariana, Zavalza-Stiker Alicia.

Laboratorios de Micología y Bioquímica. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel No. 6. Zona Universitaria. C.P 78200. e-mail: qfbortiz@uaslp.mx

Palabras clave: Tubo germinal, *C. albicans*, *C. dubliniensis*

Introducción: La candidosis es una de las micosis oportunistas que hoy en día se presentan con mayor frecuencia a nivel mundial.^{1,2} Una de las pruebas que se utilizan en los laboratorios para orientar el diagnóstico etiológico de esta micosis es la prueba de filamentación en suero, que permite diferenciar a las especies *Candida albicans*^{1,2} y *C. dubliniensis* de otras del mismo género. Sin embargo, la manipulación de este producto biológico puede constituir un riesgo potencial para el analista, además, debido a que la filamentación de las especies *albicans* y *dubliniensis*, suele modificarse de acuerdo a la naturaleza y concentración de los componentes del suero,² el método puede resultar de baja confiabilidad.

Objetivo: Proponer un método alternativo estandarizado, para la producción de tubo germinativo, útil en la identificación de *Candida albicans* y *C. dubliniensis* que resulte confiable, de fácil preparación, barato y sin riesgo biológico.

Metodología: Se emplearon 25 cepas de levaduras del género *Candida* de las siguientes especies: 19 *albicans* 3 *dubliniensis*, 1 *tropicalis*, 1 *glabrata* y 1 *krusei* del cepario del Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.

Para cada una de las especies se prepararon dos suspensiones de levaduras, una en 5 mL del medio sintético de Lee³ elaborado a base de sales y aminoácidos a un pH de 5.7, y la otra en 5 mL de suero humano, con 3 asadas (0.03 mL) de las cepa problema. Se prepararon dos series de 5 tubos con 0.5 mL de cada una de las suspensiones y se incubaron a 37°C. Se realizaron observaciones microscópicas de las mismas cada 30 min. durante un periodo de 210 min. Previo a la observación, las suspensiones se inactivaron con una gota de formol al 10%.

Resultados y discusión: Los resultados obtenidos tanto en suero como en medio sintético de Lee, mostraron al realizar observaciones, la aparición de tubos germinales a partir de los 90 min. No se apreciaron diferencias morfológicas distintivas entre *Candida albicans* y *C. dubliniensis*. A tiempos más prolongados de incubación se observó la formación de micelio

verdadero. Las especies *Candida krusei*, *C. glabrata* y *C. tropicalis* mostraron resultados negativos, tal como sucede con la prueba tradicional de filamentación en suero. Experimentos preliminares con muestras clínicas procedentes de pacientes con candidosis, atendidos en el hospital central "Dr. Ignacio Morones Prieto" de la localidad, corroboraron la efectividad del medio sintético. Los resultados mostraron que el uso del medio sintético de Lee a base de sales y aminoácidos utilizado en este trabajo, constituye una importante opción para el diagnóstico presuntivo de las especies *C. albicans* y *C. dubliniensis*. Las especies mencionadas formaron tubo germinal en el medio sintético de manera óptima a los 120 min. de incubación a 37°C, mientras que con el método tradicional lo hicieron entre los 180 a 210 min, bajo las mismas condiciones.

Conclusiones:

1. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que la prueba de filamentación en medio de Lee modificado, empleado para la identificación presuntiva de *C. albicans* y *C. dubliniensis* tiene alta especificidad, por lo que puede utilizarse como alternativa a la prueba de filamentación en suero.
2. Otras especies como *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. glabrata*, mantienen inalterable su morfología en el medio de Lee modificado, bajo las condiciones señaladas al igual que con el método tradicional.
3. El medio de Lee modificado posee la ventaja de ser inocuo para el ser humano, de fácil preparación y efectivo para la identificación de las especies mencionadas.

REFERENCIAS

1. Arenas R. *Micología médica ilustrada*. 1ª y 2ª ed. México: Interamericana; 2003. p. 189-196.
2. Bonifaz A. *Micología médica básica*. 2ª ed. México: Cervantes; 2000. p. 301-321.
3. Lee KL, Buckley HR, Campbell HR. An amino acid liquid synthetic medium for development of mycelial and yeast forms of *Candida albicans*. *Sabouradia* 1975; 13: 148-153.

M-15

PRODUCCIÓN RÁPIDA DE CLAMIDOCONIDIOS DE *Candida albicans* EN MEDIOS LÍQUIDOS Y DIFERENTES CONDICIONES DE INCUBACIÓN

García-Hernández Mariana H, Zavalza-Stiker Alicia, Ortiz-Saldivar María Blanca, Castillo-Casanova María Magdalena. Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Micología. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel No. 6. Zona Universitaria. C.P 78200. e-mail: alicia@uaslp.mx

Palabras clave: *Candida albicans*, clamidoconidios, caldo harina de maíz, leche.

Introducción: La formación de clamidoconidios es una característica morfológica de *Candida albicans* que se utiliza en el laboratorio para su identificación. En unión con la prueba de filamentación en suero constituye una herramienta de diagnóstico etiológico sencilla y económica. Otro aspecto importante en la obtención y purificación de clamidoconidios de *Candida albicans* es el interés reciente que ha despertado el aislamiento de estas estructuras en estudios de morfogénesis, particularmente en la identificación de *C. dubliniensis*.¹ Tradicionalmente, la obtención de los clamidoconidios se lleva a cabo en agar harina de maíz añadido de tween 80 (CMA) con un tiempo mínimo de desarrollo de 72 horas. En este estudio se utilizó caldo de harina de maíz (CMB) añadido de diversos sustratos bajo distintas condiciones de incubación para inducir la formación de clamidoconidios en periodos de tiempo más cortos que los reportados en la literatura.

Metodología: Se utilizaron cinco medios líquidos: CMB más 1% de tween 80, CMB más 5% de leche, CMB más 5% de suero de leche, suero de leche y suero de leche más 1% de tween 80. El CMB se preparó a una concentración del 3% en agua destilada. El suero de leche se obtuvo a partir de leche de vaca sin pasteurizar, empleando enzimas para la coagulación de la caseína y separándolo por filtración. Para el estudio se emplearon cultivos provenientes del cepario del Lab. de Micología de la Fac. de Ciencias Químicas de la UASLP, seis de *Candida albicans* y una de *C. stellatoidea*; como controles negativos una de *C. guilliermondii* y otra de *C. parapsilosis*. Cada una de las cepas contaba con un esquema de tipificación precisa mediante pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Los medios fueron inoculados con 100 µL de la suspensión problema a una concentración de 1x10⁶. Las pruebas se realizaron en tubo, se incubaron en baño metabólico a 28 y 37°C, a 150 rpm. y en estufa a 28°C (sin agitación). Los resultados se leyeron a las 8 y 16 horas.

Resultados y discusión: En tres medios se obtuvo la producción de clamidoconidios en un lapso de tiempo de 16 hrs: CMB más 5% de leche, CMB más 5% de suero de leche y CMB más tween 80, con incubación en baño metabólico a 28°C y 150 rpm. En

ninguno de los cinco medios se obtuvo desarrollo de estas estructuras en los tiempos determinados bajo incubación en estufa a 28°C. La producción de clamidoconidios más eficiente se logró en los medios de CMB más 5% de leche. Se confirmó la efectividad de la leche como un factor que ayuda a la formación de clamidoconidios de *C. albicans*, en combinación con el CMB.² El suero de leche también contribuyó (con menor efectividad) a la formación de las estructuras mencionadas. La acción de ambos fue superior a la del tween 80. La temperatura óptima de incubación, fue de 28°C. La agitación fue determinante en la obtención de estas estructuras. La disminución en el tiempo de obtención de clamidoconidios constituye una ventaja en el trabajo cotidiano de diagnóstico de laboratorio de levaduras del género *Candida*.^{2,3} De la misma manera en las investigaciones de morfogénesis se puede favorecer la eficiencia en la separación de clamidoconidios, por la gran cantidad que se pueden generar bajo las condiciones establecidas, además de la reducción en tiempo.

Conclusiones: En el presente trabajo se logró reducir el tiempo para la formación de clamidoconidios de *C. albicans* a 16 horas, un 20%, respecto al mejor tiempo reportado en la literatura. Las condiciones ideales para lograrlo incluyen el empleo del medio de cultivo líquido CMB adicionado con un 5% de leche e incubación en baño metabólico a 28°C y agitación a 150 rpm. La temperatura de 28°C y la incubación bajo agitación son determinantes para la producción de clamidoconidios en periodos cortos de tiempo.

REFERENCIAS

1. Fabry W, Schmid EN, Schrap M, Ansorg R. Isolation and purification of chlamydospores of *Candida albicans*. *Medical Mycol* 2003; 41: 53-58.
2. Nakamoto S. Promotion of chlamydoconidium formation in *Candida albicans* by corn meal broth incubation. *Medical Mycol* 1998, 36: 123-125.
3. Viddoto V, Caramello S, Gallo M G. A new medium for the production of chlamydoconidia by *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1986; 95: 73-75.

M-16

REMOCIÓN DE COLIFORMES FECALES EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DEL CAFÉ, UBICADO EN LA FINCA ARGOVIA DEL MUNICIPIO DE TAPACHULA, CHIAPAS

Orozco-Magdaleno Carlos Emilio,¹ Cruz-López Judith,¹ Barrientos-Becerra Humberto O,¹ Soto José,² Bruno Giesemann.³

¹Fac. de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas. Km. 1.5 Carretera a Puerto Madero. ² Comisión Nacional del Agua, Carretera Antiguo aeropuerto Km. 2.5. 3. Finca Argovia Oficinas: 21 privada Oriente No. 70. Tapachula de C. y O, Chis., Fax. 962-6251555/6262461

Palabras clave: SBR, coliformes fecales.

Introducción: La depuración de aguas residuales requiere de soluciones eficientes y económicas que respondan a necesidades propias de la entidad, es decir que sea un beneficio directo para los usuarios. La combinación de sistemas de tratamiento de aguas como: bancales húmedos vegetativos y reactores secuenciales por lotes (SBR), puede ser una alternativa (Figura 1). El sistema SBR procesa las aguas residuales por medio de un tratamiento biológico aeróbico-anóxico basado en la generación de lodos activados por medio de aireación y disminución de nutrientes en etapa anóxica.¹ Los bancales tienen atractivos potenciales para el tratamiento de aguas residuales, y son que: fijan físicamente los contaminantes en la superficie del suelo y materia orgánica, utiliza y transforma los elementos por medio de los microorganismos.²

Objetivo: Determinar la remoción de bacterias coliformes en el sistema combinado de tratamiento de aguas residuales.

Metodología: Se tomaron muestras en frasco de vidrio estériles, se transportaron al laboratorio en un medio frío y se procesaron. El método se basó en la inoculación de alícuotas de la muestra, diluida en una serie de tubos de un medio de cultivo líquido conteniendo lactosa (prueba presuntiva), los cuales se incubaron a 44°C/24-48 h; los que presentaron turbidez con producción de gas fueron resembrados en un medio confirmativo selectivo (bilis verde brillante) y se incubaron a 37°C/24-48 h. De los tubos positivos se interpoló en tablas para leer el índice de número más probable (NMP)/100 mL.³

Resultados y discusión: Los resultados de laboratorio arrojaron una alta presencia de coliformes fecales en el agua de entrada

(afluente) siendo arriba de 11,000 NMP. En el agua de salida (efluente) se presentó durante los meses de agosto hasta mediados de octubre una alta concentración de coliformes (Figura 2). Esto se explica debido que al inicio de la puesta en marcha de la planta se inocularon los SBR con estiércol de ganado y quedó incrustado parte de ese estiércol en las tuberías que distribuyen el agua en el humedal artificial 2, a partir de la limpieza de estos la calidad bacteriológica del agua disminuyó notablemente.

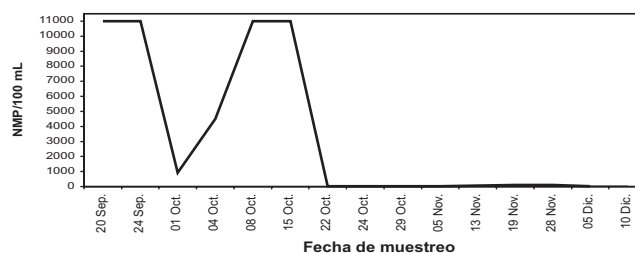


Figura 2. Gráfica de coliformes fecales.

Conclusiones: Existe depuración del 99% del agua tratada. Es necesario un programa de mantenimiento de limpieza a los equipos de la planta de tratamiento

REFERENCIAS

1. Time Answer Engineering. *The service for water, air and waste treatment*. Disponible en: <http://www.tanswer.cl/>. Nov 2004.
2. Salgot M, Lara J. *Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales*. Tesis, Barcelona, Esp; 1999.
3. *Norma Mexicana NMX-AA-42-1987*, Calidad del agua determinación del número mas probable (NMP) de coliformes fecales.

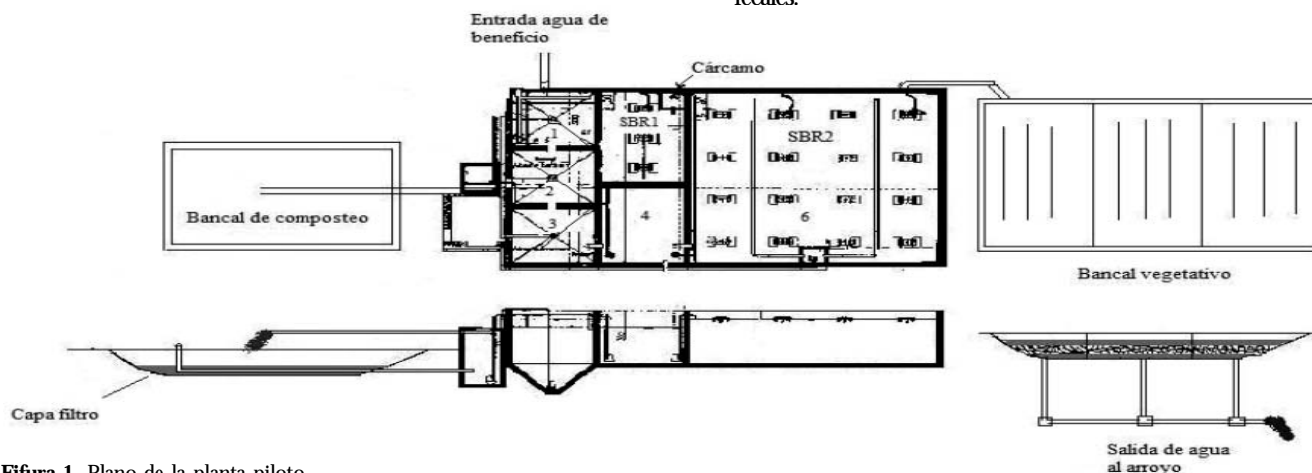


Figura 1. Plano de la planta piloto.

M-17

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE AMPLIFICACIÓN DE FAGOS PARA LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN *Mycobacterium tuberculosis*

Izquierdo Sergio Luis, Lemus Dihadenys, Echemendia Miguel, Maestre Jorge Luis, **Montoro Ernesto**.

Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK) Autopista Novia del Mediodía, Km 6½, Apartado 601, Marianao 13, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7- 2046051). e-mail: emontoro@ipk.sld.cu

Palabras clave: Ragos, rifampicina, *Mycobacterium tuberculosis*.

Introducción: Los programas de control contra la tuberculosis (TB) se encuentran cada vez más amenazados por el incremento a nivel mundial de cepas de *M. tuberculosis* multidrogorresistentes (MDR). Dicho término se les aplica a aquellas cepas que son resistentes al menos a rifampicina o isoniacida, dos de los fármacos más potentes dentro de la terapia estándar que se le realiza al paciente. La detección rápida de resistencia a las mismas es de gran importancia ya que no sólo evita un tratamiento ineficaz sino que contribuye al control epidemiológico de tal situación. Actualmente los métodos convencionales para el estudio y diagnóstico de susceptibilidad en TB requieren de varias semanas para obtener los resultados y los sistemas comerciales y herramientas moleculares son muy costosos.¹ El objetivo de este trabajo fue evaluar la técnica de amplificación de fagos en cepas *M. tuberculosis* como una alternativa rápida para la detección de resistencia a la rifampicina.

Metodología: Se utilizó el Mycobacteriofago D29 a un título de 10^8 UFP/mL. La concentración final de la rifampicina fue de $10 \mu\text{g/mL}$. Se añadieron $75 \mu\text{L}$ de la cepa en cuestión más $75 \mu\text{L}$ de rifampicina, se incubó 24 horas y posteriormente se aplicaron $50 \mu\text{L}$ de fago y se incubó 90 minutos con el objetivo de que el fago penetrara en la cepa objeto de estudio. Se añadieron $100 \mu\text{L}$ de sulfato de hierro amoniacal con el fin de inactivar el exceso de fago. Se incubó 24 horas y se observaron las placas de lisis en las cepas que resultaron resistentes a rifampicina; en las cepas sensibles, el fago no se replicó y no se observó lisis en las placas indicadoras.^{2,3}

Resultados y discusión: Los resultados se obtuvieron en 48 horas y fueron comparados con el método de las proporciones

(Método de Referencia). Los parámetros de sensibilidad, especificidad, y coeficiente de concordancia fueron de 100%.

Se considera la detección de resistencia a rifampicina como un marcador de MDR, en países de alta prevalencia de resistencia.⁴

Conclusiones: Esta técnica podría convertirse en una alternativa rápida, simple y económica en países de escasos recursos donde la TB y la MDR constituyan un problema de salud.

REFERENCIAS

1. Wilson S, Al-Suwaidi Z, McNerney R, Porter J, Drobniewski F. Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Med* 1997; 34:465-468.
2. McNerney R, Wilson SM, Sidhu AM, Harley VS, al Suwaidi PM, Parish T. Inactivation of mycobacteriophage D29 using ferrous ammonium sulphate as atool for the detection of viable *Mycobacteriumsmegmatis* and *M. tuberculosis*. *ResMicrobiol* 1998; 149: 487-495.
3. McNerney R, Kiepiela P, Bishop K S, Nye PM, Stoker NG. Rapid screening of *Mycobacterium tuberculosis* for susceptibility to rifampicin and streptomycin. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 69-75.
4. McNerney R, Kambashi B, Kinkese J, Tembwe R, Godfrey P. Development of a bacteriophage phage replication assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2115-2120.

M-18**COMPORTAMIENTO DE LA RESISTENCIA DE *Mycobacterium tuberculosis* A LOS FÁRMACOS ANTIBACILARES EN CUBA, 1997-2002**

Montoro Ernesto, Echemendía Miguel, Lemus Dihadenyx, Llanes María J.

Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, Km 6½, Apartado 601. Marianao 13, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7-2046051), e-mail: emontoro@ipk.sld.cu.

Palabras clave: Resistencia, *Mycobacterium tuberculosis*, Cuba.

Introducción: La epidemia de tuberculosis (TB) continúa aumentando cada año un 3 % a escala mundial. Una de las principales causas que ha favorecido el incremento de esta enfermedad, es la aparición y circulación de cepas multirresistentes a los fármacos (MDR, siglas en inglés). La OMS ha estimado que existen cada año 300 000 nuevos casos de TB-MDR en todo el mundo y 50 millones de personas están infectadas por bacilos tuberculosos con multirresistencia. Esta situación se considera tan sólo el comienzo de un problema de consecuencias impredecibles, ya que este importante reservorio puede ser el futuro de una epidemia de TB potencialmente incurable.¹ El objetivo de este trabajo fue conocer el comportamiento de la resistencia en casos nuevos y pacientes previamente tratados en 1883 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* procedentes de todo el país en el período 1997-2002.

