

# **1 SIMPOSIO DE INVESTIGADORES LATINOAMERICANOS EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**



**15 - 20 de noviembre de 1996. San Juan de Puerto Rico.**

# editorial

---

## El Primer Simposio de Investigadores Latinoamericanos en Ciencias Biomédicas (SILCIBIO)

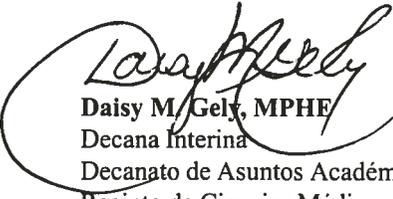
**P**uerto Rico fue la sede del Primer Simposio de Investigadores Latinoamericanos en Ciencias Biomédicas (SILCIBIO) del 15 al 20 de noviembre de 1996. El Recinto de Ciencias Médicas de la Universidad de Puerto Rico, a tenor con su misión de docencia e investigación en las ciencias de la salud y con sus proyecciones de internacionalización, fue la institución anfitriona del evento que reunió a estudiosos provenientes de República Dominicana, Cuba, Panamá, Venezuela, Colombia, México, Brasil, Argentina, Chile, y Estados Unidos.

Una vez más, el Recinto de Ciencias Médicas de la Universidad de Puerto Rico asumió una postura de liderazgo al patrocinar este congreso internacional cuyo propósito primordial fue fomentar la reflexión y el intercambio académico entre los científicos latinos en el marco de la integración a la que históricamente han aspirado nuestros países. El encuentro contó con el coauspicio de la Escuela de Medicina de la Universidad de California en Davis, la Universidad de los Andes y la Universidad A. Metropolitana de Xochimilco.

En el Primer Simposio de Investigadores Latinoamericanos en Ciencias Biomédicas se discutieron, entre otros, temas tales como las implicaciones de la pandemia del SIDA en esta región, los métodos modernos para la preparación de productos biotecnológicos en América Latina, y la aplicación de la bioética en la investigación biomédica.

La constitución del Consejo Latinoamericano de Biomedicina Experimental (CLABE) fue uno de los resultados fundamentales de SILCIBIO '96. La agrupación profesional tiene entre sus objetivos aglutinar a los investigadores de América Latina y estimular su producción científica y cultural estableciendo redes de comunicación permanente, creando bases de datos computadorizadas, proveyendo recursos de computación e informática, y organizando reuniones periódicas como la celebrada en San Juan.

En esta edición del Puerto Rico Health Sciences Journal publicamos la recopilación de los trabajos presentados durante el Primer Simposio de Investigadores Latinoamericanos en Ciencias Biomédicas y reafirmamos nuestro compromiso institucional con el progreso de las ciencias biomédicas en los países latinoamericanos y caribeños.



**Daisy M. Gely, MPHE**  
Decana Interina  
Decanato de Asuntos Académicos  
Recinto de Ciencias Médicas  
Universidad de Puerto Rico

# RESUMENES

---



## RELACIÓN HUÉSPED-PARÁSITO

---



### HP 1

#### DISMINUCIÓN DE LA PARASITEMIA Y SOBREVIDA EN RATONES INFECTADOS CON *T. cruzi* Y TRATADOS CON GMI.

Fernández A., Cossy Isasi S., Palgiani P. y Bronia D.  
Cátedra de Química Biológica y Cátedra de Física Biomédica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

En trabajos previos informamos que epimastigotes de *T. cruzi* inducen fusión de glóbulos rojos *in vitro*. En este fenómeno calcio-dependiente, hay transferencias de ácidos grasos libres y lisofosfolípidos del parásito al eritrocito. El pretratamiento de los parásitos con un inhibidor específico de PLA<sub>2</sub> (quinacrina) lo inhibe y es modulado por gangliósidos de bovino (GGS, GD1a, GD1, GM1, GT1b). Los GGS, han sido involucrados en la traducción de señales, en particular la inhibición de la PLA<sub>2</sub> en monocapas y en células cultivadas *in vitro* y la modulación de la [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Estos datos sugieren la actividad de una PLA modulada por CGS (ya detectada fluorométricamente). Para conocer su importancia biomédica se inyectaron GGS en ratones con infección aguda letal, observándose parasitemia disminuida, evolución crónica y sobrevida.

Cuando el tratamiento se efectuó con 0.6, 0.3 y 0.1 mg de GMI/ día durante 1 mes, se observó en todos los casos parasitemias mayores que el control y los que sobrevivieron al día 12 evolucionaron a un cuadro crónico.

Con 0.1 mg de GMI se lograron las parasitemias menores (aunque superiores a los controles) y una sobrevida al mes del 80% GM1 se comparó con ácido colomínico y fetuina (50 µg/ día, efecto de los terminales sialilados). Mientras GM1 disminuyó la parasitemia por debajo de los controles, colomínico fetuina la elevaron 200% causando la muerte de los animales al día 16. También se comparó con nifedipina (bloqueante de calcio que no afecta al parásito, 10 µg/día) para probar la regulación de GM1 sobre la [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Nifedipina no modificó la parasitemia. Proponemos que GM1 disminuye la parasitemia sin compromiso de su resto sialilado y que si modula la [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> lo haría en el parásito antes que en el huésped.

### HP 1a

#### GMI TREATMENT: LOWERED PARASITEMIA AND SURVIVAL IN *T. cruzi* INFECTED MICE

Fernández A., Cossy Isasi S., Palgiani P. y Bronia D.  
Cátedra de Química Biológica y Cátedra de Física Biomédica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

In previous work we reported that *T. cruzi* epimastigotes induce red cell membranes fusion *in vitro*. This destabilization activity is calcium-dependent and involves free fatty acids and lysophospholipids transfer from the parasite to the red cell membrane. Pretreatment of the parasites with quinacrine (a specific PLA<sub>2</sub> inhibitor) prevented cell fusion that was modulated

by total bovine brain gangliosides (GGS: GM1, GD1a, GD1b & GT1B). GGS have been involved in signal transduction, particularly PLA<sub>2</sub> inhibition in monolayers and cultured cells and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> modulation *in vivo* and *in vitro*. Together this data suggest the activity of a gangliosides modulated PLA<sub>2</sub> which we have already determined fluorometrically.

To establish the biomedical relevance of this enzyme, GGS were injected in mice with lethal acute infection resulting lowered parasitemias, chronic evolution and survival. When GGS were replaced by GMI only (0.6, 0.3, 0.1 mg/day for one month), all treated mice showed initially higher parasitemias than controls and the survivors by day 12 evolutioned to chronicity but 0.1 mg dose caused a slope down from day 15 to 30 and survival of 80 % by day 30 p.i. We compared GMI to other sialilated molecules: Colominic acid (sialic acid polimer, 50 µg/day intramuscularly) and fetuine (sialoglycoprotein, 50 µg/day intramuscularly) both causing over control parasitemias and death by day 16 p.i. Because gangliosides are modulators of [Ca<sub>2+</sub>]<sub>i</sub> we compared GM1 with nifedipine (10 µg/day intraperitoneally) which blocks calcium channels in the host but not in the parasite.

Mice treated with nifedipine showed parasitemias similar to the controls and died by day 14 p.i.. The results presented let us propose that: GM1 is the causative for animal survival, sialil residues induce parasite growth but not survival, if GM1 effect is mediated by calcium modulation it must be on the parasite rather than on the host.

### HP 2

#### DATOS SEROEPIDEMIOLOGICOS DE LA INFECCIÓN POR *Taenia solium* y *Cisticercus celulosae* EN UNA REGIÓN RURAL VENEZOLANA.

Urdaneta, H; Volcanes, I; Alfonso, N y Hernández M.  
Instituto de Inmunología Clínica, Facultad del Medicina, Universidad de los Andes. Venezuela.

La teniasis, y en especial la neurocisticercosis es considerada como uno de los principales problemas de salud pública en países latinoamericanos y africanos. La evaluación del verdadero impacto de esa enfermedad, se ve limitado por la falta de disponibilidad de métodos diagnósticos económicos, debido a que los más frecuentemente usados son los estudios imagenológicos (resonancia magnética y tomografía computarizada) son muy costosos para ser realizados en estudios epidemiológicos. La OPS recomienda la implementación de métodos inmunodiagnósticos sensibles en laboratorios de referencia de las regiones donde esta parasitosis es endémica. La detección de anticuerpos circulantes por medio de pruebas inmunológicas constituye una aproximación importante en el diagnóstico de la cisticercosis humana. El objetivo de este

trabajo, fue hacer un estudio seroepidemiológico de anticuerpos anti *T.solium* en un área rural al sur del Lago de Maracaibo, perteneciente al Edo. Trujillo, usando una de las técnicas inmunológicas más sensibles en la detección de anticuerpos parasitarios: el ensayo inmunoenzimático ELISA.

Los antígenos fueron producidos a partir de quistes de cisticercos extraídos de músculo esquelético de cerdos naturalmente infectados. Se evaluaron 385 personas aparentemente sanas de ambos sexos con edades comprendidas entre 15 y 76 años, a los cuales se les hizo previamente una entrevista indagando síntomas y condiciones socioeconómicas. Los resultados son los siguientes: solo 26% (100) de los sujetos en estudio, no presentaron anticuerpos contra el parásito o sus productos; el 74.5% (285) personas presentaron anticuerpos, lo que indica que en algún momento estas personas tuvieron contacto con el parásito adulto o sus larvas. El 27% (93) presentaron anticuerpos a niveles considerados positivos (títulos entre 256 y 1024). No se observaron variaciones importantes entre sexo y edad. Estos resultados permiten dar una aproximación sobre la prevalencia de esta parasitosis en la región, pudiendo, también, permitir la identificación de infectados asintomáticos.