Metodología: Se utilizó el método de las proporciones en su variante económica tipo b, mediante la técnica indirecta para determinar los patrones de sensibilidad/resistencia frente a los fármacos de primera línea [isoniacida (INH), estreptomycin (SM), etambutol (EMB) y rifampicina (RMP)] utilizados en el esquema de tratamiento de la TB.^{2,3}

Resultados y discusión: De las 1883 cepas estudiadas; 1774 pertenecieron a casos nuevos de TB y de ellas 109 (6.14%), presentaron algún tipo de resistencia. La resistencia se comportó para INH 0.62 %, 4.18 % para SM, 0% para RMP y EMB. La MDR fue del 0.39%. Entre las 187 cepas de pacientes con antecedentes de tratamiento anterior, 54 (29%) presentaron algún tipo de resistencia y 12 cepas mostraron MDR. Los resultados del presente trabajo, forman parte del Segundo (2000)

y Tercer Estudio Mundial (2004) organizados por la OMS/ UICTER. Durante la ejecución de estos proyectos, todas las regiones de la OMS han estado representadas, permitiendo conocer el estado actual de las resistencias en el mundo y, sobre todo, de la MDR.^{2,3} Se pudo llegar a la conclusión de que este fenómeno está presente en todo el mundo, pero existen variaciones de unas zonas a otras, pero siempre en estrecha relación con buenos o malos Programas Nacionales de Control de Tuberculosis (PNCT) aplicados en el pasado.

Conclusiones: Los datos aportados por Cuba demostraron que nuestro país se encuentra relativamente libre de cepas MDR, en contraste con la situación alarmante que presentan otras regiones, reconociéndose a nivel mundial el buen funcionamiento del PNCT en Cuba y el éxito de la aplicación en nuestro país del tratamiento estrictamente supervisado desde el año 1971.

REFERENCIAS

1. Montoro E. La resistencia a múltiples fármacos: una amenaza para el control de la Tuberculosis. *Rev Panam Salud Pública* 2004; 16: 68-73.
2. Montoro E, Echemendía M, Lemus D, Marrero A, Llanes MJ, Valdivia JA. Vigilancia de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a las drogas antituberculosas en Cuba, 1995-1998. *Biomédica* 2004;24:80-4.
3. Montoro E, Echemendía M, Lemus M, Valdivia JA. Surveillance of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Cuba 1997-2000. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: S199.

M-19

MÉTODOS RÁPIDOS PARA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN CEPAS DE *Mycobacterium tuberculosis*

Lemus-Molina Dihadenys,¹ Martín Anandi,² Montoro Ernesto,¹ Portaels Francoise,² Palomino Juan Carlos.²

¹ Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, Km 6½, Apartado 601. Marianao 13, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7-) 2046051. e-mail: dlemus@ipk.sld.cu ² Institute of Tropical Medicine "Prince Leopold", Antwerpen, Bélgica.

Palabras clave: Resistencia, rifampicina, *Mycobacterium tuberculosis*

Introducción: La necesidad cada vez más creciente de acortar el tiempo de las pruebas de susceptibilidad en *Mycobacterium tuberculosis* están relacionadas fundamentalmente con la diseminación de cepas multidrogorresistentes (MDR). Los métodos convencionales brindan resultados de 3 a 6 semanas. Con los medios líquidos (BACTEC y MGIT) y los métodos moleculares, se obtienen resultados más rápidos, pero se necesitan equipos y medios que no son accesibles a la mayoría de los países de escasos recursos, donde la tuberculosis (TB) representa un serio problema de salud. Muchas investigaciones se han encaminado en los últimos años hacia el desarrollo de métodos rápidos y económicos que faciliten la vigilancia de la resistencia.¹ En el presente trabajo fueron estudiadas 20 cepas de *M. tuberculosis* para determinar susceptibilidad y/o resistencia frente a la rifampicina empleando diferentes métodos de susceptibilidad, los resultados fueron comparados con el método de las proporciones (método de referencia).

Metodología: Se utilizaron los sistemas comerciales radiométrico Bactec 460, tubo indicador de crecimiento de micobacteria (MGIT) y el sistema INNO-Lipa que determina mutación en el gen *rpoB*; además se utilizaron los sistemas colorimétricos estandarizados en el laboratorio MTT, resazurina donde se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el método de la nitrato reductasa.^{2,3}

Resultados y discusión: Con la aplicación de todos los métodos, se obtuvieron 10 cepas sensibles e igual número de cepas resistentes a la rifampicina. Los resultados se obtuvieron en 10 días como promedio. Las 10 cepas resistentes mostraron mutación en el gen *rpoB* por el método INNO-Lipa. Por los métodos colorimétricos MTT y resazurina, las cepas sensibles

mostraron CMI < 0.0625 µg/mL. Una de las 10 cepas resistentes mostró CMI de 1 µg/mL y las 9 restantes mostraron CMI > 2 µg/mL. El método de referencia (proporciones) confirmó estos resultados.

La rifampicina constituye el fármaco más importante en el tratamiento de la TB. La aparición de resistencia a este fármaco constituye un marcador de MDR en países con alta prevalencia, por lo que es imprescindible disponer de resultados lo más rápido posible para instaurar cambio de tratamiento en estos pacientes y así evitar la diseminación de cepas MDR en la comunidad.

Conclusiones: Los ensayos colorimétricos y la técnica de reducción de nitratos brindaron resultados en un tiempo promedio de 10 días. Se encontró una perfecta correlación entre todos los métodos evaluados. Los nuevos métodos demostraron ser herramientas de gran valor para estudios de resistencia con rifampicina.

REFERENCIAS

1. Montoro E, Lemus D, Nicolau E, Echemendía M. Use of nitrate reductase assay for rapid determination of drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: S251.
2. Lemus D, Echemendía M, Montoro E. Application of the MTT colorimetric assay for rapid detection of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: S199.
3. Lemus D, Martín A, Montoro E, Portaels F, Palomino JC. Rapid alternative methods for detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 130-133.

M-20

NUEVOS MÉTODOS PARA ESTUDIOS DE SUSCEPTIBILIDAD EN *Mycobacterium tuberculosis*

Montoro Ernesto,¹ Lemus Dihadenys,¹ Martín Anandi,² Echemendía Miguel,¹ Portaels Françoise,² Palomino Juan Carlos.²

¹Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, Km 6½, Apartado 601. Marianao 13, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7-) 2046051. e-mail: emontoro@ipk.sld.cu ²Institute of Tropical Medicine "Prince Leopold", Antwerpen, Bélgica.

Palabras clave: Susceptibilidad, resistencia, *Mycobacterium tuberculosis*.

Introducción: La necesidad cada vez más creciente de acortar el tiempo de las pruebas de susceptibilidad en *Mycobacterium tuberculosis* está fundamentalmente relacionada con el incremento del fenómeno denominado multidrogorresistencia (MDR). Teniendo en cuenta que los métodos convencionales para los estudios de susceptibilidad en tuberculosis requieren de varias semanas para obtener los resultados y que los sistemas comerciales y herramientas moleculares son muy costosos, muchas investigaciones se han dirigido hacia el desarrollo de métodos rápidos y económicos que brinden de manera confiable resultados de susceptibilidad.¹ El objetivo de este trabajo fue aplicar nuevos métodos para determinar susceptibilidad y/o resistencia en cepas de *M. tuberculosis*.

Metodología: Se estandarizó y aplicó los métodos colorimétricos MTT y resazurina, para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria^{2,3} así como el método de la nitrato reductasa (MR).¹ Se estudiaron 100 cepas de *M. tuberculosis* pertenecientes a la colección del Laboratorio Nacional de Referencia de TB del IPK frente a los fármacos de primera línea utilizados en el tratamiento de la TB [isoniacida (INH), estreptomina (SM), etambutol (EMB) y rifampicina (RMP)]. Los resultados obtenidos por el método de las proporciones (MP) fueron empleados como referencia para construir las curvas ROC para cada fármaco y se determinó los puntos de corte para cada fármaco así como se calculó los parámetros de sensibilidad, especificidad, y coeficiente de concordancia.

Resultados y discusión: Los resultados se obtuvieron en un período de 7-14 días y los valores de corte obtenidos fueron de >0.25 µg/mL, >1 µg/mL, >4 µg/mL y >0.25 µg/mL para INH, SM, EMB y RMP respectivamente. Los valores de sensibilidad y especificidad fueron superiores al 95% y 83% respectivamente, y los de concordancia fueron de 88.2%, 90.2% y 98.2% para el REMA, MTT y MNR, respectivamente.

Conclusiones: Los resultados obtenidos muestran las posibilidades que ofrecen para los países de escasos recursos las nuevas técnicas de detección de resistencia por ser simples, rápidas y brindar resultados confiables de resistencia.

REFERENCIAS

1. Montoro E, Lemus D, Nicolau E, Echemendía M. Use of nitrate reductase assay for rapid determination of drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: S251.
2. Lemus D, Echemendía M, Montoro E. Application of the MTT colorimetric assay for rapid detection of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: S199.
3. Lemus D, Martín A, Montoro E, Portaels F, Palomino JC. Rapid alternative methods for detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 130-133.

M-21

DETERMINACIÓN DE LA DL₅₀ DE UNA CEPA DE *Cryptococcus neoformans* UTILIZANDO DIFERENTES VÍAS DE INOCULACIÓN

Illnait María Teresa, Valdés Iliana, Fernández Carlos, Perurena Mayda, Martínez Gerardo.

Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Autopista Novia del Mediodía Km 6½, Ciudad de La Habana, Cuba. e-mail: mtilnai@ipk.sld.cu

Palabras clave: *Cryptococcus neoformans*, DL₅₀, intraperitoneal, intratraqueal, endovenosa.

Introducción: Antes del advenimiento de la terapia con anfotericina B, las infecciones del sistema nervioso central ocasionadas por *C. neoformans* eran invariablemente fatales. Otros agentes quimioterapéuticos han sido utilizados para el tratamiento de la enfermedad y más recientemente se ha evaluado de forma experimental la inmunoterapia así como las inmunizaciones con conjugados obtenidos a partir del polisacárido capsular purificado covalentemente acoplado a toxoide tetánico.¹

En general, el proceso de producción de vacunas es controlado mediante diferentes ensayos, entre los que se cuenta el de potencia, éste mide la protección que confiere el producto a animales inmunizados que reciben una dosis conocida de microorganismos virulentos, la cual se expresa cuantitativamente y su unidad de medida es la dosis letal 50% (DL₅₀). En este trabajo se describe la metodología utilizada para determinar la DL₅₀ de una cepa de *C. neoformans* utilizando diferentes vías de inoculación.

Metodología: Se utilizaron 126 ratones Balb/c machos de 8-12 semanas de vida con un peso corporal entre 15 y 25 g. Se utilizó la cepa autóctona de *C. neoformans* var. *neoformans* serotipo A LMIPK 028 perteneciente a la colección del laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La cepa fue cultivada en placas de agar dextrosa Sabouraud durante 72 horas a 28°C. Se prepararon las suspensiones de trabajo en solución salina fisiológica estéril, las cuales fueron ajustadas mediante conteo en cámara de Neubauer a 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³ y 10² células/inóculo.

Para realizar la infección experimental, se utilizaron 6 ratones por inóculo, infectados con 50 µL de la dosis correspondiente para cada vía de inoculación: endovenosa (ev), intraperitoneal (ip) e intratraqueal (it). Los animales fueron sometidos a una estrecha vigilancia durante 60 días. A los fallecidos se les realizó examen directo con nigrosina de pulmones, bazo y cerebro. Al término del tiempo señalado, se realizó este mismo procedimiento a los sobrevivientes para corroborar la existencia de la levadura en los tejidos.

La determinación de la DL₅₀ se realizó por el método descrito por Reed y Muench² teniendo en cuenta los valores acumulativos de muertes y sobrevivientes para cada inóculo utilizando.

Finalmente, fueron inoculados 6 ratones más por cada vía estudiada utilizando las DL₅₀ obtenidas, con los cuales se siguió igual conducta que con los anteriores. Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se aplicó la prueba de Wilcoxon.

Resultados: La DL₅₀ determinada fue 10^{2.69}, 10^{2.2} y 10^{4.29} células/inóculo para las vías it, ip y ev, respectivamente. Esto quedó corroborado al obtener el 50% de animales fallecidos al término de 60 días, cuando le fueron inoculadas estas dosis.

El análisis estadístico realizado mostró diferencias significativas al comparar la vía ev con la it e ip ($p < 0.05$), no siendo así para estas dos últimas en las que se encontró similar comportamiento.

El examen directo con nigrosina confirmó la presencia de levaduras con amplia en los tejidos de todos los animales, especialmente en los fallecidos, donde se encontraban en cantidad muy superior comparados con los sobrevivientes.

Discusión: Nuestros resultados demuestran que las vías ip e it se comportaron de forma más agresiva que la ev, la cual requirió un inóculo aproximadamente 100 veces mayor para producir el mismo efecto. Este hallazgo pudiera atribuirse a que la circulación sanguínea distribuye la levadura a través de todo el organismo, por lo que tiene que enfrentarse a los diferentes componentes que integran el sistema macrófago-monocítico.

Conclusiones: El poder contar con un valor establecido de DL₅₀ de una cepa, utilizando diferentes vías de inoculación, proporciona una valiosa herramienta para la evaluación de la capacidad protectora de posibles inmunógenos, mediante ensayos con retos controlados en un modelo animal. Además, permite llevar a cabo una mejor interpretación de los estudios de patogenia y de los ensayos terapéuticos en modelos experimentales.

REFERENCIAS

1. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microb Rev* 1995; 8: 515-548.
2. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Hygiene* 1938; 27: 493-497.

M-22

PORTADORES DE BACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN NIÑOS DE UN CÍRCULO INFANTIL

Martínez Isabel,¹ Álvarez Níurka,² Villasusa Isabel,¹ Mirabal Mayelin,¹ Izquierdo Luis.

¹Laboratorio de Microbiología, Instituto Finlay, La Habana, Cuba. ²Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Jagüey Grande, Matanzas, Cuba. email: isabelm.motas@infomed.sld.cu

Palabras clave: *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, infección vías respiratorias altas.

Introducción: La nasofaringe humana, es un reservorio natural de bacterias potencialmente patógenas. Entre éstas se encuentran: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis* y *N. meningitidis*, entre otras. En los niños pequeños, estos microorganismos provocan la mayoría de las infecciones del tracto respiratorio superior e inferior y algunos son también responsables de manifestaciones clínicas sistémicas capaces de provocar la muerte.¹ Debido a su transmisión por vía respiratoria y a que las infecciones que provocan constituyen un problema pediátrico importante resulta de gran interés conocer su prevalencia en grupos de riesgo.

Objetivo: Conocer la prevalencia de *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis* y *N. meningitidis* en la nasofaringe de niños que asisten a una guardería de La Habana. Además, se investigó la posible relación existente entre factores de riesgo (edad, sexo, antecedente de infecciones en vías respiratorias altas (IRA), fumador pasivo, hacinamiento, flora bacteriana asociada, y la colonización por estas bacterias en los niños muestreados.

Metodología: Después de obtener la aprobación por las autoridades de salud y el consentimiento informado de los padres y/o tutores, se realizó un estudio transversal descriptivo en 160 niños del círculo infantil "Canto a La Esperanza de Ciudad de La Habana". A todos, se les realizó exudado de la nasofaringe posterior e inmediatamente, éste se sembró en medios de cultivo recomendados para el aislamiento de: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis* y *N. meningitidis*. La identificación de los mismos se realizó mediante métodos convencionales y el sistema API NH.² Además, cada padre o tutor llenó una encuesta donde se indagó sobre la existencia de los factores de riesgo (edad, sexo, antecedente de IRA, hacinamiento, fumador pasivo, flora bacteriana acompañante, otros), capaces de influir con la presencia de estos microorganismos en la nasofaringe de los niños muestreados.

Resultados: Predominaron los niños de 3-4 años y del sexo masculino (54.3%). En el 92.5% se aisló *Haemophilus* y a *H. influenzae* correspondió el 54.7%; Se detectó neumococo en el 77.5%; mientras que: *S. β-hemolítico*, *N. meningitidis*, *S. aureus* y *M. catarrhalis*, se identificaron en porcentajes inferiores (4.4; 4.4; 3.7 y 3.7%), respectivamente. Existió diferencia estadísticamente

significativa ($p < 0.001$) cuando se compararon los portadores y no portadores de *S. pneumoniae* en niños menores de 2 años.

Discusión: La prevalencia de bacterias patógenas en la nasofaringe de niños que asisten a guarderías se reporta por varios autores y su búsqueda a este nivel se aborda con frecuencia, aunque resulta una actividad compleja.³ En nuestro trabajo, el género *Haemophilus* predominó y prevaleció en los niños de 3-4 años. Los niños que asisten a los círculos infantiles, sufren infecciones respiratorias con frecuencia, ya que el hacinamiento al que suelen estar sometidos y el contacto estrecho entre los niños de estas instituciones, predisponen a la colonización por los microorganismos detectados en este trabajo.¹ El aumento del número de niños colonizados por *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*, puede identificar a una subpoblación de niños que presentan un mayor riesgo para padecer otitis media.¹ Por lo expuesto anteriormente, el monitoreo de estas bacterias en niños que asisten a círculos infantiles, aportará datos clínicos y epidemiológicos valiosos que permitirán tomar medidas preventivas para disminuir la emergencia de cuadros clínicos invasivos y en aquellos para los cuales hoy existen vacunas, estudios similares permitirán evaluar su influencia sobre el estado de portador.

Conclusiones: Se detectaron porcentajes elevados de portadores de microorganismos potencialmente patógenos, aunque sólo resultó significativa la comparación de portadores y no portadores de *S. pneumoniae* en los niños menores de 2 años. La relación de portadores y no portadores con el resto de los factores de riesgo investigado, no resultó significativa y en un número elevado de niños, se constató la asociación de *H. influenzae* con *S. pneumoniae*.

REFERENCIAS

1. Nardi-Lozano E, Espinosa LE, Viñas-Flores L, *et al.* Infección respiratoria aguda en niños que acuden a un centro de desarrollo infantil. *Salud Publica Mex* 2002; 44: 201-206.
2. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Winn WC. En: *Diagnóstico microbiológico*. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998.
3. Gómez-Barreto D, Calderón-Jaime E, *et al.* Carriage of antibiotic-resistant pneumococci in a cohort of a day care center. *Salud Publica Mex* 2002; 44: 26-32.

M-23

PORTADORES DE BACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN NIÑOS DE UNA ESCUELA PRIMARIA

Martínez Isabel,¹ López Omar,¹ Bencomo Antonio,² Núñez Niury,¹ Climent Yanet,¹ Mirabal Mayelin.¹¹Dirección de Asistencia Científico Técnica Aplicada (DACTA), Instituto Finlay, La Habana, Cuba. ²Instituto Hematología, La Habana, Cuba. email: isabelm.motas@infomed.sld.cu**Palabras clave:** Infección de vías respiratorias, población pediátrica, *N. meningitidis*

Introducción: La nasofaringe humana, es un reservorio natural de bacterias potencialmente patógenas, entre éstas se citan: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *N. meningitidis*, entre otras. En la población infantil, estas bacterias ocasionan la mayoría de las infecciones del tracto respiratorio y algunos, son también responsables de manifestaciones clínicas sistémicas capaces de provocar la muerte.¹ Debido a su transmisión por vía respiratoria y a que las infecciones que provocan constituyen un problema pediátrico importante resulta de gran interés conocer su prevalencia. Además, la importancia del portador de *N. meningitidis* y su relación con la enfermedad meningocócica (EM) se reconoce desde hace muchos años. El estado de portador depende de la exposición a un caso clínico o a otro portador. Su prevalencia en áreas no endémicas se estima entre el 5-10 % y puede ascender entre el 17-50% entre familiares de casos con meningitis. Se señalan factores de riesgo que favorecen la colonización de la nasofaringe por *N. meningitidis*, entre éstos se reportan: edad, sexo, hábito de fumar, flora bacteriana acompañante, infección respiratoria aguda, amigdalectomía y hacinamiento, entre otros.² Actualmente, la incidencia de EM en Cuba es baja, no obstante, detectar la prevalencia de portadores y las características de las cepas circulantes constituye un interés del Instituto Finlay. Por encontrarnos en un período no epidémico y ser escasos en nuestro país los estudios de portadores entre la población escolar, nos propusimos detectar su prevalencia en una Escuela Primaria de Ciudad de La Habana, junto con diferentes factores de riesgo investigados.

Objetivos: Conocer la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y otras bacterias potencialmente patógenas en la nasofaringe de niños de 5-12 años, matriculados en la Escuela "Mártires del Corynthia" de Ciudad de La Habana, caracterizar las cepas aisladas y relacionar el estado de portador con los posibles factores de riesgo investigados.

Metodología: Se obtuvo previamente la aprobación por parte del Ministerio de Educación, Salud Pública y el consentimiento informado de padres y/o tutores. El estudio se realizó en niños de 5-12 años de edad de la "Escuela Mártires del Corinthia". De una matrícula de 380 niños, 318 cumplieron con los requisitos establecidos. En todos, se realizó una encuesta para indagar

sobre los aspectos de la investigación y los diferentes factores de riesgo. Se realizó exudado de la nasofaringe posterior, éste se sembró en medio de agar Thayer Martin y agar sangre de carnero defibrinado al 5% y se incubó a 37°C con 5% de CO₂. Además, se tomó muestra de saliva, se inactivó a 56°C y se centrifugó a 3400 rpm. por 10 minutos, conservando el sobrenadante a -70°C hasta su procesamiento. La identificación de las bacterias aisladas se realizó por métodos convencionales. La caracterización de *N. meningitidis* en sero/subtipos e inmunotipos se hizo por ELISA de células enteras con AcMs y para la detección del estado secretor de antígenos de grupo sanguíneo ABH en la saliva, se empleó una técnica de inhibición de la hemaglutinación.³

Resultados y discusión: Se detectó un 6.9% de portadores de *N. meningitidis* y éste resultó mayor en los niños de 11 años, mostrando significancia estadística la asociación de *N. meningitidis* con tres de los factores de riesgo detectados: edad ($p=0.024$), antecedente de IRA reciente ($p=0.018$) y la presencia de *N. lactamica* y *S. pneumoniae*. El 90.9% de las cepas de *N. meningitidis* fueron no agrupables (NA) y entre ellas predominó el fenotipo NA:NT:P1.NST:L3,7,9. Se encontraron varias asociaciones fenotípicas y otros patógenos potenciales colonizando la nasofaringe de los niños. No hubo asociación significativa entre el portador de *N. meningitidis* y el estado secretor de antígenos ABH.

Conclusiones: El número de portadores mostró cifras similares a las descritas en la literatura para este grupo, predominaron las cepas NA:NT:P1.NST:L3,7,9. La edad, el antecedente de IRA y la presencia de *S. pneumoniae* y *N. lactamica*, se asociaron de forma estadísticamente significativa al portador.

REFERENCIAS

1. Nardi-Lozano E, Espinosa LE, Viñas-Flores L, *et al.* Infección respiratoria aguda en niños que acuden a un centro de desarrollo infantil. *Salud Publica Mex* 2002; 44:201-206.
2. Vázquez JA. Portadores de meningococo: un enigma del siglo XX. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18: 352-355.
3. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM Winn WC. En: *Diagnóstico microbiológico*. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998.

M-24

ASOCIACIÓN DE LA RESISTENCIA A ERITROMICINA CON LA PRESENCIA DEL GEN *mefA* Y AISLAMIENTOS DEL SEROTIPO M75 DE *Streptococcus pyogenes* DE ORIGEN CLÍNICORivas-López María del Carmen,¹ Inzunza-Montiel Alma Edna,¹ Garza-Velasco Raúl,² Cravioto Alejandro,¹ Perea-Mejía Luis Manuel.¹¹Departamento de Salud Pública; ²Departamento de Biología, Facultad de Química; Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. Universitaria. México D.F. Fax. 56-23-21-88. e-mail: lmpm@servidor.unam.mx**Palabras clave:** *Streptococcus pyogenes*, resistencia a antibióticos, exudados faríngeos.

Introducción: *Streptococcus pyogenes* (Estreptococo beta hemolítico del grupo A) es considerado un importante patógeno para el humano asociado a una diversidad de cuadros clínicos entre los que se encuentran: faringitis, fiebre escarlatina, enfermedades invasivas, así como secuelas no supurativas como la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda.¹

La penicilina se ha mantenido como el antibiótico de primera elección para el tratamiento de las infecciones por *S. pyogenes* siendo la eritromicina, o algunos de los nuevos macrólidos (claritromicina, roxitromicina, azitromicina) la elección de segunda línea sobre todo en pacientes alérgicos a la penicilina.²

A partir de la década pasada se han identificado cepas de *S. pyogenes* resistentes a eritromicina con porcentajes que varían desde el 5 al 60% de los aislamientos.³ Lo que ha motivado en diferentes países, el establecimiento de una vigilancia epidemiológica sobre el comportamiento de esta resistencia. En *S. pyogenes*, se conocen tres genes asociados a la resistencia a macrólidos denominados *mefA*, *ermTR* y *ermB*. Mientras que el primero es relacionado con el mecanismo de expulsión selectiva del antibiótico, los otros codifican para una enzima que modifica el sitio blanco del antibiótico en el ribosoma bacteriano.³ El objetivo de este estudio comprende la identificación de los genes asociados a la resistencia a eritromicina y sus asociación con el serotipo M de *S. pyogenes*.

Metodología: 391 cepas clínicas de *S. pyogenes* fueron obtenidas de diferentes entidades de salud en la ciudad de México (hospitales e institutos públicos y privados) en el periodo 2001-2004. La resistencia a eritromicina (15 µg) se determinó por pruebas de difusión de acuerdo a los estándares para las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos (NCCLS). El fenotipo de resistencia se determinó utilizando un disco de clindamicina (2 µg). El ADN de cada cepa fue extraído por técnicas comerciales y sometido a la amplificación de los genes *mefA*, *ermTR* y *ermB* por la técnica de la PCR. El genotipo de resistencia fue correlacionado con el serotipo M de las cepas estudiadas el cual ha sido reportado previamente para esta colección de aislamientos de *S. pyogenes*.⁴

Resultados: Se detectaron 30 cepas resistentes a eritromicina, lo que equivale al 7.7% de las 391 estudiadas. De ellas 28 presentaron el fenotipo de resistencia "M", el cual esta

relacionado con la presencia del gen *mefA*; un aislamiento presentó el fenotipo inducible denominado "iMLS" con la detección del gen *ermTR* y en un aislamiento no fue detectado ninguno de los genes conocidos de resistencia. Las cepas resistentes fueron asociadas al serotipo M75, 28/30 (93%) (cepas con el gen *mefA*) y el serotipo M4, 2/30 (7%) (una cepa con el gen *ermTR*).

Discusión: A pesar del uso indiscriminado de los antibióticos en nuestro país, la resistencia a eritromicina determinada en este estudio (7.7%) pareciera no ser elevada cuando se compara con reportes de otros países. Sin embargo, este representa el primer reporte en nuestro país donde se demuestra la asociación de la resistencia a eritromicina con un serotipo particular de la bacteria. No obstante se requiere contar con estudios que ayuden a mantener la vigilancia epidemiológica sobre los genes y serotipos de la bacteria asociados a la resistencia a este grupo de antibióticos ampliamente usado en nuestro país.

Conclusiones:

- La resistencia a eritromicina en cepas clínicas de *S. pyogenes* es del 7.7%.
- El principal fenotipo de resistencia esta asociado a la presencia del gen *mefA*.
- La resistencia eritromicina en cepas clínicas de *S. pyogenes* esta confinada al serotipo M75.

REFERENCIAS

1. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 470-511.
2. Seppälä H, Nissien A, Jarvinen H, *et al.* Resistance to erythromycin in group A Streptococci. *N Engl J Med* 1992; 326: 292-297.
3. Weisblum B. *Resistance to Macolide-Lincosamide-Streptogramin Antibiotics*. In: Fichetti V, *et al* (Ed). Gram-Positive Pathogens. Washington, DC: ASM Press; 2000. p. 694-710.
4. Inzunza A, Figueroa F, Pérez L, Dávila R, Garza R, Cravioto A, *et al.* Prevalencia de los genes (*emm*, *speA*, *speB*, *sof*, *prtFysic*) asociados a la virulencia de cepas de *Streptococcus pyogenes* de origen clínico. *Bioquímica* 2004; 29(Supl.A): 101.

QC-1

EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *Cecropia obtusifolia* BERTOL Y POSIBLE SINERGISMO CON GLIBENCLAMIDA

Esteva-Durán Nadia, Castellanos-Martínez Antonio. Escuela de Ciencias Químicas. Laboratorio de Bioquímica. Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. UABJO. Av. Universidad s/n Col. 5 señores, Oaxaca, Oax. CP 68120. Fax: (951) 51 112-63. e-mail: la_morget@hotmail.com

Palabras clave: Diabetes mellitus, hipoglucemia, sinergismo.

Introducción: Oaxaca es el estado con mayor biodiversidad en el país y aunado a sus 16 grupos étnicos hacen que se cuente con una gran cultura con respecto a plantas medicinales.¹ Actualmente la diabetes mellitus es la primera causa de muerte en México, es por ello que en este trabajo, aprovechando los recursos y el amplio conocimiento de los pueblos indígenas acerca de las plantas medicinales, evaluamos el efecto hipoglucemiante de tres plantas que son utilizadas como antidiabéticas en el estado, así como el posible sinergismo con la glibenclamida.

Objetivo: Determinar el efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos de *Malvastrum coromandelianum* L., *Hymenaea courbaril* L. y *Cecropia obtusifolia* Bertol, así como el posible sinergismo de los extractos acuosos con la glibenclamida.

Metodología: Se realizó un estudio etnobotánico previo para identificar a las plantas que presuntamente presentan actividad hipoglucemiante. Se evaluó el efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos de las tres plantas en ratas cepa Wistar, administrándoles por vía oral dosis de 500 y 1000 mg/kg de peso, cada hora a partir del tiempo basal hasta las 6 horas. Las ratas se distribuyeron en lotes de seis por su concentración de glucosa basal y determinándose la concentración de la glucemia por el método enzimático-espectrofotométrico. Con otro lote, se evaluó el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de la planta que presentó dicho efecto a dosis a 5000 mg/kg de peso y se determinó su glucemia a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 horas. Con otro lote se evaluó el efecto de este extracto acuoso a dosis de 5000 mg/kg de peso en combinación con glibenclamida, monitoreándose en el mismo intervalo de tiempo. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) con prueba de Dunnett como *post hoc* para la comparación de grupos.²

Resultados y discusión: De las tres plantas evaluadas ninguna presentó efecto hipoglucemiante significativo a 500 mg/kg de

peso. Por otra parte, al ser evaluadas a 1000 mg/kg de peso, la *C. obtusifolia* Bertol (guarumbo) presentó efecto hipoglucemiante a partir de la tercera hora. Estudios previos arrojaron que *C. obtusifolia* Bertol no presentó efecto al evaluar su toxicidad.³ Debido a esto, se quiso ver el efecto a 5000 mg/kg de peso, encontrándose un efecto mayor que a 1000 mg/kg de peso a partir de la sexta hora. Al evaluar la posibilidad de un efecto sinérgico de esta planta a 5000 mg/kg. de peso con la glibenclamida, se encontró que el efecto hipoglucemiante es mucho mayor que la glibenclamida sola a 10 mg/kg de peso y el extracto acuoso a 5000 mg/kg de peso.

Conclusiones: El extracto acuoso de *C. obtusifolia* Bertol a 1000 y 5000 mg/kg de peso presenta efecto hipoglucemiante en ratas Wistar. Se encontró que la acción combinada del extracto acuoso de *C. obtusifolia* Bertol con la glibenclamida si produce un efecto sinérgico. Este hecho es importante porque permitiría un menor uso de este fármaco y con ello se reduciría la aparición de los innumerables efectos adversos debido a la administración prolongada.

REFERENCIAS

1. Tercero Quintanilla E. *Plantas medicinales del herbario del IMSS, su distribución por enfermedades*. México: Grupo Roche Syntex de México; 1998. p. 300.
2. Steel RGD, Torrie JH. *Bioestadística*. Principios y procedimientos. 2ª ed. México: McGraw-Hill; 1985. p. 625.
3. Cruz Palomec E. *Determinación de la actividad hipoglucemiante y antihiperlipidémica de cuatro plantas utilizadas comúnmente como antidiabéticas en el estado de Oaxaca*. Tesis de licenciatura. Escuela de Ciencias Químicas (UABJO), Oaxaca. 2004. p. 42.

QC-2

DETERMINACIÓN DE MICROALBUMINURIA COMO COMPLEMENTO DEL EXAMEN GENERAL DE ORINA, EN LA DETECCIÓN TEMPRANA DE DAÑO RENAL

Fagundo-Sierra Reynerio, **Venegas-Noriega Rosalba**, Islas-Pacheco Francisco, Mastache-Salgado Amelia. Carpermor, Laboratorio de Referencia Internacional. e-mail: rfagundo@carpermor.com.mx

Palabras clave: Microalbuminuria, proteinuria, relación albúmina / creatinina.

Introducción: La determinación de microalbuminuria resulta fundamental para detectar aquellos pacientes en riesgo de desarrollar lesión del glomérulo renal en una etapa en la cual todavía no existen evidencias clínicas de nefropatía y si se implementan medidas terapéuticas adecuadas se pueden evitar las complicaciones.¹ Los métodos habituales utilizados para la medición exacta de albúmina en muy bajas concentraciones (radioinmunoanálisis, ELISA, nefelometría) tienen un costo elevado, por lo que actualmente existen métodos rápidos cualitativos o semicuantitativos, basados en principios colorimétricos que permiten la detección rápida de microalbuminuria.² El equipo Clinitek 50 realiza la determinación simultánea de microalbúmina y creatinina, empleando tiras reactivas en muestras de orina, determinando también la relación albúmina/creatinina (RAC).

Objetivo: Demostrar la utilidad de la determinación de microalbuminuria mediante tiras reactivas como complemento del examen general de orina en la detección temprana del daño renal.

Metodología: Se procesaron 450 muestras de orina de pacientes de la ciudad de México que acuden al laboratorio solicitando un examen general de orina (EGO). A todas las muestras se les realizó la determinación de proteínas como parte del EGO en el instrumento Urisys 2400. Posteriormente se les realizó la determinación de microalbuminuria, creatinina y relación albúmina/creatinina (RAC), en el instrumento Clinitek 50, con tiras reactivas para albúmina y creatinina específicamente.

Resultados y discusión: De las 450 muestras estudiadas, solo 31 (6.8%) presentaron proteinuria en el EGO, sin embargo 153 (34%) presentaron positividad a la albúmina debido a la mayor sensibilidad del método empleado para esta determinación. De las 153 muestras que presentaron positividad a la albúmina, 28 presentaron proteínas en el EGO, por tanto 125 fueron negativas a proteínas, lo cual indica que pasaron como proteinuria negativa,

siendo pacientes que estaban eliminando albúmina en la orina. Teniendo en cuenta que la excreción de albúmina en la orina está sujeta a múltiples factores, entre los que podemos mencionar la amplia variabilidad intraindividual y los efectos del ejercicio, la postura, la dieta y la diuresis, se recomienda la obtención de una orina de 24 horas u otra muestra cronometrada. Para reducir la influencia de estos factores y poder realizar esta determinación en una muestra de orina al azar se utiliza la RAC, la cual permite discriminar entre valores normales y anormales de microalbuminuria,³ sin embargo es recomendable llegar a un diagnóstico definitivo según sea el caso. Se consideró microalbuminuria positiva cuando la RAC fue igual o mayor de 30 mg/g. De las 450 muestras estudiadas, 54 (12%) presentaron una RAC anormal o patológica, de ellas 24 (5.3%) presentaron proteínas en el EGO, siendo 30 (6.6%) negativas. En estos pacientes el posible daño renal no hubiera sido detectado utilizando estrictamente un EGO.

Conclusiones: La determinación de microalbuminuria mediante tiras reactivas tiene gran utilidad como complemento del EGO en la detección temprana de daño renal.

REFERENCIAS

1. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Groups. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998; 352: 837-53.
2. Crespo MN, Padilla GJ, Crespo VN. Importancia de la microalbuminuria en la diabetes mellitus. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2002; 5: 1-8.
3. Osta V, Natoli V, Diéguez S. Evaluación de dos métodos rápidos para la determinación de microalbuminuria y de la relación albúmina/creatinina en orina. *Anales de Pediatría* 2003; 59: 131-37.

QC-3

TENDENCIAS EN EL CONSUMO DE DROGAS DE ABUSO

Palomares-Guerrero Julio César.

Laboratorio de Análisis Clínicos, Galeno Clínica Médica.

Palabras clave: Drogas de abuso, farmacodependencia, consumo de drogas.

Introducción: De todos es conocido el aumento en el consumo de las llamadas drogas de abuso por personas de todas las edades, de todos los estratos y niveles educativos, esto debido a la facilidad para conseguirlas y al desconocimiento de los verdaderos daños que ocasionan al organismo, ya que aunque todos sabemos que causan mal, siempre se dice que una sola vez no hace daño, y que con probar no se vuelve adicto, sin saber que puede haber alguna predisposición o susceptibilidad a la droga que haga que ésta sea mas dañina para algunas personas que para el resto de la población.¹⁻⁴

Objetivo: Dar a conocer y a entender como han aumentado los índices de consumo de drogas en la población en los años pasados, y que rango de edad esta más propenso a caer en la farmacodependencia de acuerdo a su escolaridad.

Metodología: Se realiza un estudio retrospectivo, comparativo con datos obtenidos de centros de atención a farmacodependientes, tanto en instituciones gubernamentales como no gubernamentales y se compararon los resultados de cómo ha aumentado el porcentaje de consumo de drogas de 1991 a 2000, así como el grado de escolaridad en que más se presentan estos casos.