### HP 3

#### ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA TOXOPLASMOSIS EN UN AREA RURAL VENEZOLANA. (A seroepidemiological study of toxoplasmosis in a venezuelan rural area)

Urdaneta, H; Volcanes, I; Rosales, O & Hernández, M.  
Instituto de Inmunología Clínica, Facultad del Medicina, Universidad de los Andes. Venezuela.

La toxoplasmosis es una enfermedad producida por el protozoario *Toxoplasma gondii* constituyendo la zoonosis más difundida en el mundo. En vista de que en Venezuela existe escasos reportes registrados en la literatura sobre la epidemiología de esta enfermedad, nosotros hemos querido iniciar una serie de estudios que nos permitan dilucidar varios aspectos de esta parasitosis; el presente, es uno de los primeros informes en este sentido.

Se trata de una encuesta epidemiológica orientada a evaluar la presencia de anticuerpos anti-toxoplasma en un grupo de 378 personas sin antecedentes de la enfermedad, que habitan en El Dividive, región ubicada al sur del Lago de Maracaibo, perteneciente al Edo. Trujillo en la cual se está realizando un amplio estudio de esta y otras parasitosis de importancia médica. La técnica usada para la detección de anticuerpos fue el ensayo inmunoenzimático ELISA, técnica reconocida por la literatura internacional como de alta sensibilidad y especificidad y los antígenos usados fueron producidos en el Laboratorio de Inmunoparasitología de nuestro Instituto.

La encuesta arrojó los siguientes resultados: El 60% (229) de los encuestados, presentaron anticuerpos en diluciones mayores o iguales a 1:256, el 34% (128) de los positivos presentaron títulos mayores o iguales 1: 1024; solo el 14% (51) de las personas no presentaron anticuerpos detectables. Los autores

concluimos que aun que, los resultados son muy preliminares, permiten alertar la necesidad de proseguir las investigaciones en el sentido de mejorar los conocimientos sobre esta parasitosis en nuestro país.

### HP 4

#### DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgA E IgG ANTI-AMIBA EN UNA POBLACIÓN ENDÉMICA RURAL DE VENEZUELA

Urdaneta H., Rangel A., Cova J.A., Volcanes I., Hernández M.  
Instituto de Inmunología Clínica, Facultad del Medicina, Universidad de los Andes.

El estudio de los anticuerpos específicos contra antígenos amibianos así como la determinación de las clases de inmunoglobulinas permiten conocer y definir de manera más exacta la prevalencia y la localización de la infección por este protozoario. Existen evidencias de la predominancia de anticuerpos de la clase IgA en la amibiasis intestinal e IgG en la amibiasis extraintestinal.

Nosotros nos propusimos evaluar la presencia de estas dos inmunoglobulinas en sueros y salivas de 1272 pacientes (761 hembras y 511 varones) con una edad promedio de 24,8 años que habitan en El Dividive, región rural del Estado Trujillo. La detección de la IgG sérica e IgA secretoria específicas fue realizada mediante el ensayo inmunoenzimático ELISA que detecta anticuerpos contra diferentes fracciones antigénicas del parásito. El 39,1% (498) de los pacientes presentó IgG anti-amiba en el suero y el 65,7% (836) presentaron IgA anti-amiba en saliva. El 61,8% de las muestras positivas en heces presentaron títulos de IgA secretoria por encima de 1:32. La presencia de altos títulos de IgA secretoria aumenta la probabilidad del encuentro del parásito en las heces. En esta región se encontraron altas tasas de positividad para IgA anti-amiba, lo cual refleja un contacto continuo del parásito con el sistema inmune-secretor del hospedero.

La detección de anticuerpos anti-amibianos específicos en las regiones endémicas solo tiene valor diagnóstico cuando se evalúan en conjunto los síntomas clínicos del paciente. La mayor frecuencia de individuos con anticuerpos anti-amibianos y que, por tanto, han tenido exposición con la *E.histolytica* se debe probablemente a las precarias condiciones sanitarias prevalentes en la región investigada, mal abastecimiento de agua, defectuosa eliminación de excretas así como a la pobre información acerca de la transmisión de la enfermedad y el modo de evitarlo.

### HP 5

#### PREVALENCIA DE *E.coli* O157:H7 EN UNA POBLACIÓN PEDIÁTRICA CON ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA DE BOGOTÁ D.C.

Mátar Salim, Allyson Mora y Nancy Bernal  
Unidad de Microbiología Especial, Depto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana, Bogotá D.C, COLOMBIA.