Resultados:

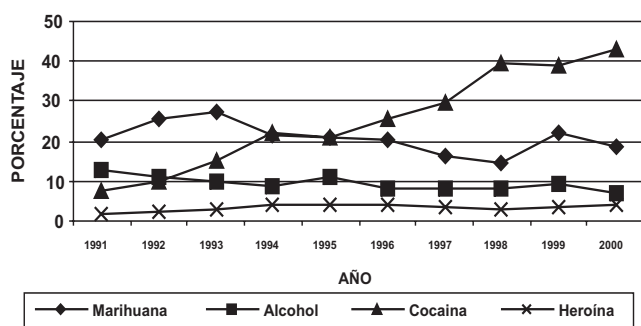


Figura 1. Tendencias de drogas de uso actual 1991-2000 instituciones gubernamentales.

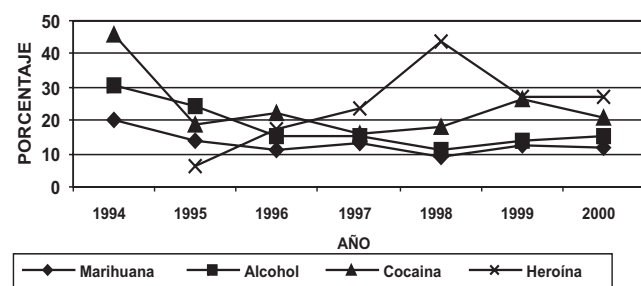


Figura 2. Tendencias de drogas de uso actual 1994-2000 instituciones no gubernamentales. Fuente SISVEA, SSA, 2000.²

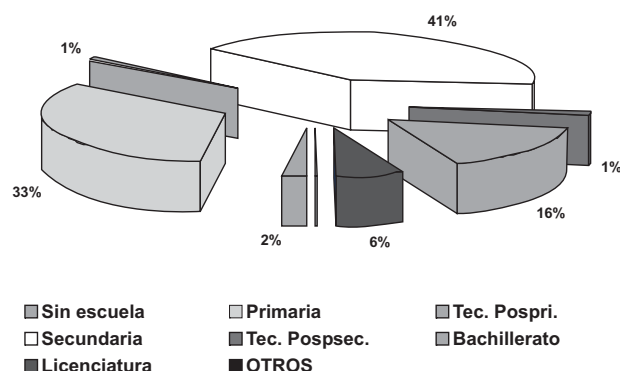


Figura 3. Grado de escolaridad de pacientes atendidos por uso de drogas.

Discusión: Los resultados son claros, en México el problema de la farmacodependencia se ha incrementado, y la población mas afectada es la de jóvenes que estudian la primaria y la secundaria. Se puede observar como el consumo de ciertas drogas ha aumentado en clases media y baja por las graficas de instituciones de gobierno (cocaína), mientras que en las ONG, la tendencia al aumento es heroína, y como esto nos demuestra que el acceso a este tipo de drogas debe de ser más fácil.

Conclusiones: Después de ver los datos y la información recabada se puede dar cuenta de lo importante que es implementar planes de detección de drogas y de orientación hacia las poblaciones mas afectadas, porque en caso contrario, los porcentajes de consumidores seguirán en aumento; y con ello la pérdida de recursos materiales y humanos será mucho mayor, con el correspondiente deterioro de la calidad de vida de las familias involucradas en estos casos de farmacodependencia.

REFERENCIAS

1. Dreisbach, RH. *Manual de toxicología clínica prevención, diagnóstico y tratamiento*. 6ª ed. México: El Manual Moderno. 1995.
2. SISVEA. Centros de tratamiento gubernamentales. Centros de integración juvenil (CIJ). México: DGE-SSA. 2000.
3. Clínicas Médicas de Urgencia de Norteamérica. *Aspectos psiquiátricos de la medicina de urgencia*. Madrid: Interamericana-McGraw Hill; 1991.
4. Gradwohl. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1986.

QC-4

RELACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO, ESTRÉS OXIDATIVO, NIVELES SÉRICOS DE LEPTINA Y PROTEÍNA C REACTIVA CON LA DESCOMPENSACIÓN DIABÉTICA

Rosado-Pérez Juana, Sánchez-Rodríguez Martha, Retana-Ugalde Raquel, Ruiz-Ramos Mirna, Mendoza-Núñez Víctor Manuel. Unidad de Investigación en Gerontología, FES Zaragoza, UNAM. Av. Guelatao No. 66 Col. E. de Ote. México, D.F. e-mail: juanaropez@yahoo.com.mx Proy. DGAPA, PAPIIT IN-226404.

Palabras clave: Envejecimiento, estrés oxidativo, proceso inflamatorio, diabetes mellitus.

Introducción: El envejecimiento es un proceso gradual y adaptativo caracterizado por una disminución de la respuesta homeostática como resultado de la acumulación de daños estructurales y funcionales por carga alostática,¹ el cual ha sido asociado con procesos fisiopatológicos como la hiperleptinemia, estrés oxidativo (EOx) y la inflamación crónica, cuyas alteraciones bioquímicas también se presentan en la diabetes mellitus (DM); por lo que esta enfermedad ha sido propuesta como un modelo de envejecimiento acelerado.²⁻⁵ Sin embargo, las evidencias científicas respecto a la relación entre el envejecimiento, el EOx y el proceso inflamatorio en los pacientes con diabetes mellitus no son del todo concluyentes.

Objetivo: Determinar la relación del envejecimiento, EOx, los niveles séricos de leptina y proteína C reactiva con la descompensación diabética.

Metodología: Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 97 sujetos con DM tipo 2, 50 adultos mayores (AM) con promedio de edad de 68 ± 7 años y 47 adultos jóvenes (AJ) con edad promedio de 50 ± 5 años. A todos los participantes se les realizaron mediciones antropométricas, química sanguínea, hemoglobina glucosilada (HbA1c) y biometría hemática; se determinaron marcadores de EOx: lipoperoxidos (LPO), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y capacidad antioxidante total sérica (AT). También se les cuantificó leptina por método inmuno-radiométrico (IRMA) e insulina por radioinmunoensayo (RIA). Los datos fueron analizados a través de medias, desviación estándar, regresión logística.

Resultados: Las concentraciones de HbA1c y LPO fueron significativamente más altas en los AJ ($p < 0.01$), al igual que los niveles de SOD ($p < 0.05$). La proporción de niveles altos de LPO y HbA1c fue significativamente mayor en los AJ ($p < 0.05$), mientras la frecuencia de resistencia a la insulina y positividad a PCR fue mayor en los AM ($p < 0.05$). En el grupo de mujeres jóvenes se encontraron los niveles de leptina más altos que en las AM, a diferencia de los hombres, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Con respecto al envejecimiento como factor de riesgo para la descompensación diabética, se encontró que el ser joven (≤ 59 años), constituye un factor de riesgo altamente significativo para la descompensación diabética (RM = 9.12, IC_{95%} 2.23-37.3; $p < 0.05$). Asimismo, la RI constituye un factor de riesgo relevante para la descompensación diabética en este grupo y la actividad baja de SOD para los AM (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales factores de riesgo de descompensación diabética por grupo de edad.

Factor de riesgo	RM	Intervalo de confianza	Valor de p
Adultos jóvenes			
RI (> 6.21)	15.1	0.56 – 404.50	0.100
Glucosa > 140 mg/dL	7.3	0.85 – 63.60	0.07
SOD < 170 U/L	3.7	0.51 – 27.50	0.190
Adultos mayores			
SOD < 170 U/L	31.5	1.01 – 982.90	0.040
Triglicéridos > 200 mg/dL	17.9	0.42 – 771.50	0.130
Glucosa > 140 mg/dL	9.91	0.55 – 177.3	0.110

Discusión: Los resultados obtenidos demuestran que el proceso de envejecimiento no propicia más EOx e inflamación en los sujetos diabéticos. La edad (< 60 años) en los pacientes diabéticos resultó ser un factor de riesgo importante para la descompensación diabética. En este sentido, considerando la capacidad de adaptación que se desarrolla con el envejecimiento, podemos suponer que los adultos jóvenes que están en una etapa más temprana de la enfermedad presentan cierta desventaja respecto a los mayores que han desarrollado un proceso adaptativo similar al de la hormesis,⁶ además los AM en general tienen un mejor estilo de vida que los jóvenes y mayor adherencia terapéutica probablemente por la aceptación de la enfermedad.

Conclusión: Los niveles más altos de los marcadores de descompensación diabética en los AJ demuestran que el proceso de envejecimiento por sí mismo no implica mayor daño en los AM con DM2.

REFERENCIAS

1. Sánchez-Rodríguez MA, *et al.* México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; 2003. p. 15-79.
2. Mendoza-Núñez VM, *et al.* *Obes Res* 2002; 273:113-119
3. Wang ZW, *et al.* *FASEB J* 2001; 15:108-14.
4. Finkel T, *et al.* *Nature* 2000; 408: 239-247. .
5. Flecha LG, *et al.* *Ciencia al Día Internacional* 2000; 3: 1-17.
6. Bukowski JA. *South Med J* 2000; 93: 371-374.

QC-5

INFLUENCIA DEL LUGAR DE RESIDENCIA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN UNA POBLACIÓN DE ADULTOS MAYORES

Beristain-Pérez Ada Sarai, Sánchez-Rodríguez Martha A, Ruiz-Ramos Mirna, Retana-Ugalde Raquel, Mendoza-Núñez Víctor Manuel. Unidad de Investigación en Gerontología, FES Zaragoza, UNAM. Batalla 5 de mayo s/n, Col. Ejército de oriente, México, D. F. e-mail: loredearabia_27@yahoo.com.mx. Proyecto PAPIIT IN308302.

Palabras clave: Urbano, estrés oxidativo, adultos mayores

Introducción: El estrés oxidativo (EOx) se define como un desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (EROs) y la acción eficiente del sistema antioxidante (SA), a favor de los primeros, lo cual compromete la homeostasis de los organismos.¹ Esta alteración bioquímica se ha relacionado con el envejecimiento y la etiopatogenia de las enfermedades de mayor prevalencia durante la vejez. Está determinado no sólo por mecanismos biológicos, pues también están involucrados factores ambientales, entre los que podemos destacar el envejecimiento y el ambiente urbano generador de contaminación ambiental y estrés psicológico, procesos vinculados con la mayor generación de EROs.² Los estudios científicos realizados hasta el momento son inconsistentes con respecto al efecto que presenta el lugar de residencia urbano sobre el EOx en adultos mayores (AM). Por tal motivo el objetivo de este estudio fue determinar la influencia del lugar de residencia sobre el EOx en una población de AM.

Metodología: Se realizó un estudio observacional, protectivo, transversal y comparativo en una población de 153 adultos mayores (≥ 60 años), de ambos sexos clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico y sin ingesta de suplementos antioxidantes: 60 de Actopan, Hgo. (residencia rural) y 93 de la cd. de México (residencia urbana). En ambos grupos se determinaron los marcadores biológicos de EOx: niveles de lipoperoxidos (LPO), daño al ADN, y eficiencia del sistema antioxidante por medio de la razón SOD/GPx, capacidad antioxidante total (AT) y brecha antioxidante (GAP). Con estos parámetros se establecieron las categorías del sistema antioxidante en: sistema antioxidante eficiente (SAE), deficiencia antioxidante enzimática (DAEN), deficiencia antioxidante exógena (DAEX) y, deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA).^{3,4} Para el análisis de los resultados se emplearon las pruebas estadísticas t de Student, χ^2 y razón de momios (RM) con un intervalo de confianza al 95%.

Resultados: En el cuadro 1 se observa que los AM del área urbana presentaron niveles más altos de LPO que los AM residentes en el área rural (0.347 ± 0.109 mmol/L vs 0.233 ± 0.103 mmol/L, $p < 0.0001$) con alteración de algunos componentes del sistema antioxidante. Se observó que el EOx fue más frecuente en AM del área urbana que en los del área rural (97% vs 60%, $p < 0.0001$) y que el lugar de residencia urbano representa un factor de riesgo para EOx (RM= 30.33, IC_{95%} = 6.81-135.02, $p < 0.0001$). Por otro lado, se observó que los AM que no presentan daño oxidativo al ADN en el área urbana tienen una mayor frecuencia de DGSA ($p < 0.0001$); así mismo los AM del área rural mostraron mayor frecuencia de DAEN y DAEX que el área urbana ($p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente).

Cuadro 1. Marcadores de EOx en AM por lugar de residencia.

Parámetro	Rural (n = 60)	Urbana (n = 93)
LPO (μ mol/L)	0.233 ± 0.103	$0.347 \pm 0.109^*$
SOD (U/L)	170 ± 6	169 ± 9
GPx (U/L)	7887 ± 1705	$5507 \pm 1927^*$
Razón SOD/GPx	0.022 ± 0.005	$0.034 \pm 0.013^*$
AT (mmol/L)	1.11 ± 0.23	$0.85 \pm 0.15^*$
GAP (μ mol/L)	332 ± 251	$84 \pm 174^*$
Células sin daño	98 ± 2	$96 \pm 9^+$

Promedios \pm desviación estándar. Prueba t de Student, * $p < 0.0001$, ⁺ $p < 0.05$.

Discusión y conclusiones: Se ha demostrado que en algunos AM el SA es igual o más de eficiente que en los adultos jóvenes, como consecuencia de factores genéticos, ambientales y estilos de vida, además del proceso adaptativo que ocurre con el envejecimiento. En este sentido, la eficiencia del sistema antioxidante determina en gran medida el tipo de envejecimiento (exitoso, usual y con fragilidad) y la longevidad.⁵ A pesar de que los AM de la cd. de México tienen mayor riesgo de presentar EOx que los residentes del área rural, la longevidad máxima y el estado de salud en general es mejor que la de otros estados de la República Mexicana, lo cual puede ser debido al proceso adaptativo que favorece la resistencia bio-psico-social de los habitantes de la cd. de México.⁶ Los resultados nos permiten concluir que el lugar de residencia urbano constituye un factor de riesgo significativo para el establecimiento de EOx en AM, aunque dichos sujetos se han adaptado al ambiente, lo que se traduce en mejores condiciones de salud que los AM del área rural.

REFERENCIAS

- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408:239-247.
- Lesgards JF, Durand P, Lassarre M, Stocker P, Lesgards G, Lanteaume A, et al. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 479-486.
- Beristain-Pérez A, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez VM, et al. ¿Cómo evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en el estrés oxidativo? Propuesta de un constructo. *Arch Geriatr* 2003; 6:100-104.
- Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Orsorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM, et al. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica* 2004; 29:81-90.
- King CM, et al. *Mutat Res* 1997; 377:137-147.
- Hicks JJ, Medina-Navarro R, Guzmán-Grenfell A, Wacher N, Lifshitz A, et al. Possible effect of air pollutants (Mexico city) on superoxide dismutase activity and serum lipoperoxides in the human adult. *Arch Med Res* 1996; 27: 145-149

QC-6

INFLUENCIA DEL PESO Y LA EDAD GESTACIONAL DEL RECIEN NACIDO EN LA DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE PARA 17- α -OH-PROGESTERONA EN EL TAMIZ NEONATAL PARA LA DETECCIÓN DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGENITA EN SANGRE TOTAL POR METODOLOGIA DELFIA

González-Zavala Ma. Antonia, Martínez-Castillo Ma. Guadalupe, Martínez-Tapia Marco Antonio, Hernández-Guerrero Mario, Díaz-Palestina Julio César, Ramírez-Aguilar Juan Carlos.

Centro de Estudios Neonatales y Genéticos, Hospital Español Ejercito Nacional # 613, Sala 19 Col. Granada México D.F. Fax. 52 55 06 50. e-mail: cenyg@axtel.net

Palabras clave: Hiperplasia adrenal congénita, 17 α -OH progesterona, tamiz neonatal.

Introducción: La Hiperplasia Adrenal Congénita es un error innato del metabolismo, debido a defectos enzimáticos en la biosíntesis de esteroides. El 90% de los casos es causado por la deficiencia de la enzima 21 hidroxilasa.¹

La 17- α -OH-progesterona (17OH-P) es un precursor del cortisol y de la testosterona, en los primeros días de vida puede encontrarse elevada y disminuye a valores normales entre el segundo y el séptimo día de vida. La detección y tratamiento son esenciales para prevenir la muerte en niños con hiperplasia adrenal congénita perdedora de sal.²

Existen diversos métodos para la determinación de la 17OH-P en gota de sangre total en papel filtro, siendo el Delfia uno de los métodos más sensibles que existen en la actualidad para su determinación.³

Objetivo: Evaluar la influencia del peso y la edad gestacional del recién nacido en la determinación del punto de corte para la 17OH-P en gota de sangre total en papel filtro por Delfia.

Metodología: Se estudiaron a 17 389 recién nacidos de instituciones privadas, se incluyeron neonatos de término y pretérmino sanos. Se obtuvieron muestras de sangre por punción del talón y se colocaron en papel filtro (Schleicher & Schuell # 903) entre 24 y 72 horas de vida. Se midió 17OH-P por metodología Delfia (fluoroinmunoensayo de tiempo resuelto) inicialmente se estableció como punto de corte 22 ng/mL, recomendado por el fabricante del reactivo, sin embargo, debido al alto número de repeticiones de segundas muestras nuestro valor de corte fue de 40 ng/mL.

Resultados: De abril del 2001 a abril del 2004, se analizaron los resultados obtenidos de 17OH-P de recién nacidos, con base al peso y la edad gestacional y se obtuvieron los siguientes resultados: los puntos de corte en base al peso fueron: 53 ng/mL para 1000 - 1500 g; 34 ng/mL para 1500-2000 g, 31 ng/mL para 2000-2500 g; 29 ng/mL para > 2500 g. Con relación a la edad gestacional los puntos de corte fueron: para menos de 35 semanas

de 36.6 ng/mL; 36 semanas de 31.8 ng/mL; 37 semanas 29.1 ng/mL; > 39 semanas 28.5 ng/mL.

Para confirmar los niveles altos de 17OH-P, tomamos una segunda muestra, observando que los niveles disminuían a nuestro valor de corte.¹⁻²

Discusión: Los resultados obtenidos muestran un punto de corte más alto en los recién nacidos prematuros y con peso bajo, que va disminuyendo a medida que aumenta tanto la edad gestacional como el peso.

Los valores propuestos para los puntos de corte tienen la misma tendencia que los reportados en la literatura internacional; sin embargo, los puntos de corte obtenidos tienen valores más bajos que los reportados en la literatura internacional.

Conclusiones: La interpretación de los resultados analizados de los recién nacidos muestra una influencia debido al peso y edad gestacional; por lo que se deben establecer los puntos de corte conforme al peso y edad gestacional de los recién nacido. Lo anterior evitaría falsos positivos de los resultados del tamizaje neonatal de los niños prematuros y a término.

REFERENCIAS

1. Allen DB, Hoffma GL, Fitz Patrick P. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight - adjusted criteria for 17- hidroxypregesterona levels. *Screen* 1994; 3:77-84.
2. al Saedi S, Dean H, Dent W, Stocol E, Cronin C. Screening for congenital adrenal hyperplasia: the Delfia screening test overestimates serum 17- hydroxy progesterone in preterm infants. *Pediatrics* 1996; 97: 100-102.
3. van Der Kamp HJ, Noordam CMD, Elvers LH, van Baarie W, Otten BJ, Verker MD. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *Pediatrics* 2001; 108: 1320-1324.