Se ha demostrado que *E.coli* O157:H7 es causa de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico especialmente en

pacientes pediátricos. Debido a la ausencia de reportes sobre la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en Colombia, se llevó a cabo entre 1995 - 1996 un estudio epidemiológico prospectivo de casos y controles con el objetivo de determinar su prevalencia en pacientes pediátricos con EDA en Bogotá. Para el estudio se incluyeron 300 niños de 0-5 años, con enfermedad diarreica aguda y 63 niños sanos como controles, a los cuales se les determinó la presencia o ausencia de *E. coli* O157:H7 por medio de aislamiento en agar MacConkey-Sorbitol. A las colonias sorbitol negativo se les realizaron pruebas de aglutinación con el kit de látex *E. coli* O157:H7 (Oxoid, Basingstoke UK).

**RESULTADOS.** De las 300 muestras analizadas, 14 cepas correspondieron a *E. coli* O157:H7 para una tasa de prevalencia del 4.7%. La razón de prevalencia fue del 1.14%e (0.99-1.32, límites de confianza 95%) y el exceso de riesgo de presentar *E. coli* O157:H7 fue del 14% en niños con EDA. De los casos positivos solamente uno tuvo diarrea sanguinolenta, el cual desarrolló SUH (7%) y dos presentaron más de 15 leucocitos polimorfonucleares por campo. Todos los pacientes presentaron moco, 7 fiebre y 9 presentaron vómito. De los 63 controles, tres resultaron positivos para *E. coli* O157:H7 para una tasa de prevalencia del 4.7%. Respecto a la susceptibilidad antimicrobiana. Todos los aislamientos resultaron sensibles a ciprofloxacina (100%), solo uno a ampicilina (7%) y el 50% presentó resistencia a TM-STZ.

Este es el primer estudio que se lleva a cabo en Colombia para determinar la tasa de prevalencia de *E. coli* O157:H7. Los resultados permiten concluir que se requiere establecer una vigilancia epidemiológica estricta sobre el germen en mención.

#### HP 6

### VACUNACIÓN CON PARTÍCULAS NO-INFECTOSAS DE VIS DISMINUYE LA VIREMIA EN MONOS RESUS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON VIRUS PATÓGENO.

Kraiselburd, E., Martínez, I., Beltrán, Salamán, A., Smith, J., Lugo, M., Oliver, J., Rodríguez, A. y Torres, J.,  
Universidad de Puerto Rico, Recinto de Ciencias Médicas, Departamento de Microbiología y Zoología Médica, Río Piedras, Puerto Rico 00935.

<sup>1</sup>Universidad de California, Escuela de Medicina, Departamento de Microbiología Médica e Inmunología, Davis, California, 95616.

El virus de inmunodeficiencia de simios (VIS) se estudia en nuestro laboratorio como modelo para desarrollar vacunas contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). En estudios anteriores se aislaron partículas virales defectuosas derivadas de VIS. Uno de esos clones, llamado VISsmB7, produce altos niveles de proteínas estructurales, pero no expresa las enzimas necesarias para la replicación viral (Kraiselburd, E y Torres, 1995), Cel. Mol. Biol. Suppl. I, S41-S52). En un análisis parcial del genoma de este clon se encontró una delección de 1.6kb en la región de los genes de pol (que incluye la región de la integrasa) y de vpx. Este hallazgo explica la falta de infectividad de VISsmB7 tanto en ensayos "in vitro" como "in-vivo". Estos resultados sugirieron que estas partículas de VISsmB7 se pudieran utilizar para estimular al sistema inmunológico del

mono resus a desarrollar defensas efectivas contra la infección del virus patógeno.

El estudio actual tiene como propósito demostrar el potencial de VISsmB7 para inducir respuestas inmunológicas en monos resus. Para este estudio se inocularon 10 monos resus con varias preparaciones de VISsmB7. Estos monos fueron evaluados en cuanto a la proliferación celular y a la producción de anticuerpos específicos contra el virus VIS. En todos los animales vacunados se observó que se podía inducir la proliferación de células T que fueron expuestas a epítopes codificados por los genes gag, pol y env de VIS. Además, se detectó, en estos animales, la producción de anticuerpos específicos contra VIS por los procedimientos de Western Blot y ELISA. Los animales vacunados fueron inoculados intravenosamente con el virus patógeno VIS-E660. Cada dos semanas, luego de esta inoculación se practicaron ensayos de cocultivación de PBMC con la línea celular CEMX174 para determinar la carga viral o viremia en la sangre de cada mono. Estos ensayos revelaron bajos niveles de viremia en los monos que fueron vacunados con VISsmB7. En conclusión, la expresión constitutiva de las proteínas estructurales de VISsmB7, la falta de infectividad de este clon y su habilidad para inducir respuestas inmunológicas que disminuyen la carga viral en los monos, sugiere que VISsmB7 es un excelente candidato para el desarrollo de vacunas contra el síndrome de inmunodeficiencia adquirida de los monos resus. Estamos desarrollando un nuevo estudio para evaluar la efectividad de una vacuna hecha con ADN recombinante que contiene el genoma completo de VISsmB7