QC-7

UN CASO DETECTADO DE HIPERFENILALANINEMIA A TRAVÉS DE TAMIZ NEONATAL

Martínez-Castillo Guadalupe,¹ Martínez-Tapia Marco Antonio,¹ González-Zavala Ma. Antonia,¹ Sweetman Larry,² Bottiglieri T.²

¹Centro de Estudios Neonatales y Genéticos, Hospital Español Ejército Nacional # 613, Sala 19 Col. Granada México D.F. Tel- Fax. 52 55 06 50. e-mail: cenyg@axtel.net. ² Baylor University Medical Center, Institute of Metabolic Disease, Dallas, Texas, EU.

Palabra clave: Hiperfenilalaninemia, fenilalanina, tamiz neonatal.

Introducción: La hiperfenilalaninemia (HPA) es causada por una deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (PAH) y su cofactor tetrahidrobiopterine (BH4).

El 22% de pacientes con deficiencia de BH4 tienen una elevación moderada de fenilalanina en el período neonatal.¹

Objetivo: Mostrar nuestra experiencia en la detección de un caso de hiperfenilalaninemia por medio de tamiz neonatal utilizando el método fluorométrico-ninhidrina Wallac y espectrometría de masas en Tandem MS/MS.

Metodología: De mayo de 2001 a mayo de 2004 se estudiaron a 22,280 recién nacidos de instituciones privadas. Se obtuvieron muestras de sangre por punción del talón y se colocaron en papel filtro Schleicher & Schuell #903 entre 24 y 72 horas después del nacimiento, se midió fenilalanina por el método fluorométrico y se estableció como punto de corte 2.7mg/dL. A las muestras observadas arriba del valor de corte se les realizó la cuantificación de fenilalanina por espectrometría de masas en Tandem MS/MS.

Resultados: En un paciente se obtuvo una concentración de 5.1 mg/dL, por lo que se tomó una segunda muestra y se realizó espectrometría de masas en Tandem observándose una concentración de 386µM (6mg/dL). Posteriormente, se cuantificaron los aminoácidos en plasma, obteniéndose una concentración de fenilalanina de 376µM con un rango de referencia de 31-94 µM para recién nacidos. Con base en este resultado se realizó la cuantificación de Biopterin en orina y se midió la actividad de dehidropteridina reductasa (DHPR) en sangre en papel filtro. El perfil de Pteridina en orina indicó un porcentaje de Biopterin de 46.3% con un rango normal de 39.5%

(18.1 – 69.2%), de acuerdo a la edad del paciente y la actividad de DHPR se obtuvo una concentración de 1.1. nmol/min/mg Hb con un rango de referencia de 0.8 a 3.9 con una media de 1.6 nmol/min/mg Hb.

Discusión: En este paciente con hiperfenilalaninemia, la concentración de fenilalanina fue de 6mg/dL por espectrometría de masas en Tandem (MS/MS) en el tamiz neonatal. De acuerdo a la literatura es importante establecer la clasificación de hiperfenilalaninemia para dar un tratamiento y seguimiento adecuado con la restricción de fenilalanina en la dieta, ya sea en la leche libre de fenilalanina así como la cantidad de proteínas presentes en los alimentos en forma natural y mantener concentraciones de fenilalanina plasmática en un rango de 8mg/dL.^{2,3}

Conclusiones: En el diagnóstico de hiperfenilalaninemia debida a una deficiencia parcial de la enzima fenilalanina hidroxilasa es importante conocer la actividad de DHPR y de Biopterin para hacer una clasificación y llevar un tratamiento adecuado y mantener niveles de fenilalanina entre 2 y 6 mg/dL.

REFERENCIAS

1. Baldellow A, Campistol J, Colon C, García MJ, Gómez V, Salazar MI, *et al.* El pediatra y la detección precoz de la hiperfenilalaninemia. *Ann Esp Pediatric* 1993; 38: 477.
2. Cederbaum S Phenylketonuria: an up date. *Curr Opin Pediatric* 2002; 14:702-706.
3. Cerone R, Schaffino MC, Fantasia AR, Biok Moller L, Blau N. Lon-term follow up of a patient with milk tetrahydrobiopterin reponse phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2004; 81: 137-139.

QC-8

IMPORTANCIA DE LA BIOQUÍMICA CLÍNICA EN LOS ENSAYOS CLÍNICOS

Lescay-Rizo Magnolia,¹ Sojo-Gómez Magdalena,² Oruña-Sánchez Loyda.¹

¹Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos. (CECMED) Calle 200 No. 1706 Apto. Postal 16065. Código Postal 11600 Ciudad de La Habana, Cuba. e-mail: magnolia@cecmmed.sld.cu. ²Centro Internacional de Restauración Neurológica. (CIREN).

Palabras clave: Ensayo clínico, laboratorio clínico, efectos adversos.

Introducción: El ensayo clínico (EC) es una etapa del desarrollo del producto farmacéutico en donde se prueban en un número reducido de pacientes, verificándose su efectividad, pero pueden ocurrir efectos adversos en personas más sensibles que pueden pasar inadvertidos en esta fase.¹ Los análisis de laboratorio clínico (LC) no sólo contribuyen en el diagnóstico de una entidad patológica, sino que también participan en la evaluación de su evolución.^{2,3} En el caso de los ensayos clínicos tienen también una función importante, ya que contribuyen a la detección de los posibles efectos adversos del medicamento a evaluar y en algunos casos antes de la aparición de las primeras manifestaciones clínicas.

Objetivo: Evaluar la relevancia que ofrecen los análisis de bioquímica clínica, en el diseño de los EC, realizando la investigación a partir de la revisión de expedientes donde se haya realizado un manejo apropiado, con vistas a demostrar la importancia de esta disciplina en nuestro centro esencialmente farmacéutico; mediante la evaluación de la efectividad de las medidas de detección de efectos adversos en los EC.

Metodología: Se revisaron 20 expedientes de solicitud de aprobación de EC, observándose las indicaciones de rutinas de LC, inclusión de estudios relacionados con la farmacología, farmacocinética y toxicología del medicamento en ensayo. Se tuvo en cuenta la inclusión de valores predeterminados de alarma para modificar el control frente a los pacientes o separarlos del estudio. Al final evaluamos las alteraciones de los parámetros de LC como criterio de salida del EC.

Resultados: En los 20 expedientes revisados el 70% (14 expedientes) presentó un buen manejo de los parámetros de LC como parte del diseño del EC. El 10% de los expedientes revisados, correspondientes a medicamentos homeopáticos, no consideran los exámenes de LC como una herramienta de apoyo fundamental a pesar de su indicación, no detectándose

efectos adversos de importancia. El 20% restante se relaciona con medicamentos de uso tópico, los cuales indican exámenes de LC, pero no los consideran como criterios de exclusión de los mismos.

Discusión: En la mayoría de los expedientes estudiados, se aprecia una tendencia uniforme en el criterio de inclusión de los análisis de LC como parte de las herramientas fundamentales del estudio, y los resultados analíticos constituyeron una señal de alarma precoz de la aparición de efectos adversos. En el caso de los medicamentos homeopáticos, a pesar de la indicación de los correspondientes estudios de LC, no son considerados como de importancia, posiblemente por la ausencia de efectos adversos; pero es de nuestro interés realizar estudios más profundos de los mismos. Con relación a los medicamentos de uso tópico, señalan los expertos que se deben resaltar los resultados pre-clínicos de la farmacocinética y de composición del producto decidiéndose de esta forma la necesidad o no de la realización de los ensayos clínicos.

Conclusiones: En el 70% de los expedientes revisados se aprecia una tendencia uniforme en el criterio de inclusión de los análisis clínicos como parte del desarrollo del EC. Con relación a los medicamentos homeopáticos y de uso tópico, debemos considerar los criterios de los expertos para determinar la realización de estudios más profundos referentes a esta temática.

REFERENCIAS

1. CECMED. *Buenas prácticas clínicas en Cuba*. La Habana: Documento de archivo de CECMED; 2000.
2. Fischbach F. *Laboratory diagnostic test*. Philadelphia: JB Lippincott. 4ª ed; 1992. p. 2-3.
3. Cires-Pujol M, Vergara FE. *Guía terapéutica para la atención primaria de salud*. Cuba: Editorial José Martí; 1994. p. 1995.

QC-9

TABAQUISMO: FACTOR DE VARIACIÓN PRE – ANALÍTICA

Sojo Magdalena, Lezcy Magnolia, Saavedra Ania, Quijano Zenaida.

Centro Internacional de Restauración Neurológica. Avenida 25 No 15805 entre 158 y 160. Reparto Siboney. Playa. Ciudad de la Habana, Cuba. e-mail: magdalena@neuro.ciren.cu

Palabras clave: Tabaquismo, fase pre-analítica, pruebas de laboratorio.

Introducción: El tabaquismo es uno de los principales problemas de la salud pública en el campo de las adicciones, constituyendo un factor de riesgo en el desarrollo de ciertas enfermedades que pueden acarrear con la vida del fumador.¹ Por tal, razón la OMS ha decretado desde principios del año 1987 la epidemia del tabaquismo como una emergencia de salud pública a nivel mundial. Nuestro país no escapa a esta situación epidemiológica constatándose un incremento de su consumo.² Por otro lado, es conocido que el tabaquismo modifica los resultados en algunas mediciones en el laboratorio clínico.

Objetivo: Analizar el comportamiento de algunas variables hematológicas y bioquímicas en fumadores con diversos grados de adicción frente a un grupo control y evaluar su influencia.

Metodología: Se midieron las variables hematológicas: hemoglobina, hematocrito, conteo global de leucocitos, volumen corpuscular medio; y bioquímicas: glicemia y lípidograma en todos los sujetos de estudio. Se seleccionaron 72 personas de ambos sexos y supuestamente sanas entre las edades de 21 a 40 años. Se dividieron en dos grupos: Fumadores (A), evaluando el número de cigarrillos diarios en: (AI) 7 A 19 cigarrillos diarios y (AII) 20 cigarros o más; clasificándose el hábito de fumar de ligero, menos de 6 cigarrillos diarios; moderado entre 7 a 9 y severo 20 o más; y un grupo de 27 no fumadores (B) que incluía los que no consumían tabacos desde un año o mas tiempo.² Se realizó encuesta para detectar antecedentes de hiperlipidemias, hipertensión arterial (HTA), cardiopatías, tratamiento medicamentoso, alcoholismo, tiempo del consumo de tabaco y cantidad. Los resultados obtenidos fueron procesados en una computadora ALER 1100SK. El método estadístico fue el análisis de la varianza (ANOVA).

Resultados y discusión: En nuestro estudio se detectó un aumento del recuento de leucocito entre un 10 a 30 % en los

grupos de fumadores. Los efectos crónicos del hábito de fumar incluyen un incremento de la concentración de hemoglobina y hematocrito, derivado de la elevación del número de eritrocitos para compensar la capacidad disminuida de los de los hematíes para el transporte de oxígeno y una subsecuente disminución del VCM.³ En las variables bioquímicas se detectó una diferencia significativa en triglicéridos, VLDLc y HDLc de los grupos AI y AII. Con relación al grupo B, la LDLc sólo mostró diferencia estadísticamente significativa en los grupos de fumadores de mayor exposición a la nicotina. No se encontró diferencia significativa en las medias de colesterol total y glicemia.

Conclusiones: El tabaquismo es un importante factor de variaciones pre-analíticas interfiriendo en los resultados de numerosas investigaciones tanto hematológicas como bioquímicas. Mostrando este trabajo diferencias significativas en dichos parámetros en los adictos al tabaco con relación a los no adictos. Se demuestra la utilidad del VCM como marcador diferencial entre los fumadores y no fumadores. En las investigaciones bioquímicas los niveles de triglicéridos, VLDLc y HDLc exhiben más cambios en los fumadores que en los no fumadores, mientras que la LDLc es más significativa en los fumadores fuertes.

REFERENCIAS

1. González R. Guía para conocer los hábitos provocados por el café, tabaco y alcohol. Como liberarse de los hábitos tóxicos. *Rev Cubana Salud Pub* 1993; 17: 26-36.
2. Boumonterde R. Epidemiología del tabaquismo. *RevParamer Salud Pub* 1997; 1: 49-57.
3. Henry J B. *Diagnóstico y tratamiento en el laboratorio clínico*. Barcelona: JIMS; 1993. p. 171-174.

QC-10

SEGUIMIENTO Y CONTROL BIOQUÍMICO POR EL LABORATORIO CLÍNICO EN PACIENTES CON SIDA Y TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.

Díaz-Pérez Lucía, Serrano-López Teresita, Núñez-Sánchez Felicita, Coffat-Salazar Dinorah, González-Rubio Daniel. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" Departamento de Atención Médica. Autopista Novia del Mediodía, Km 6, La Lisa, CP 601, Ciudad Habana, Cuba Fax: 53 7 2020451. e-mail: luciad@infomed.sld.cu

Palabras clave: HIV/SIDA, antirretrovirales, monitoreo bioquímico.

Introducción: Desde el advenimiento de los antirretrovirales genéricos en junio del 2001 para el tratamiento de los pacientes con SIDA en nuestro país, se trazaron pautas para su evaluación y seguimiento.¹ Para el seguimiento de los casos tratados se tomaron en cuenta parámetros hematológicos, bioquímicos, inmunológicos y la evaluación de la cituria, los cuales deben realizarse con una secuencia trimestral, valorando de esta forma los resultados de la terapia utilizada. Es de nuestro interés señalar las variaciones de las pruebas realizadas a estos pacientes desde el punto de vista hemoquímico, ya que ayudan a evaluar los daños renales, hepáticos y del metabolismo lipídico que pueden causar los medicamentos antirretrovirales.

Aunque no puede evaluar directamente la progresión de la enfermedad por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), si ayuda a indicar el grado de funcionamiento de distintos órganos y ofrece valiosa información sobre los efectos secundarios de los medicamentos. Las pruebas de monitoreo bioquímico deben realizarse de 3-6 meses, aproximadamente, y más a menudo cuando se manifiestan síntomas o deterioro del paciente según el antirretroviral utilizado.² Es preferible realizar las pruebas utilizando siempre el mismo laboratorio y siguiendo el mismo procedimiento para que las evaluaciones sean más precisas.

Objetivos: Evaluar las alteraciones bioquímicas en los pacientes con SIDA y terapia antirretroviral. Evaluar los daños renales, hepáticos y alteraciones de los lípidos en pacientes tratados con inhibidores de las proteasas e inhibidores de la reversotranscriptasa nucleósidos y no nucleósidos.

Metodología: Se estudiaron 150 muestras de suero pertenecientes a pacientes con SIDA atendidos por consulta externa en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", los cuales habían recibido tratamiento con inhibidores de proteasa (Indinavir y Ritonavir) y de reversotranscriptasa nucleósidos y no nucleósidos (d4T, Nevirapine y Efavirenz). A estos pacientes se les realizaron las siguientes determinaciones: lactato deshidrogenasa (LDH), alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), creatinina, colesterol y triglicéridos, en un equipo Hitachi 704 según las normas establecidas en los PNO del laboratorio clínico del IPK,

empleando además los calibradores y controles establecidos por la firma Roche incluyendo los controles internos establecidos en nuestro laboratorio.

Resultados y discusión: En los 150 pacientes estudiados que recibieron terapia antirretroviral con inhibidores de proteasa (Indinavir y Ritonavir), de la reversotranscriptasa nucleósidos (d4T) y la reversotranscriptasa no nucleósidos (Nevirapine y Efavirenz), las pruebas bioquímicas que se alteraron fueron AST (15%), ALT (15%), creatinina (12%), colesterol (9%) y triglicéridos (21%). Estas pruebas pueden encontrarse alteradas debido al daño causado por los efectos secundarios de los medicamentos anti-VIH.

Cuando existe una enfermedad de base como son las hepatitis virales, la hepatotoxicidad puede ser mayor. Esto también ocurre con el daño renal como la nefrolitiasis causada por cristales de Indinavir, los cuales se encuentran en la orina en el 20% de los pacientes.³ En el caso de los lípidos provocan en los pacientes la lipodistrofia e hiperlipidemia, lo cual es un factor de riesgo en enfermedades cardiovasculares, lo cual se observa con los inhibidores de proteasas e inhibidores de la reversotranscriptasa no nucleósidos (d4T).⁴

Conclusiones: En este trabajo se demostró la utilidad de las pruebas bioquímicas para el seguimiento de los pacientes con SIDA que recibieron terapia antirretroviral. Nos permitió valorar el daño renal, hepático y el trastorno de los lípidos que pueda tener el paciente, así como valorar el cambio del tratamiento.

REFERENCIAS

1. Pérez-Ávila J, *et al.* *Pautas cubanas para el tratamiento antirretroviral en los pacientes con VIH/SIDA*. Cuba: IPK; 2004.
2. Haddad y Reyes-Terán, *et al.* HIV Medicine 2003. p. 206-213.
3. Boubaken K, *et al.* Changes in renal function associated with Indinavir. *AIDS* 1998; 12: f 249-254.
4. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, *et al.* Diagnostics, prediction and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia and diabetes mellitus. A cohort study. *Lancet* 1999; 353: 2093-2099.

QC-13

DETERMINACION DE VALORES DE REFERENCIA DEL PERFIL DE LIPIDOS EN POBLACION DEL ESTADO DE MORELOS EN INDIVIDUOS CLINICAMENTE SANOS

García-Jiménez Sara, Monroy-Noyola Antonio, Barragán-García Alejandro, Ramírez-Tapia Alfonso, Bustamante-Ríos Anibal, Lagunas-Ramos A Janeth.

Facultad de Farmacia Universidad Autónoma del Estado de Morelos. e-mail: saragarcia@uaem.mx

Palabras clave: Colesterol total, perfil de lípidos, triglicéridos.

Introducción: En las últimas 3 décadas, en nuestro país las enfermedades cardiovasculares, se encuentran entre las primeras causas de muerte, siendo la aterosclerosis coronaria la principal causa de mortalidad por infarto al miocardio.¹

La detección oportuna de niveles altos de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol de alta densidad (HDL) y colesterol de baja densidad (LDL) contribuyen a la prevención de enfermedades coronarias.

Los niveles de lípidos en las poblaciones humanas se encuentran asociadas a otros factores de riesgo, como son la alimentación, la obesidad, la diabetes, y los factores genéticos, por esta razón en este trabajo presentamos los niveles de los lípidos en una población del Estado de Morelos. Consideramos que es importante en un inicio contar con valores de referencia de los lípidos propios del lugar para estudiar más adelante sus posibles patologías.²

Objetivo: Determinar los valores de referencia de los principales analitos que conforman al perfil de lípidos, en una población clínicamente sana de la Ciudad de Cuernavaca, Morelos.

Metodología: El estudio se realizó de manera aleatoria, según lo indica la guía y procedimientos del *Nacional Committee for Nacinal Laboratory Standard* (NCCLS).³

Se aplicaron criterios de exclusión a una población de 120 individuos entre 20 y 45 años de edad, de ambos sexos y sin antecedente familiares de enfermedades cardiovasculares. Las determinaciones se realizaron en suero con ayuno previo de 12 h. La cuantificación de los diferentes analitos se realizó por métodos enzimáticos con espectrofotometría UV/VIS y con estuches de diagnóstico provistos por Laboratorios Wiener,⁴ la metodología analítica fue previamente validada con el uso del control interno.

Resultados: Los criterios de exclusión eliminaron al 8% de los individuos participantes. A los resultados restantes se les aplicó un análisis estadístico preliminar.

La media del colesterol total fue de 140.7 ± 33 mg/dL; triglicéridos 109.0 ± 36 mg/dL; HDL 50.4 ± 12 mg/dL y LDL 95.0 ± 26 mg/dL.

Discusión: Los resultados encontrados en este estudio para el colesterol están por debajo de los reportados por *National Cholesterol Education Program*,⁵ donde consideran al valor del colesterol menor de 200.0 mg/dL como "deseable" y de 240.0 mg/dL como "elevado"; para los triglicéridos los valores encontrados son ligeramente inferiores a los reportados: sospechoso a partir de 150 mg/dL y elevado a partir de 200 mg/dL. Con respecto al HDL y a LDL los valores encontrados son muy similares a los reportados en la literatura: HDL entre 35-55 mg/dL para hombres y de 45 a 65 mg/dL para mujeres. LDL de 70-156 mg/dL para mujeres y de 70 a 185 mg/dL para hombres.

Conclusión: Es importante contar con valores de referencia propios de la región a estudiar, donde la alimentación y otros factores de riesgo influyen en la concentración de lípidos sanguíneos.

REFERENCIAS

1. Posadas-Romero C, et al. Valores de colesterol sérico en la población mexicana. *Salud Publica Mex* 1992; 34: 157-167.
2. Laurence A Kaplan-Pesce. *Química clínica. Teoría, análisis y correlación*. 3th ed: Publishers Inc; 2001.
3. NCCLS. *How to define and determine referent intervals in the clinical laboratory: approved guideline, NCCLS document C28-A (ISBN 1-56238-269-1)*. Villanova, Penn; 1995.
4. Wiener Lab. *Especialidad para laboratorios clínicos*. Representaciones Labin Mexico, SA de CV.
5. Expert panel of National Cholesterol Educational Program. *JAMA* 2001; 285: 2486.

QC-14

DETERMINACIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN LA POBLACIÓN DE “NUEVO PROGRESO” MUNICIPIO DE ARRIAGA, EN EL ISTMO-COSTA DE CHIAPAS

Cruz-Zavala Ana Yancy,¹ López-Roblero Prisma Yufani,¹ Zorrilla-Rodríguez Héctor,¹ Villalobos-Mina José Manuel,¹ Ibarias-Osorio José Manuel,¹ Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel.²

¹ Estudiantes del 3° Semestre de Q.F.B. ² Catedrático del Programa de Q.F.B.. UNACH Facultad de Ciencias Químicas. Km. 2 Carretera a Puerto Madero, Tapachula, Chiapas. Fax: 01 962 62 51555. e-mail: qfbmarf@yahoo.com.mx

Palabras clave: Hiperglucemia, diabetes mellitus, glucemia.

Introducción: El examen de glucosa en sangre es un procedimiento de rutina en el laboratorio clínico para la detección temprana de diabetes mellitus (DM). La determinación de concentraciones elevadas de glucosa en sangre llamada hiperglucemia es la principal manifestación de DM;¹ no obstante que este examen no es suficiente, si advierte la necesidad de recurrir a otros análisis clínicos complementarios, a saber: hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, glucosa proinsulina ² para atenderla oportunamente. La etiología de DM se asocia tanto a factores desencadenantes: obesidad, alcoholismo, así como a factores hereditarios.³ Hoy en día la DM tiene una incidencia del 6% en México, ocupó el 3er. lugar como causa de mortalidad general en 1997, el 9º lugar en personas de 25-34 años, el 6º lugar en personas de 35-44 años y el 3er lugar en personas de 45 años en adelante. Los altos índices de casos de DM representan una gran repercusión social debido a que si el individuo no recibe o sigue el tratamiento adecuado puede llegar a la incapacidad. En el estado de Chiapas existen muchas comunidades marginadas cuyos habitantes difícilmente se realizan este tipo de examen lo cual incrementa el porcentaje de DM.

Objetivo: Determinar los índices de glucosa sérica en una población adulta marginada del Istmo-Costa de Chiapas y analizar la incidencia de hiperglucemia como una manifestación de diabetes mellitus.

Metodología: Se realizó un estudio de tipo transversal, prospectivo, observacional y descriptivo a una muestra de 25 individuos de ambos sexos, seleccionada de manera aleatoria simple de un total de 100 adultos de la comunidad de Nuevo Progreso, Chiapas, México. Se eligió esta población debido a su lejanía con las principales ciudades y por los hábitos alimenticios a base de carne y lácteos de sus habitantes, propensa a presentar hiperglucemia.

De 8:00 a.m. a 9:00 a.m., se tomaron las muestras sanguíneas a los pacientes, con ayuno de 12 horas; posteriormente se procesaron en un espectrofotómetro 2100, con longitud de onda de 500 nm con espesor de celda de 1mL. Utilizando la técnica glucosa GOD/PAP (Líquido) de Randox Laboratories, Ltd.

Resultados: De un total de 25 muestras procesadas el 28% (7/25) resultaron con altos niveles de glucosa (> 150 mg/dL) (Figura 1), es decir, con hiperglucemia, todos ellos presentaban obesidad (> 10% de su peso ideal). Solo 1 de los pacientes se le

había diagnosticado diabetes mellitus previamente. Seis de los casos que presentaron hiperglucemia eran de sexo femenino (24%), todas dedicadas a labores del hogar y sólo un paciente masculino (4%) sin empleo. El 45% de los casos afirmaron tener antecedentes familiares diabéticos y el 80% de pacientes muestreados afirmó tener similares hábitos alimenticios.

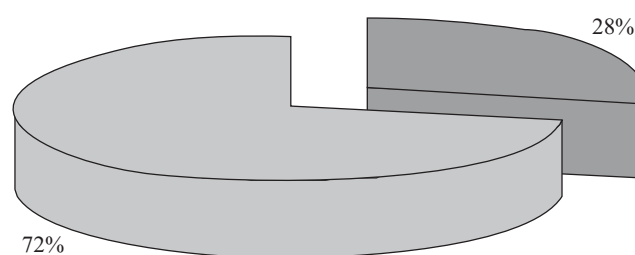


Figura 1. Comparación de personas con hiperglucemia y alto riesgo de padecer DM.

Discusión: Se puede advertir que los casos de hiperglucemia son menores en individuos del sexo masculino y mayores en los de sexo femenino las cuales presentan obesidad y menor actividad física que el resto de la población estudiada (72%) que reporta similares hábitos alimenticios pero con mayor actividad física.

Conclusión: La población estudiada presentó un porcentaje moderado de hiperglucemia. Los casos están asociados con factores desencadenantes como obesidad, poca actividad física o con factores hereditarios por lo que presentan mayor riesgo a padecer diabetes mellitus.

REFERENCIAS

1. Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. *Bioquímica de Harper*. 14ª ed. México: El Manual Moderno; 1997. p. 689.
2. Alexanderson G, González A, Rosas O, Camacho J, Caba D. Estado posprandial. *Med Int Mex* 2002; 18, 137-145.
3. Aguilar E. *Cartas a un diabético: como prolongar una vida saludable*. México: Editorial Trillas; 1990. p. 116.

QC-15

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES DE COLESTEROL SÉRICO DE DOS DIFERENTES COMUNIDADES DE PIJIIJAPAN, CHIAPAS

Clemente-Cobón Arnoldo,¹ González-Cueto Ulises Didier,¹ Manzo-Méndez Ana Isabel,¹ Oseki-Ramos Manuel de Jesús,¹ Pérez-Velázquez Vicente Jairo,¹ Ruiz-Teco Manuel de Jesús,¹ Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel.²

¹Estudiantes del 3er. Semestre de Q.F.B. De la UNACH; ² Catedrático del programa de Q.F.B de la UNACH. Facultad de Ciencias Químicas. Km. 2 carretera a Puerto Madero, Tapachula, Chiapas. Fax: 019626251555. e-mail: qfbmarf@yahoo.com.

Palabras clave: Colesterol, valores de referencia, comunidad.

Introducción: El colesterol es un elemento indispensable en la producción de esteroides, síntesis de hormonas y en la formación de membranas. Está integrado por tres lipoproteínas denominadas según la densidad: VLDL (13%), LDL (70%) y HDL (17%). La medición del colesterol sérico debe hacerse frecuentemente ya que un alto grado se reconoce como el primer factor desencadenante del infarto cardiaco. Los valores normales de colesterol son de 120 - 250 mg/dL.¹ La ausencia del receptor LDL, en la forma homocigótica de la hipercolesterolemia familiar conduce a niveles de colesterol-LDL en plasma, notoriamente elevados favoreciendo el depósito de colesterol en las paredes de los vasos sanguíneos y los ataques cardíacos.² Así mismo, en la niñez, el consumo en exceso de nutrimentos energéticos causa un desequilibrio. Esta situación conduce a un grave problema de salud pública cuya incidencia y prevaencia son cada vez mayores. La obesidad es una enfermedad que se caracteriza por el aumento de peso a expensas de la grasa corporal e incrementa el riesgo de enfermedades cardiovasculares.³

Objetivo: Determinar los valores de referencia de colesterol sérico en dos comunidades de Pijijiapan, Chiapas.

Metodología: Se realizó un estudio transversal, prospectivo, observacional y comparativo durante octubre de 2004 en dos poblaciones de 25 personas cada una, todos aparentemente sanos (17-70 años), habitantes de las comunidades de la cabecera de Pijijiapan y Milenio de la Central municipio de Pijijiapan, Chiapas, México. Se les tomó una muestra de 5mL de sangre por punción venosa y tras un ayuno de 12 horas. Se efectuó la determinación de colesterol mediante método enzimático (Winner Lab.), utilizando el suero. Paralelo a esto se aplicó un cuestionario a los voluntarios donde se registraron los antecedentes familiares con problemas de hipercolesterolemia, así como también los alimentos consumidos en su dieta regular. Las determinaciones de se realizaron con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 520 nm.

Resultados: El valor promedio para la comunidad de la cabecera de Pijijiapan, Chiapas fue 132 mg/dL con un intervalo de 73-205 mg/dL y para la comunidad de Milenio de la Central, Pijijiapan, Chiapas: 175 mg/dL intervalo de 145-254 mg/dL, la diferencia entre estas dos poblaciones fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$). La población de Milenio de la Central reportó que su dieta se basa más en productos de origen animal,

específicamente los lácteos y huevos, mientras que en la cabecera existe mayor diversidad alimenticia.

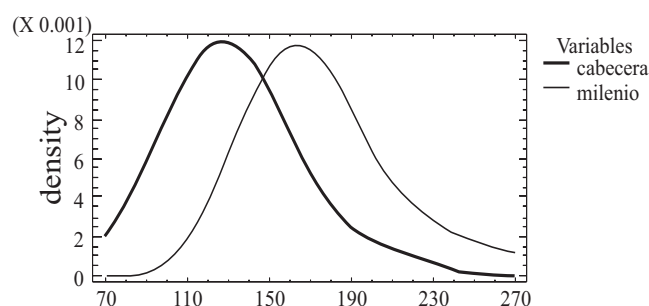


Figura 1. Niveles de colesterol de las dos comunidades estudiadas.

Discusión: Se observó una mayor concentración de colesterol en las personas de Milenio de la Central, debido a que su dieta es rica en grasa de origen animal (productos lácteos propios de esta región), aunque no se ha reportado en esta comunidad muchas muertes por afecciones cardíacas, por lo que se puede inferir que estas personas ha desarrollado cierta tendencia de adaptación a niveles altos de colesterol. Mientras que en la zona de la cabecera se encontraron niveles moderadamente abajo de los valores de referencia ya que su alimentación es más variada. Esto nos deja ver la necesidad de calcular valores de referencia específicos para cada región ya que dependiendo de su régimen alimenticio será la cantidad encontrada de colesterol en sangre y por tanto no se podría especificar si una persona esta cerca de presentar un cuadro de hipercolesterolemia.

Conclusión: De acuerdo a la región se deben tener rangos específicos para la determinación de colesterol ya que el organismo se adecua a la dieta, dando por consecuencia que los valores de corte varíen en comparación con otras poblaciones.

REFERENCIAS

1. Ángel-Mejía G. *Interpretación clínica del laboratorio*. 6ª ed. Bogotá: Médica Panamericana; 2000. p. 120.
2. Stryer L. *Bioquímica*. 4ª ed. Barcelona: Reverte; 1995. p. 710.
3. Hicks-Gómez JJ. *Bioquímica*. México: McGraw-Hill Interamericana; 2001. p. 812.

QC-16

ESTUDIO DE LOS NIVELES DE TRIGLICÉRIDOS EN HABITANTES DE LA COLONIA "LA CENTRAL" EN EL MUNICIPIO DE PIJJIAPAN, CHIAPAS

Victorio de los Santos Leticia,¹ Hernández-López Ludy Leydi,¹ Carballo-Peñaloza Luisana,¹ Morales-Cano Ludivina del Carmen,¹ Pérez-López Cristina,¹ Gutiérrez-Osorio Cecilia,¹ Rodríguez-Feliciano Miguel Angel.²

¹ Estudiantes de 3° SEM. de QFB de la UNACH, Facultad de Ciencias Químicas. ² Catedrático del programa Q.F.B de la UNACH, Facultad de Cs Químicas. Km. 2. Carretera Puerto Madero, Tapachula, Chiapas. Fax: 01 962 62 51555. qfbmarf@yahoo.com.mx

Palabra clave: Triglicéridos, aterosclerosis, comunidad.

Introducción: Los triglicéridos son moléculas de ácidos grasos y glicerol,¹ por lo que una de las probabilidades de encontrar niveles de triglicéridos altos es en personas que podrían consumir productos lácteos.² Los triglicéridos son derivados de la absorción intestinal de grasas, se transportan en la sangre como quilomicrones, funcionan como recipientes de energía y participan en el transporte de ácidos grasos libres,¹ forman parte de las lipoproteínas y se dividen en exógenos y endógenos. Son materia prima para fabricar por hidrólisis, la lipoproteína LDL, que es la que lleva el colesterol a las células y al mismo tiempo es nociva para el organismo por depositarlo en las paredes arteriales, estrechar su luz, producir placas ateromatosas y contribuir a la arteriosclerosis, proceso normal durante el envejecimiento, pero que se puede acelerar con la mayor ingestión de triglicéridos.³

Objetivos: Evaluar la concentración de triglicéridos en habitantes de una colonia del municipio de Pijijiapan, Chiapas, como uno de los principales factores de aterosclerosis.

Metodología: Estudio transversal, prospectivo, descriptivo y observacional. La muestra fue de 53 personas de 200 obtenida de manera aleatoria simple con edades entre 20–70 años. Se realizó la investigación en la comunidad La Central, Pijijiapan, Chiapas, México, debido a que se encuentra dentro de una región ganadera, por lo que se supone que son personas propensas a padecer una alteración de triglicéridos por el alto consumo de productos lácteos. Se determinaron los triglicéridos séricos con la técnica líquido-estable (LSP-DST) en un espectrofotómetro con espesor de celda de 1 mL y una longitud de onda primaria de 520 nm. Al momento de la toma de muestra sanguínea se les aplicó un cuestionario a todos los sujetos.

Resultados y discusión: De un total de 53 muestras procesadas, el 38% (20/53) resultaron con niveles altos de triglicéridos (> 166 mg/dL) y alta probabilidad de presentar aterosclerosis. Se realizó la comparación de los niveles de triglicéridos entre hombres y mujeres siendo el intervalo de confianza para mujeres de

(112–145 mg/dL) y para hombres (126–202 mg/dL), y la comparación de las medias con una probabilidad de $p=0.043$ al 95% de confianza, es decir, hay una diferencia estadísticamente significativa. Es conveniente recomendar a los participantes que tengan una dieta más balanceada tomando en cuenta el riesgo que corren, ya que por ser una zona ganadera, su principal fuente de alimentación es el consumo de productos lácteos, como se reflejó en el cuestionario.

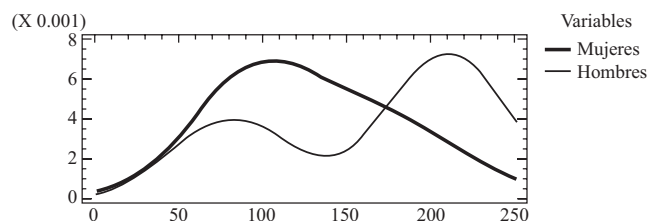


Figura 1. Niveles de triglicéridos en los dos grupos de personas estudiadas.

Conclusión: Los datos obtenidos muestran que los sujetos de esta comunidad tienen un nivel alto de triglicéridos ya sea de hombres o mujeres, pudiendo ser propensos a padecer aterosclerosis debido al alto consumo de productos lácteos y/o al consumo excesivo de grasas.

REFERENCIAS

1. Bhagavan, N V. *Bioquímica*. México: Nueva Editorial Interamericana; 1978. p. 558-559.
2. Cantoral Reyes, SA. *Determinación de las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos en la población adulta, derecho-habiente de la clínica hospital del ISSSTE de San Cristóbal de las Casas, Chiapas*. Tesis, Chiapas: UNACH; 2002.
3. Mejía Á. *Interpretación clínica de laboratorio*. 5ª ed. Bogotá: Médica Internacional LTDP; 1996. p. 575-576.

QC-17

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE COLESTEROL EN UNA POBLACIÓN ADULTA DE DERECHOHABIENTES DE LA CLÍNICA HOSPITAL DEL I.S.S.S.T.E. DE SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS

Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel, Rosales-Guerrero Miguel Ángel, Chang-Rueda Consuelo, Inchaustegui-Arias José Luis, Schlottfeldt-Trujillo Yolanda E.

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de Chiapas, Carretera a Pto. Madero km. 2 Tapachula Chiapas. e-mail: qbmarf@yahoo.com.mx

Palabras clave: Colesterol, hiperlipidemias, hipertensión, aterosclerosis.

Introducción: El colesterol elevado es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular. Muchos ensayos clínicos grandes han demostrado que la disminución del colesterol en sangre reduce considerablemente el riesgo de padecer enfermedades del corazón.¹ El colesterol es una sustancia grasa (un lípido) presente en todas las células del organismo. El organismo humano produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. El organismo obtiene colesterol adicional de alimentos de origen animal (carne, huevos y productos lácteos).² Aunque a menudo atribuimos la elevación del colesterol en sangre al colesterol que contienen los alimentos que comemos, el causante principal de ese aumento es la grasa saturada. La materia grasa de los lácteos, la grasa de la carne roja y los aceites tropicales tales como el aceite de coco son algunos de los alimentos ricos en grasa saturada.³

Objetivo: Evaluar las concentraciones de colesterol sérico en una población de personas adultas, derechohabientes de la Clínica Hospital del I.S.S.S.T.E. de San Cristóbal de las Casa, Chiapas.

Metodología: El estudio fue transversal, prospectivo, observacional y descriptivo en 336 derechohabientes adultos que acudieron al servicio de laboratorio sin diagnóstico relacionado con el colesterol de la Clínica Hospital del ISSSTE de la Cd. de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Se utilizó una técnica enzimática-colorimétrica para la cuantificación del colesterol (Randox Laboratories, Ltd.), empleando un espectrofotómetro digital (MICROLAB 200) y uno semiautomatizado (SELECTRA 2).