#### HP 7

### MULTI-EPITOPE POLYPEPTIDE (MEPS) BEARING THE V3 LOOP FROM HIV-1 AS VACCINE CANDIDATES FOR AIDS.

Duarte Carlos, Maria del Carmen Dominguez, Carmen Gomez, Diogenes Quintana, Olga Lidia Vilarubia, Leonor Navea, Enrique Iglesias, Dania Vasquez, Emilio Carpio.  
C.I.G.B., Cuba

We have produced several Multi-Epitope Polypeptide (MEPs) in *E. coli*. These proteins contains the V3 region of gp120 from six HIV-1 isolates (LR150, JY1, RF, MN; BRVA, and IIIB) fused to the 26 amino acid terminal fragment of human interleukin 2 (hIL2). Some cases contains also T helper cells epitopes. The immunogenicity of these proteins and the ability to induce an antibody response against V3 peptides and neutralize HIV-1 was evaluated. Next we replaced the stabilizing sequence from hIL2 by a 45 amino acid fragment from the protein P64K of *Neisseria meningitidis* to avoid the potential risks of generate an autoimmune response in humans. This new polypeptide, denominated TAB9, maintained similar expression levels in *E. coli* and induced equivalent levels of specific antibodies in ELISA against the protein and the V3 peptides. Furthermore it was more immunogenic in mice than BSA coupled V3 peptides.

Finally we added two more V3 regions with the central sequence GPGQ to TAB9 to induce a wider antibody response

against isolates from clades other than B. However, the new polypeptide was significantly less immunogenic than TAB9 eliciting lower antibody titers against the protein and the V3 peptides. Furthermore no enhancement of the response was observed against the two newly included V3 domains. This reduced immunogenicity was shown to correlate with a lower exposition of epitopes in the V3 regions MN, IIIB and JY1.

Antibodies elicited with TAB9 reacted preferentially with consensus peptide from clade B, although consensus from other clades were also recognized with variable strength.

### HP 8

#### ENTEROTOXIGENICIDAD DE *Campylobacter jejuni* AISLADO DE DIARREA INFANTIL DE AGUA Y ANIMALES.

Fernández Heriberto.

Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

*Campylobacter jejuni* es una bacteria enteropatógena, de carácter zoonótico que presenta varios mecanismos de patogenicidad. Uno de ellos es la capacidad para producir un efecto enterotóxico, semejante al observado en *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*. Con el objeto de establecer la capacidad enterotoxigénica en *C.jejuni* se estudiaron, por el método del asa ligada de rata, un total de 20 cepas, de las cuales 6 fueron aisladas de diarrea infantil, 5 de agua de río, 6 de bovino y 3 de aves.

Las cepas fueron cultivadas en caldo *Brucella* a 37°C, en microaerofilia por 72 h y de cada cultivo se preparó un filtrado libre de células inoculándose 0,4 ml en asas de intestino delgado de ratas adultas de raza Wistar. Después de 18 h de incubación, se procedió a leer las pruebas considerándose como cepa enterotoxigénica a aquella capaz de inducir aumento de volumen, por acumulación de fluido intraluminal, en las asas inoculadas midiéndose por fotometría de llama la concentración de electrolitos (Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>) en el fluido y por HPLC la concentración de AMPc en el tejido de las asas positivas.

De las cepas estudiadas, 10 (50%) fueron enterotoxigénicas induciendo acúmulo de fluido intraluminal con elevación de los niveles de electrolitos del fluido intestinal y de AMPc en el tejido de las asas inoculadas. En todos los grupos de origen se encontraron cepas toxigénicas, lo cual refuerza el carácter zoonótico de esta bacteria.

FINANCIAMIENTO: Proyectos FONDECYT 1930353 y S-92-05 DID-UACH

### HP 9

#### CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE CAMPO DEL VIRUS DE LA RABIA AISLADAS EN ALGUNAS REGIONES DE MÉXICO

de Mattos<sup>1</sup> Cecilia, Carlos A. de Mattos<sup>1</sup>, Alvaro Aguilar-Setién<sup>2</sup>, Elizabeth Loza-Rubio<sup>2</sup>, Bennie I. Osburn<sup>1</sup>, Jean S. Smith<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California, USA. <sup>2</sup>Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y

Agropecuarias, México D.F., México. <sup>3</sup>Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA.