Resultados: El promedio de colesterol para hombres fue de 202 ± 7.7 mg/dL (194–210 mg/dL), encontrándose que el 46.5% mostró un rango de 140–200 mg/dL. El promedio para mujeres fue de 203 ± 9.1 mg/dL (194–213 mg/dL), observándose que el 42.95% estaba en el rango de 140–200 mg/dL.

Discusión: De acuerdo a la técnica utilizada se observa que el promedio del nivel de colesterol en esta población se encuentra ligeramente elevado, ya que la prueba indica que se deben de tener valores menores de 200 mg/dL.

Conclusión: Los niveles de colesterol encontrados con un intervalo de confianza del 95% fueron para hombres de 194–

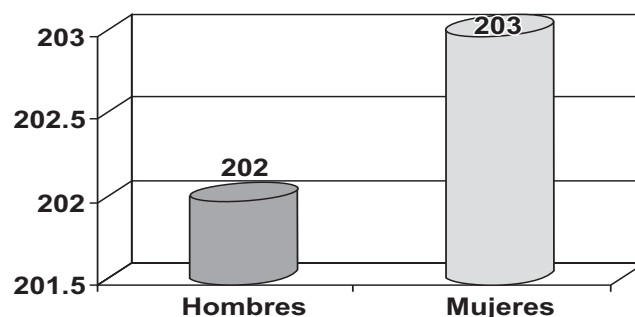


Figura 1. Promedio de los niveles de colesterol sérico en la población estudiada.

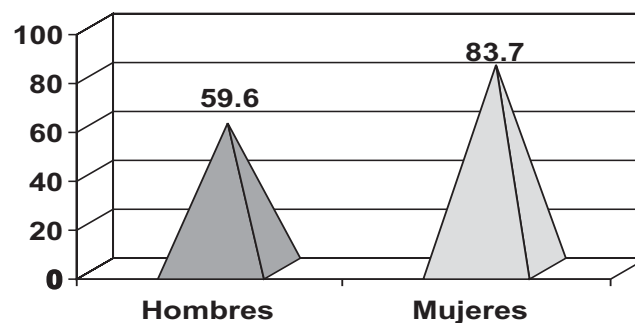


Figura 2. Varianza de los niveles de colesterol sérico en la población de estudiada.

210 y para mujeres de 194–212, siendo ligeramente elevados y un poco mayores en mujeres.

REFERENCIAS

1. Zorrilla E. *Hipercolesterolemia. Diagnóstico y tratamiento. Hipercolesterolemia en México*. 2ª ed. México: Interamericana; 1995. p. 69-96.
2. National Cholesterol Education Program. Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *JAMA* 1993; 269: 3015-3023.
3. World Health Organization. *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. Report of WHO Study Group. Technical Report Series 797, Geneva: WHO; 1990.

QC-18

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES SEROLÓGICOS DE TRIGLICÉRIDOS EN UNA POBLACIÓN ADULTA DERECHOHABIENTE DE LA CLÍNICA HOSPITAL DEL I.S.S.S.T.E. DE SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS

Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel, Rosales-Guerrero Miguel Ángel, Chang-Rueda Consuelo, Inchaustegui-Arias José Luis, Schlottfeldt-Trujillo Yolanda E.

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de Chiapas, Carretera a Pto. Madero km. 2 Tapachula Chiapas. e-mail: qbmarf@yahoo.com.mx

Palabras clave: Triglicéridos, lípidos, hiperlipidemias.

Introducción: Los triglicéridos son grasas que suministran energía a los músculos. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.¹ Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos. Se ha demostrado la existencia de una relación entre los niveles elevados de triglicéridos en sangre y un mayor riesgo cardiovascular, pero no todos los científicos concuerdan en que los niveles elevados de triglicéridos, independientemente de otros factores, constituyen un factor de riesgo cardiovascular. Los triglicéridos elevados están relacionados con los niveles bajos de colesterol HDL, la obesidad, la presión arterial alta y la diabetes, los cuales constituyen factores de riesgo cardiovascular.² Los niveles muy elevados de triglicéridos (más de 1000 mg/dL) pueden producir dolor abdominal y pancreatitis.³

Objetivo: Evaluar las concentraciones de triglicéridos séricos en una población de personas adultas, derechohabiente de la Clínica Hospital del I.S.S.S.T.E. de San Cristóbal de las Casa, Chiapas.

Metodología: El estudio fue transversal, prospectivo, observacional y descriptivo en 336 derechohabientes adultos que acudieron al servicio de laboratorio sin diagnóstico relacionado con los triglicéridos de la Clínica Hospital del I.S.S.S.T.E. de la Cd. de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Se utilizó una técnica enzimática-colorimétrica para la cuantificación de los triglicéridos (Randox Laboratories, Ltd.) con un espectrofotómetro digital (MICROLAB 200) y uno semiautomatizado (SELECTRA 2).

Resultados: El promedio de triglicéridos para hombres fue de 186 ± 13.7 mg/dL (172–200 mg/dL), encontrándose que el 82.9% estaba en el rango de 50–250 mg/dL. El promedio para mujeres fue de 194 ± 18.1 mg/dL (176–212 mg/dL), observándose que el 79.9% se encontraba en el rango de 50–250 mg/dL.

Discusión: De acuerdo a la técnica utilizada se observa que el promedio del nivel de los triglicéridos en esta población se encuentra elevado, ya que la prueba indica que se deben de tener valores menores de 150 mg/dL.

Conclusión: Los niveles de colesterol encontrados con un intervalo de confianza del 95% fueron para hombres de 172–

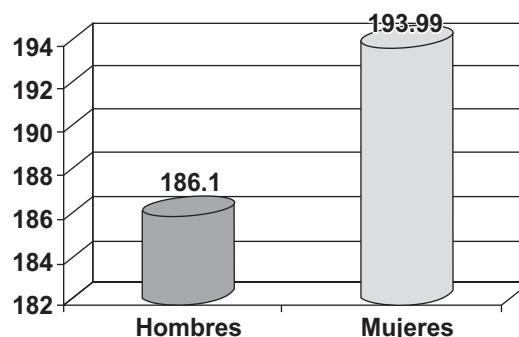


Figura 1. Promedio de los niveles de triglicéridos.

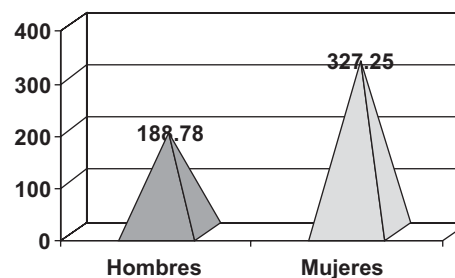


Figura 2. Varianza de los niveles de triglicéridos.

200 mg/dL y para mujeres de 176–212 mg/dL. Los triglicéridos séricos están fuera del rango normal, encontrándose aumentados principalmente en mujeres.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. Report of WHO Study Group. Technical Report Series 797, Geneva: WHO; 1990.
2. Sotelo-Cruz N, Vázquez-Pizaña E, Ferrá-Fragoso S. Sobre peso-obesidad, concentración elevada de colesterol y triglicéridos, su relación con riesgo coronario en adolescentes *Bol Med Hosp Infant Mex* 2004; 61: 372-383.
3. Tagle-Luzárraga M. Lípidos y lipoproteínas en diabéticos no dependientes de insulina con hipertensión y/o microalbuminuria. *Rev Cubana Endocrinol* 1998; 9: 34-39

QC-19

HISTORIA FAMILIAR DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y SU ASOCIACIÓN CON RESISTENCIA A LA INSULINA Y COMPONENTES DEL SÍNDROME METABÓLICO EN POBLACIÓN INFANTIL DE SAN LUIS POTOSÍ

Escalante-Carvajal Evelin, de la Cruz-Mendoza Esperanza, Tenorio-Govea Enrique, Flores-Sánchez Jorge, Torres-Ruvalcaba Benito, Aradillas Celia

Facultad de Medicina, Lab. Hormonas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza # 2405, 78210 S.L.P., Fax 4448 262341, e-mail celia@uaslp.mx

Palabras clave: Sensibilidad a la insulina, historia familiar, diabetes tipo 2.

Introducción: Hay evidencia de que la susceptibilidad genética esta presente en algunas alteraciones metabólicas en población infantil.¹ Y parece ser que una dominancia autonómica por el lado del padre esta mayormente implicada que por el lado materno.² Por lo que nuestro objetivo es identificar si existe asociación entre la sensibilidad a la insulina en niños, y algunos componentes del síndrome metabólico y su herencia positiva de diabetes tipo 2 por el lado paterno, materno o ambos.

Metodología: Se incluyeron 377 niños de San Luis Potosí (F = 186, M = 187) entre 6 y 13 años de edad elegidos al azar, quienes sus padres firmaron el consentimiento de participación en el estudio. Se elaboró su historia clínica incluyendo datos sobre antecedentes familiares de diabetes, avalado por los padres y se evaluaron las medidas antropométricas de peso y talla. Se tomó una muestra de sangre en ayunas de 12 horas, para las determinaciones de glucosa y perfil de lípidos estos se determinaron mediante un HITACHI 911, la insulina se midió por radioinmunoanálisis (RIA) según la técnica Coat A Count DPC. El índice de resistencia a la insulina (IRI) se determinó de acuerdo al modelo homeostático propuesto por Matthews. El análisis estadístico incluyó la prueba de χ^2 para establecer la asociación entre la herencia paterna (HP+) y materna (HM+) ó ambos (HP+ mas HM+), con la resistencia insulina, considerada a partir del valor de 2.9 por HOMA.

Resultados y discusión: A pesar de que se ha establecido una contribución importante por parte de la madre y/o del padre con respecto a la sensibilidad a la insulina nosotros no encontramos una asociación significativa en esta población (*cuadro 1*). El hallazgo de este estudio podría implicar el hecho de que el punto de corte para medir la insensibilidad a la insulina no ha sido reportado en niños, a pesar de que Reaven ha propuesto el valor por arriba 1.5 μ UI/mL de insulina en ayunas como diagnóstico para resistencia a la insulina en la práctica clínica y este coincide con 2.9 de IRI por HOMA obtenido en este estudio.³ Se aprecia una asociación entre la herencia paterna de diabetes y los niveles de HDL bajo en las niñas de esta población en estudio, el cual es un componente importante del síndrome metabólico. Sugiriendo una implicación importante de la herencia paterna con respecto a la alta prevalencia de dislipidemia (HDL bajo) en población mexicana, lo cual favorece la pobre depuración de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) provocando una concentración elevada de triglicéridos en plasma (*Cuadro 2*). Estos niveles bajos de HDL nos hablan de riesgo de enfermedad microvascular de acuerdo al IDF.⁴

Conclusiones: Aunque se sugiere una asociación positiva por el lado paterno para los niveles bajos de HDL en las niñas, pensamos que se necesita más investigación en este campo, en

Cuadro 1. Asociación entre herencia paterna y materna y sensibilidad a la insulina en población infantil de San Luis Potosí.

Homa	HP+	HM+	(HP+) + (HM+)
> 2.9	95	83	43
< 2.9	61	57	23

$$\chi^2 = 0.6517 \quad p=0.72$$

Cuadro 2. Asociación entre herencia paterna y materna o ambas con dislipidemia (HDL bajo) en niñas de 6-13 años de edad de San Luis Potosí.

		HDL		Total
		<=39	>39	
Diabetes	No hay	26	46	72
	(HF+) Paterno	15	30	45
	(HF+) Materno	10	37	47
	(HF+) Ambos	12	7	19
Total		63	120	183

$$\chi^2 = 10.62 \quad p=0.014$$

una muestra mayor y con puntos de corte bien establecidos de resistencia a la insulina en población infantil, por edad y género, para poder obtener resultados precisos al respecto.

Agradecimiento. Lab. Roche Diagnostics.

REFERENCIAS

- Gulli G, Ferrannini E, Stern M, Haffner S, *et al.* The metabolic profile of NIDDM is fully established in glucose-tolerant offspring of two Mexican-American NIDDM parents. *Diabetes* 1992; 41: 1575.
- Thomas F, Balkau B, Vauzelle-Kervroedan F, Papoz L, *et al.* Maternal effect and familial aggregation in NIDDM. The CODIAB study. *Diabetes* 1994; 43: 63.
- Reaven GM, Chen YD, *et al.* Plasma insulin, C-peptide, and proinsulin concentrations in obese and nonobese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 44-48.
- Guidelines grew up between 1998 and 1999 by the European Diabetes Policy Group of the IDF (European Región). *Diabetic Medicine* 1999; 16 (September).

QC-20

LITIASIS EN PACIENTES CON EPISODIO UNICO O RECURRENTE EN SAN LUIS POTOSÍ

Llamazares-Azuara Lilia, González-Castillo Clarisa, Chevaile-Ramos Alejandro, Rodríguez-Martínez Manuel.

Laboratorio Renal y Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. V Carranza 2405, CP 78210, San Luis Potosí. e-mail: llamazares@hotmail.com

Palabras clave: Nefrolitiasis, hipercalcemia, hiperuricosuria, hipocitraturia, hiperoxaluria

Introducción: La nefrolitiasis es un trastorno que afecta del 1 al 5% de la población, con tasas de recurrencia de ~ 50% a 5 años después del primer episodio y frecuentemente cursa con complicaciones urinarias obstructivas e infecciosas que pueden llevar a los pacientes a insuficiencia renal crónica de grado variable.^{1,2} La etiología de la nefrolitiasis es diversa y multifactorial, pudiendo coexistir con varios desórdenes en el mismo paciente, las causas metabólicas más comunes son hipercalcemia, hiperuricosuria, hipocitraturia e hiperoxaluria aisladas o asociadas.²⁻⁵ Avances tecnológicos recientes, permiten la identificación de la causa hasta en el 97% de los casos.

Objetivo: Evaluar pacientes con nefrolitiasis con un protocolo multiparamétrico e iniciar el reconocimiento etiológico de la nefrolitiasis en nuestro medio.

Metodología: A 167 pacientes voluntarios de ambos sexos con episodio único o recurrente de litiasis se les colectó la orina de 24 h, previa suspensión de medicamentos y alimentos interferentes. Con técnicas convencionales se midieron en suero: calcio, fósforo, sodio, potasio, cloro, creatinina y ácido úrico, y en orina de 24 h: calcio, ácido úrico, creatinina, sodio, potasio, oxalato, citrato, pH y el volumen total; las determinaciones se realizaron según los métodos convencionales, espectrofotometría UV-VIS, absorción atómica, flamometría y electrodo ión selectivo. Los 167 pacientes fueron divididos por edad en dos grupos: niños de 1 a 18 años (n = 45) y adultos de 19 a 65 años (n = 122) y analizados también por sexo. En el grupo de adultos, 56 pacientes fueron sometidos a una carga oral de calcio (1g) determinando la relación calcio/creatininuria en orina de 2 horas.

Resultados: En ambos grupos, los niveles séricos de las pruebas evaluadas fueron normales excepto para ácido úrico, donde se encontró hiperuricemia en 7% del grupo niños y 18% del grupo adultos, predominando en el sexo masculino en ambos grupos. Los resultados obtenidos en la orina de 24 h en ambos grupos, coinciden con las causas más comunes que se reportan como factores de riesgo para la nefrolitiasis, como se muestran en el siguiente cuadro:

	Grupo niños %	Grupo adultos %
Hiperoxaluria	11	28
Hipocitraturia	56	21
Hipercalcemia	22	22
Hiperuricosuria	4.5	17.5

La hipercalcemia en el grupo niños fue determinada como mg/kg/d, en tanto que para el grupo adultos en mg/24h. Del los adultos sometidos a carga oral de calcio, el 50% mostró una relación calcio/creatininuria elevada, de los cuales el 25% aumentó con respecto al resultado basal, 46% disminuyó y el 29% no mostró cambio.

Conclusiones: Los resultados de este estudio metabólico de litiasis muestran que en el grupo de niños la hipocitraturia e hipercalcemia son los factores de riesgo identificados más frecuentes para nefrolitiasis. En la población adulta, la hiperoxaluria, hipocitraturia, hipercalcemia e hiperuricosuria, así como la hiperuricemia resultaron ser los parámetros más frecuentes en sujetos con episodios únicos o recurrentes de litiasis. Apoyo UASLP: No.C99-FAI-05-12.2

REFERENCIAS

1. Levy FL, Adams-Huet B, Pak CYC. Ambulatory evaluation of nephrolithiasis: an update of a 1980 protocol. *Am J Med* 1995; 98:50-59
2. Asplin JR, Favus MJ, Coe FL. *Nephrolithiasis*. In: Brenner B. The Kidney. Vol II, 6th ed. EU: Saunders; 2000. p. 1774-1819.
3. Györy AZ, Ashby R. Calcium salt urolithiasis. Review of theory for diagnosis and management. *Slin Nephrol* 1999; 51:197-208
4. Rose BD, Curhan G. *Risk factors for idiopathic calcium stones*. Up To Date (12.3) 2004.
5. Preminger GM, Curhan G. *Evaluation of the patient with established nephrolithiasis and treatment if stone composition is unknown*. Up To Date (12.3) 2004.

QC-21

NIVELES SÉRICOS DE HORMONAS TIROIDEAS EN ADULTOS DE 19 A 60 AÑOS DE EDAD EN LA CIUDAD DE SAN LUIS POTOSÍ

De la Cruz-Mendoza Esperanza,¹ Flores-Sánchez Jorge,¹ Méndez-Castillo Eduardo,¹ Pesina-Cifuentes Claudia,¹ Aradillas-García Celia,¹ Calderón-Hernández Jaqueline.²

¹Lab. De Hormonas, ² Lab. De Toxicología Ambiental, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza # 2405. C.P.78210 S.L.P., Fax 4448262341, e-mail: emendoza@uaslp.mx

Palabras clave: Hormonas tiroideas, valores de referencia.

Introducción: La investigación clínica y el desarrollo comercial en las última décadas a dado lugar a un gran número de pruebas y métodos de inmunoanálisis en el laboratorio para la medición de hormonas entre ellas, las hormonas tiroideas. Para evaluar a los pacientes con enfermedad tiroidea el clínico debe entonces seleccionar entre el tipo de prueba y método de laboratorio a utilizar, el cual tenga más exactitud y precisión en el apoyo para su diagnóstico, es bien sabido además que el establecer valores de referencia en la población es importante ya que factores ambientales o genéticos pueden influir en las cifras de estos analitos.¹⁻³

Objetivo: Determinar los valores de referencia para hormonas tiroideas en la población adulta de la ciudad de San Luis Potosí.

Metodología: Se incluyeron 138 sujetos clínicamente sanos, quienes firmaron el consentimiento informado de participación. Se les tomó una muestra de sangre en ayunas entre 7:00 a 9:00 am, se separó el suero y se procedió a la cuantificación de tiroxina total (T4T) y libre (T4L), triyodotironina total (T3T) y hormona estimulante de tiroides (TSH), utilizando el método de quimioluminiscencia, en el sistema automatizado Immulite 1000. Los resultados obtenidos se evaluaron con pruebas estadísticas no paramétricas.

Resultados y discusión: El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 7.22, 8.06 y 2.04% con controles bajo, medio y alto respectivamente. El coeficiente de variación inter ensayo fue de 8.04, 5.35 y 1.69%, respectivamente para el mismo juego de controles.

Además nuestro laboratorio cuenta con los lineamientos exigidos por la OMS, llevando a cabo control de calidad interno y externo a través de la participación en el programa de control de calidad ProgBA.