El objetivo de esta investigación fue el estudio de la epidemiología molecular del virus de la rabia en México, a través de la caracterización antigénica y genética de 30 muestras obtenidas de humanos y de diferentes especies de animales domésticos y silvestres. La caracterización antigénica fue llevada a cabo con un panel de ocho anticuerpos monoclonales, usando inmunofluorescencia indirecta, y el estudio genético a través del secuenciado de una porción del gen de la nucleoproteína. El análisis de los resultados reveló que dieciséis muestras de animales domésticos pertenecieron a la variante antigénica (VA) 1 (origen canino), pero no formaron un grupo genético homogéneo. Esta heterogeneidad sugería la presencia de una epidemia de larga duración con la posible ocurrencia de ciclos múltiples de transmisión de la enfermedad. Dos aislamientos provenientes de gatos monteses de Sonora y Chihuahua, fueron identificados como VA 7 y estuvieron estrechamente relacionados genéticamente con cepas obtenidas de zorros grises en Arizona. Cuatro aislamientos de herbívoros domésticos fueron identificados como VA 3 (origen vampiro) y cuatro a una VA desconocida hasta el momento que fue denominada VA 11, también relacionadas a estos murciélagos. Las muestras de estas dos variantes formaron dos grupos genéticos que difirieron en su secuencia nucleotídica en un 3 a 5%. La asociación de la VA 11 con vampiros se basa esencialmente en evidencia epidemiológica. Una muestra proveniente de un *Tadarida brasiliensis* fue clasificada como VA 9 y segregó filogenéticamente con cepas de Estados Unidos de América. Tres muestras de zorrillos de Baja California fueron identificadas como VA 10 y genéticamente formaron un grupo aparte. Nuestros datos sugieren la posibilidad de un ciclo endémico en estos animales. El estudio de la epidemiología molecular de la rabia en México permitirá la identificación de los diferentes ciclos endémicos del virus rábico y sus reservorios en este país.

### HP 10

#### BACILOS GRAM NEGATIVOS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN AGUAS COSTERAS DE MAR INTERIOR DEL SUR DE CHILE.

Teuber, C.; M.L. González; M.C. Pérez; D.A. López; J.M. Uribe y S.E. Torres.

Laboratorio de Ictiopatología y Microbiología Acuática. Laboratorio de Cultivos Marinos. Universidad de los Lagos. Casilla 933. Osorno. Chile. Fax (64)-239517.

La zona costera del sur de Chile ha sido recientemente utilizada en prácticas de Acuicultura y Turismo. Paralelamente ha existido un incremento de asentamientos humanos. Ello podría generar contaminación de origen fecal, limitado por razones sanitarias el uso de esta área en actividades de fuerte impacto en el desarrollo regional.

El presente trabajo evalúa microbiológicamente la calidad de las aguas costeras del sur de Chile, determinando la presencia de indicadores de contaminación fecal.

En 29 lugares, de diversas características oceanográficas y de cercanía a centros poblados, se tomaron muestras periódicas mediante botellas Niskin. Se determinó NMP de coliformes totales y fecales usando la metodología establecida por la American Public Health Association (APHA).

De los lugares muestreados, 13 presentaron un índice de NMP de coliformes totales, superior a la media establecida internacionalmente (70/100 ml). En los lugares ubicados al norte de la región de estudio, los niveles altos de contaminación se mantuvieron relativamente estables durante el período de muestreo, mientras que en los restantes los niveles aumentaron en la época estival. En general se observó mayor contaminación en lugares aledaños a asentamientos humanos existiendo relación entre la cantidad de coliformes totales y la presencia de coliformes fecales.

Los resultados se distinguen en términos de estacionalidad y ubicación geográfica de lugares aptos para la Acuicultura y Turismo.

#### HP 11

### INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN MOLUSCOS BIVALVOS EN EL SUR DE CHILE.

Teuber, C.J.; M.L. Pérez; D.A. López; J.M. Uribe y M.A. Martínez. Laboratorio de Ictiopatología y Microbiología Acuática. Laboratorio de Cultivos Marinos. Universidad de los Lagos casilla. 933. Osorno. Chile. fax (64)- 239517.

Los mecanismos de filtración de moluscos bivalvos y la creciente contaminación costera generan problemas para el uso de estos organismos como alimento. La eventual expansión de la Acuicultura, exportación masiva de moluscos y el uso racional de las aguas costeras están asociadas a problemas sanitarios. El presente estudio esta orientado a evaluar la presencia de bacterias fecales en moluscos de importancia comercial de la X Región (Sur de Chile).

Se determinó la presencia de coliformes totales, fecales, *Escherichia coli*, y *Salmonella* en moluscos bivalvos frescos procedentes de 2 localidades de la X Región: Corral (39° 51'S; 73° 26'W) y Calbuco (41° 44'S; 73° 05'W). Ejemplares de *Aulacomya ater*, *Ameghlnomya antigua*, *Chlamys purpurata*, *Mytilus chilensis*, y *Ostrea chilensis* fueron colectados, trasladados al laboratorio a 4°C y analizadas las partes blandas siguiendo la metodología establecida por la American Public Health Association (APHA).

En el 80% se determinó la presencia de coliformes totales de los cuales el 26% corresponden a coliformes fecales y el 12% a *E. coli*. El 25% de las muestras presentaron concentraciones de coliformes fecales superior a lo establecido por la norma internacional de 3 coliformes fecales/g; la concentración de *E. coli* presente en los moluscos es muy superior a 2.3 *E. coli*/g. aceptado por la mayoría de los países importadores de estos productos. No se ha confirmado la presencia de *Salmonella* en las muestras analizadas.

Los resultados se discuten en términos de variabilidad entre especies, localidades y época del año, en relación a las concentraciones de indicadores de contaminación fecal en mariscos destinados al consumo humano.

#### HP 12

### PRESENCIA DE BACTERIAS FECALES EN AGUAS AGRÍCOLAS DE LA X REGIÓN EN EL SUR DE CHILE

Teuber, C.J.; González, M.L.; Pérez, M.C.; López, D.A.; Uribe, J.M.; Saavedra, M.S.

Laboratorio de Ictiopatología y Microbiología Acuática. Laboratorio de Cultivos Marinos. Universidad de los Lagos casilla. 933. Osorno. Chile. fax (64)- 239517.

La actividad humana ha afectado masivamente las características de diversos cuerpos de agua, por la descarga de contaminantes producto de efluentes domésticos, exploraciones intensivas de tipo industrial y semi-industrial, y otras formas de uso del ambiente que generen evacuación de desechos.

El presente trabajo evalúa la presencia de bacterias indicadoras de contaminación fecal en efluentes asociados a áreas fuertemente utilizadas en prácticas agrícolas y ganaderas.

Se tomaron muestras de agua y sedimentos en vertientes, esteros, lagunas, riachuelos y pozos en un predio agrícola ubicado en la provincia de Osorno, X Región, en el sur de Chile. Se utilizó la metodología propuesta por APHA 1981.

Se determinó la presencia de coliformes totales y fecales como indicadores de contaminación fecal.

En el periodo de muestreo, las vertientes y lagunas presentaron valores sobre los estándares permitidos por USEPA (200 coliformes fecales /100 ml) para calidad del agua con una frecuencia de 24 % a 30%, mientras que en esteros y ríos varían entre 18% y 56%. En las muestras de pozos no se registraron valores sobre la norma.

Los resultados se discuten en relación al uso de la tierra que aledaña a los cursos de agua y la estacionalidad climática.

#### HP 13

### CONTROL MICROBIOLÓGICO Y BIOQUÍMICO COMO MEDIO DE PROTECCIÓN DEL ECOSISTEMA DEL RÍO SALÍ EN LA PROVINCIA DE TUCUMÁN- REPÚBLICA ARGENTINA.

de Naval, Mirtha S. M., Susana.L. de Caillou, María J. Amoroso y Nora C. Romero.

Cátedras de Virología y Microbiología General, Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. Argentina.

El Salí, es uno de los principales ríos de la Provincia de Tucumán en el Norte Argentino y su longitud es de 190 Km. Desemboca en dos diques cuyas aguas son utilizadas para consumo humano, riego y recreación: El Cadillal y el Embalse de Río Hondo, este ultimo en la lindante Provincia de Santiago del Estero. El río recibe desechos cloacales de varias ciudades, efluentes industriales sin tratamiento de ingenios azucareros, de nueve citricolas y otras once fábricas. El elevado índice de contaminación es uno de los problemas sanitarios y ecológicos más importantes de las Provincias de Tucumán y Santiago del Estero. Objetivos - Determinar los parámetros fisico-químicos,

orgánicos y bacteriológicos de las aguas del río como índice de calidad sanitaria.

- Aislar y dosar la población de actinomycetes y la incidencia de la contaminación sobre estas bacterias, de gran importancia en la degradación de compuestos químicos tóxicos, orgánicos e inorgánicos.

- Investigar la presencia de virus entéricos y su posible relación con epidemias de meningitis en habitantes cercanos al río.

Método Experimental - Se tomaron muestras manuales y mecánicas de aguas de río y sedimento, con diferente frecuencia en los meses fríos y cálidos.

- Parámetros físico-químicos: estimadas según APHA, 1992 y Rodier, 1989.

- Parámetros bacteriológicos: microflora total viable, coliformes totales, coliformes fecales, aislamiento y recuento de colonias de actinomycetes.

- Recuperación de virus: técnicas de adsorción y elución en filtros de microporo y lana de vidrio. Aislamiento e identificación.

Resultados: - Amonio, cinco veces aumentado con respecto al valor máximo permitido.

- Carga orgánica, valores casi incompatibles con la vida.