En el *anexo* se muestran los resultados de las hormonas expresadas con los percentiles 2.5 y 97.5 en adultos de 19 a 60 años de la Ciudad de San Luis Potosí. Los valores no difieren significativamente a los reportados por otros autores en pobla-

ción adulta, sin embargo se obtuvo una diferencia poco significativa en TSH, con relación a los reportados en otras poblaciones, razón por la cual es necesario que cada laboratorio establezca sus rangos para tener los valores reales de su población. No se observó diferencia significativa con respecto al sexo, datos no mostrados.

Hormona	n	Mediana	P2.5	P97.5
T3T	138	124 ng/dL	85.19	182
T4T	138	7.92 µg/dL	4.78	12
T4L	138	1.32 ng/dL	0.86	2.13
TSH	138	1.60 µIU/mL	0.42	5.05

Conclusiones: Es de vital importancia que el laboratorio establezca los rangos de referencia de los analitos que cuantifica, debido a que hay una gran variación biológica entre una población y otra, así mismo factores como las condiciones de proceso y tipo de inmunoensayo que se utiliza, habiendo observado que es poca la diferencia en cuanto a lo reportado por otros autores, todo esto es necesario para el mejor control del paciente, por lo que se propone los valores obtenidos en la población antes referida.

REFERENCIAS

- Rodríguez-González JC. Ensayos sensibles de TSH y su repercusión en la evaluación de la función tiroidea. *Rev Cubana Endocrinol* 1997; 8:150-164.
- Solberg HE. A Guide to IFCC recommendations on reference values. *JIFCC* 1993; 5:160-164.
- Galván M, Dorado del R M, Soto-Mancilla J. Niveles séricos de insulina en un grupo de población de 15 a 30. *Bioquímica* 1994; 19: 75-79.

QC-22

PREVALENCIA DEL USO DE SUSTANCIAS PSICOTRÓPICAS EN UNA ESCUELA SECUNDARIA, DE LA CIUDAD DE CACAHOTÁN, CHIAPAS

Vela-Arévalo Velia, Barrios-Martínez Dianet, Díaz-Hernández Luis Alberto, Hernández-Balboa Miguel Ángel, Rodríguez-Feliciano Miguel Ángel.

Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera Puerto Madero km 2.0 Tapachula Chis. Fax: 01 962 6251555 Proyecto financiado por SIINV-UNACH 2004. e-mail: velavelia@hotmail.com

Palabras clave: Psicotrópicos, prevalencia, adolescentes.

Introducción: El uso de sustancias adictivas constituye un complejo fenómeno que tiene consecuencias en la salud individual, en la integración familiar y la estabilidad social. Los grupos vulnerables a sufrir daños provocados por el abuso de drogas son: los niños y los jóvenes.^{1,2} Los jóvenes utilizan drogas tanto legales como ilegales, las drogas legales incluyen bebidas alcohólicas, medicinas de venta con receta médica y de venta libre. Las drogas ilegales de mayor uso son la marihuana, cocaína, alucinógenos como dietilamina del ácido lisérgico, fenciclidina; derivados del opio tales como heroína, drogas diseñadas (éxtasis, anfetaminas).³ La Organización Mundial de la Salud en 1963, definió la farmacodependencia como un estado psicológico y/o físico resultante de la interacción de un organismo vivo y una droga.⁴

Objetivos: Determinar la prevalencia y los factores asociados al uso de sustancias psicotrópicas en alumnos que cursan el 1º, 2º y 3er año de una Escuela Secundaria de la Ciudad de Cacahoatán, Chiapas, turno vespertino, en el periodo agosto 2003- julio 2004.

Metodología: Estudio descriptivo, observacional, transversal y prospectivo. El muestreo fue al azar y el tamaño de muestra fue de 198 alumnos. Se realizó un análisis cualitativo en muestras de orina mediante pruebas inmunocromatográficas para la detección de cocaína, marihuana, anfetamina y morfina. Para conocer los factores asociados al consumo de psicotrópicos se aplicó un cuestionario estructurado por 31 ítems. Se elaboró una base de datos empleando el software estadístico StatGraph plus 4.0 aplicando estadística descriptiva usando tablas de frecuencia y el estadístico de prueba χ^2 .

Resultados y discusión: La prevalencia del uso de drogas fue de 0.51% que correspondió a un alumno cuya prueba dio positiva a marihuana. La marihuana es el psicotrópico que mas se consume, probablemente por ser más económica y de fácil adquisición. El análisis de la encuesta reveló que la mayor parte de los alumnos viven con sus padres y la relación entre ellos es buena, más del 50% de los estudiantes obtuvieron un buen promedio escolar y mantienen una buena amistad con sus

amigos, el 89.9% manifestó que sus amigos no consumen drogas, esto es benéfico puesto que un factor de riesgo es el consumo entre amigos.⁵ Sin embargo, es un indicador de alerta en aquellos alumnos (10.1%) cuyos amigos son consumidores. A los alumnos les ofrecen droga dentro del plantel en un 3.5%, fuera de la escuela (6.1%) y en lugares concurridos por ellos (6.1%). El 8.6% de los alumnos tienen familiares cercanos que consumen drogas. El 86.3% de los alumnos tiene buena información acerca de las drogas, el conocimiento de los daños que éstas provocan puede ser un factor de protección para evitar su consumo y esta información la han obtenido principalmente de la medios informativos, escuela y casa.

Conclusiones: La prevalencia del uso de sustancias psicotrópicas se encuentra por debajo de la media nacional. Los factores de predisponentes al consumo de psicotrópicos más importantes son: el consumo de psicotrópicos entre familiares indirectos (tío, primo y cuñado), el consumo entre los amigos, distribución de psicotrópicos dentro y fuera de la escuela y algunos lugares concurridos por los estudiantes. Siendo la calle el lugar principal donde le ofrecen sustancias psicotrópicas a los estudiantes

REFERENCIAS

1. Goodman LS, *et al.* *Bases farmacológicas de la terapéutica*. 5ª ed. México: Médica Panamericana. 1975. p. 319.
2. Castro ME, *et al.* Consumo de sustancias tóxicas y tabaco entre la población estudiantil de 14 a 18 años. *Salud Pub Mex* 1982; 24: 565.
3. De la Serna J, *et al.* *Medición de drogas en estudiantes de educación media y media superior del Distrito Federal y zona urbana, 1989 Anuales*. Reseña de la VI reunión de investigación. México: Instituto Mexicana de Psiquiatría; 1991. p. 183-187.
4. *Organización Mundial de la Salud*. Disponible en: (<http://www.who.org>) fecha de visita: 03/noviembre /2003.
5. Secretaría de Salud. *Encuesta Nacional sobre el abuso de drogas en comunidad escolar*. México: Instituto Nacional de Psiquiatría-SEP. 1991.

QC-23

ASOCIACION ENTRE RESISTENCIA A LA INSULINA Y LIPOPROTEINA A MINÚSCULA (Lp a) EN POBLACIÓN INFANTIL DE SAN LUIS POTOSI

Molina-Arriaga Noemi,¹ de la Cruz-Mendoza Esperanza,² Tenorio-Govea Enrique,² Flores-Sánchez Jorge,² Méndez-Castillo Eduardo,² Vargas-Morales Juan Manuel,¹ Aradillas-García Celia.²

¹Facultad de Ciencias Químicas. ²Lab. Hormonas. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza # 2405 CP 78210 S.L.P., Fax 4448 262341. e-mail: celia@uaslp.mx

Palabras clave: Resistencia a la insulina, lipoproteína a minúscula.

Introducción: La resistencia a la insulina es una anomalía celular que implica varios órganos, además la insulina estimula la proliferación de células de músculo liso vascular y disminuye la acumulación de la placa de lípidos, cuando disminuye la sensibilidad a la insulina se presenta una disminución en la producción de óxido nítrico, lo cual puede promover episodios vasculares, al aumentar la adhesión plaquetaria y la vasoconstricción.¹

La Lp(a) es considerada como un marcador de riesgo de aterosclerosis, se ha encontrado en lesiones ateromatosas que indican que puede quedar retenida en la capa subintima arterial y unida a fibronectina, se modifica químicamente sirviendo de ligando del receptor de macrófagos y contribuye así a la formación de las células espumosas y la estría grasa.²

Objetivo: Debido a que la arterioesclerosis es una patología de inicio temprano y en México la enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte, nos interesa conocer si la asociación entre resistencia a la insulina y este marcador cardiovascular se encuentra presente desde temprana edad.

Metodología: Se incluyeron 377 niños de San Luis Potosí (F = 186 M = 187) entre 6 y 13 años de edad elegidos al azar, de quienes sus padres firmaron el consentimiento de participación en el estudio. Se elaboró su historia clínica, avalado por los padres y se evaluaron las medidas antropométricas de peso y talla. Se tomó una muestra de sangre en ayunas de 12 horas, para las determinaciones de glucosa, Lp (a) e insulina. La primera se determinó por el método de la glucosa oxidasa en un autoanalizador HITACHI 911, la Lp (a) se determinó mediante inmunoturbidimetría en el autoanalizador HITACHI 911, la insulina se midió por Radioinmunoanálisis (RIA) según la técnica Coat A Count DPC. El índice de resistencia a la insulina (IRI) se determinó de acuerdo al modelo homeostático propuesto por Matthews.³

El análisis estadístico incluyó las pruebas de normalidad de Kolgomorov-Smirnov y la prueba de correlación de Pearson.

Resultados y discusión: A pesar de los numerosos reportes que asocian la resistencia a la insulina y la Lp(a) en personas

resistentes a la insulina, en esta población infantil no encontramos asociación significativa entre estos analitos. ($r = 0.01$, $p = 0.89$). Pensamos que en esta edad la asociación se encuentra ausente porque hacen falta otros factores de riesgo presentes en los adultos que pueden exacerbar la manifestación de estos marcadores, aunque en un reporte hecho en pacientes diabéticos en una población en Taiwán no se encontró asociación en estos parámetros y se propone que la lipoproteína (a) pequeña (Lp(a)) participa como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad cardiovascular en estos pacientes.⁴

Conclusión: Pensamos que se necesita más investigación en este campo, además de incluir otros parámetros relacionados con el síndrome plurimetabólico como el colesterol, HDL, niveles de lipoproteínas Apo A y Apo B para poder obtener resultados más reveladores en esta posible asociación temprana entre marcadores de enfermedad cardiovascular y resistencia a la insulina en población infantil.

Agradecimiento. Lab. Roche Diagnostics. SIHGO-CONACYT 2002020201

REFERENCIAS

1. Coronary Artery Research Unit Department of Cardiological Sciences. St George's Hospital Medical School. Diabetes mellitus. Inflamación y arteriosclerosis coronaria: actual y futuro. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54: 751-763.
2. Thomas F, Balkau B, Vauzelle-Kervroedan F, Papoz L, *et al*. Maternal effect and familial aggregation in NIDDM. The CODIAB study. *Diabetes* 1994; 43: 63.
3. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-419.
4. Tseng Ch. Lipoprotein (a) is an independent risk factor for peripheral arterial disease in Chinese type 2 diabetic patients in Taiwan. *Diabetes Care* 2004; 27: 517-520.

QC-24

RESISTENCIA A LA INSULINA E INTERLEUCINA -6, FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA EN POBLACIÓN INFANTIL DE SAN LUIS POTOSÍ

Goldaracena-Azuara M,¹ de la Cruz-Mendoza E,² Flores-Sánchez Jorge,² Vargas-Morales JM,¹ Aradillas-García Celia.²¹Facultad de Ciencias Químicas. ²Lab. Hormonas. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza # 2405. CP 78210 S.L.P., Fax: 4448 262341. e-mail: celia@uaslp.mx**Palabras clave:** Resistencia a la insulina, interleucina-6.

Introducción: La resistencia a la insulina (RI) parece ser consecuencia de un estado de inflamación sistémica de bajo grado que implica al tejido adiposo el cual secreta de manera importante diversas citocinas entre ellas de manera significativa Interleucina 6 (IL-6) la cual es una citocina proinflamatoria que se ha asociado con la resistencia a la insulina y el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF α), el cual induce resistencia a la insulina al inhibir la actividad de tirosina cinasa del receptor de insulina.^{1,2} Es importante mencionar el papel que los adipocitos desempeñan en el mantenimiento de un estado de inflamación crónica, poseen funciones similares a diversas células inmunitarias como la activación del complemento y la producción de citocinas (IL-6 y TNF α) que son determinantes en la regulación del proceso aterogénico y en la resistencia a la insulina.

Objetivo: Analizar si existe asociación entre la resistencia a la insulina y estas citocinas proinflamatorias en población infantil de San Luis Potosí.

Metodología: Se incluyeron 377 niños de San Luis Potosí (F = 186, M = 187) entre 6 y 13 años de edad elegidos al azar, de quienes sus padres firmaron el consentimiento de participación en el estudio. Se evaluaron las medidas antropométricas de peso y talla. Se tomó una muestra de sangre en ayunas de 12 h, para las determinaciones de glucosa e insulina, la primera se determinó por el método de la glucosa oxidasa mediante el autoanalizador HITACHI 911, la insulina se midió por Radioinmunoanálisis (RIA) según la técnica Coat A Count DPC y las citocinas por quimioluminiscencia (QLA) según el sistema IMMULITE 1000. El índice de resistencia a la insulina (IRI) se determinó por (HOMA) propuesto por Matthews.³ El análisis estadístico incluyó las pruebas de normalidad correspondientes así como la prueba de correlación de Pearson.

Resultados: A pesar de la evidencia demostrada entre la asociación de RI y los componentes inflamatorios, en nuestra población no se alcanzó una asociación significativa entre la RI y las citocinas proinflamatorias propuestas, IL-6 ($r=0.095$, $p=0.342$), TNF α ($r=0.146$, $p=0.142$); sin embargo, obtuvimos

asociación significativa con el índice de masa corporal (IMC) y TNF α ($r=0.213$, $p=0.03$) e IL-6 ($r=0.214$, $p=0.03$) al igual que con RI ($r=0.308$, $p=0.002$). Lo cual puede sugerir que estas citocinas son componentes independientes en la génesis de resistencia a la insulina y arteriosclerosis en edades tempranas.

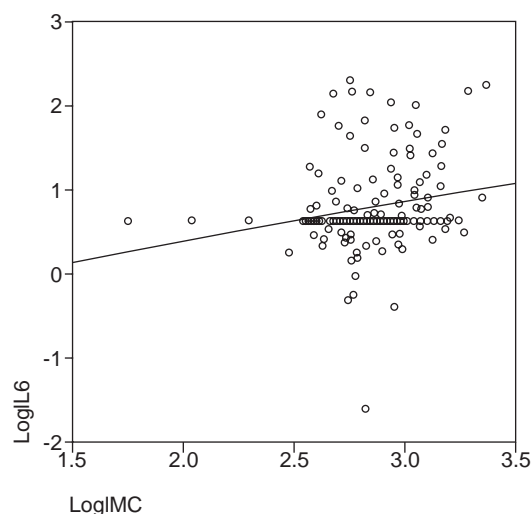


Figura 1. Asociación entre IL-6 e índice de masa corporal en población infantil de San Luis Potosí.

REFERENCIAS

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
2. Andreas Festa MD, Anthony JG, Hanley PhD, Russell P, Tracy PhD, Ralph D'Adostino Jr, et al. *Circulation* 2003; 108: 1822.
3. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-419.

QC-25

VALOR DIAGNÓSTICO DEL ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA)

Díaz de Villegas-Olascoaga Teresita, Puig-González Amparo, Alvarez Milagros, García-Jiménez Eberto. Clínica Central Cira García de Ciudad de la Habana. Fax: (537) 2042660, 2042640, 2041633. e-mail: labclinico@cirag.cu, teresita.diaz@infomed.sld.cu

Palabras clave: Antígeno, prostático, neoplasia.

Introducción: El antígeno prostático específico (PSA) es una proteína prostática no específica para cáncer, que puede determinarse al estudiar, mediante un método inmunológico, el suero de pacientes afectados por patologías tumorales de la próstata, tanto benignas como malignas.¹⁻³

Las cifras del PSA pueden modificarse en diferentes situaciones o condiciones entre las que se encuentran la edad del paciente⁴ la instrumentación o exploración previa de la próstata y las relaciones sexuales recientes, entre algunas de ellas. Hasta el momento actual, el PSA es indudablemente el marcador más valioso en la evaluación de la patología tumoral de la próstata. Puede utilizarse para orientar el diagnóstico, estadio y la evolución de la enfermedad maligna prostática.

Material y métodos: Se realizó el PSA por prueba rápida y por el método de electroquimioluminiscencia a 57 pacientes atendidos en la Clínica Central Cira García, que acudieron para chequeo de su glándula prostática o por síntomas correspondientes a un síndrome urinario obstructivo. Estos pacientes se estratificaron en 3 grupos: próstatas normales, hiperplásicas y tumorales (confirmadas por biopsia como adenocarcinomas).

A los pacientes portadores de hiperplasia que presentaron valores de PSA superiores a 5 ng/mL (cifras normales entre 0 y 5 ng/L). Se analizaron las variaciones del PSA en los 3 grupos de acuerdo con las edades y se realizó un seguimiento post-tratamiento de estos pacientes para determinar la evolución de la enfermedad.

Resultados: En los 57 pacientes se detectaron 5 próstatas normales, 29 hiperplásicas al tacto y 33 confirmadas de adenocarcinoma según descripción de los exámenes médicos realizados a los pacientes. El grupo de edades más afectado fue el de 61 a 70 años

A todos los pacientes se les realizó PSA por los dos métodos señalados y se obtuvieron los siguientes resultados: en 16 pacientes con diagnóstico de cáncer el PSA estuvo elevado con cifras por encima de 5 ng/L para un 24 % de los pacientes estudiados, 12 pacientes con hiperplasias presentaron PSA ele-

vado para un 21% y en los pacientes con próstatas normales el PSA resultó ser normal o negativo según método estudiado.

De los pacientes con PSA elevado (28) sometidos a tratamiento médico se obtuvo una disminución del PSA en 15 de los pacientes para un 53. 5%, lo que habla de la importancia diagnóstica de este marcador.

De esto podemos decir que el PSA ha revolucionado los propósitos en cuanto a diagnóstico, estadio y monitoreo de los pacientes en los que se sospecha o ya existe un diagnóstico de carcinoma prostático y su papel en la detección precoz y la pesquisa del cáncer de próstata está avalado por varios autores.

Conclusiones: En pacientes portadores de hiperplasia prostática el antígeno fue modificado de acuerdo con el tamaño de la glándula y la edad del paciente. El 18.8 % de los pacientes con cifras de PSA mayores de 7.5 ng/mL con signos de hiperplasia prostática eran portadores de adenocarcinoma de próstata. Existió correspondencia adecuada entre los niveles de PSA y la malignidad de la glándula. El PSA es un marcador tumoral de gran importancia para el diagnóstico precoz y tratamiento del cáncer de próstata.

REFERENCIAS

1. Brawn PN, Sprights VO, Kohl D. Prostate-specific antigen levels from complete sectioned, clinically benign, whole prostates. *Cancer* 1991; 68: 1592-1599.
2. Stamey TA, Yang N. Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987; 317: 909-916.
3. Partin EW, Carter HB, Chan DW, *et al.* Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143: 747-752.
4. Carter HB, Morrell CH, Jay D. Estimation of prostatic growth using serial prostatic specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res* 1992; 52: 3323-3328.