- Coliformes totales y coliformes fecales, concentraciones de 5 y 4 unidades logarítmicas más que los valores permitidos.

- Actinomycetes, la población natural descendió cinco veces en los meses cálidos.

- Virus, se recuperaron en el 70 % de las muestras. Se identificaron como ECHO 7, ECHO 11 y Coxsackie B6.

#### HP 14

### ESTUDIO DE *Aeromonas* spp. EN DOS PLANTAS POTABILIZADORAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Villaruel López Angélica, Castro Escarpullí Graciela, Fernández Rendón Elizabeth y Mota de la Garza Lydia.  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Apartado Postal 4-870 México, D.F. 06400. México.

Las especies móviles del género *Aeromonas* han sido asociadas recientemente con casos de gastroenteritis, por el consumo de agua y alimentos contaminados.

OBJETIVO: Investigar la presencia de *Aeromonas* spp, en dos plantas potabilizadoras.

METODOLOGÍA: Se tomaron muestras del agua del influente y del efluente de dos plantas potabilizadoras; se realizó el recuento de mesófilos aerobios (MA), organismos coliformes (OC) y organismos coliformes fecales (OCF) utilizando las técnicas recomendadas por la Secretaría de Salud e investigando la presencia de *Aeromonas* spp. por la técnica de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) modificada. Se analizaron 48 muestras de cada planta durante un año. Se determinó el cloro residual en las aguas de los efluentes.

A las cepas de *Aeromonas* aisladas se les investigó su resistencia a diferentes concentraciones de cloro y se les realizaron pruebas relacionadas con su patogenicidad, como la producción de proteasas (caseinasa y gelatinasa), hemolisinas y enterotoxinas, estas últimas mediante la técnica de asa ligada en rata. A las cepas seleccionadas como enteropatógenas se les

realizó la extracción de plásmidos mediante la técnica de Birnboim y Doly para verificar si existía alguna relación entre la enterotoxigenicidad y la presencia de plásmidos.

RESULTADOS: Se encontró la presencia de *Aeromonas* en 23 muestras del influente y siete del efluente de ambas plantas potabilizadoras. De las siete muestras del efluente, tres contenían coliformes y de ellas una tenía coliformes fecales y las cuatro muestras restantes cumplían la norma microbiológica en relación a los grupos indicadores. El cloro residual varió de 0 a 0.3 p.p.m. Se aislaron 33 cepas que resultaron ser resistentes hasta una p.p.m, de cloro y productoras de ambos tipos de proteasas y de hemolisinas; nueve fueron enterotoxigénicas y de ellas solo tres presentaron plásmidos.

#### HP 15

### INVESTIGACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN QUESOS FRESCOS QUE SE EXPENDEN EN LA CIUDAD DE MÉXICO.

Galindo Reyes Verónica, Fernández Rendón Elizabeth y Rodríguez Montañón Raúl.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Apartado Postal 4-870. México, D.F. 06400. México.

*Listeria monocytogenes* es un agente etiológico de enfermedades que han involucrado en brotes por el consumo de alimentos. Objetivos: determinar la frecuencia de aislamiento de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos.

Metodología: Las muestras fueron analizadas por la técnica de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Se pesaron 25 g de queso y se colocaron en 225 ml del caldo de enriquecimiento para *Listeria* (LEB) y se incubó a 30°C por 24 horas. Posteriormente se resembraron en Agar Mc. Bride Modificado (MMA) y en Agar Moxalactam Fenil-etanol Clorhidrato de Litio (LPM), incubándose a 37°C por 48 horas y seleccionando las colonias de *Listeria monocytogenes* con la ayuda de la iluminación oblicua de Henry en Agar LPM y las hemolíticas en el agar MMA. Para la identificación del microorganismo se realizaron las pruebas de catalasa, oxidasa, tinción de Gram y las siguientes pruebas bioquímicas: ramnosa, xilosa, manitol, TSI, RM-VP y SIM. Adicionalmente se determinó la presencia de inhibidores por la metodología recomendada por la FDA y la variación de pH en el medio de enriquecimiento.

Resultados: De las 115 muestras de queso analizadas para la búsqueda de *Listeria monocytogenes*, el 7% contenía al microorganismo. De 21 muestras de queso fresco sin marca, solo cinco no contenían inhibidores, detectándose al microorganismo en una muestra. El número elevado de muestras con inhibidores, dificultó el aislamiento de *Listeria monocytogenes*. De 89 quesos de marca el 27% dieron positiva la prueba de inhibidores encontrándose en 7 muestras la presencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g de queso. A las muestras que contenían inhibidores no se les determinó la presencia de *L.monocytogenes*. La variación de pH no mostró ser un factor limitante para el aislamiento del patógeno en los quesos.

### HP 16

#### OBTENCIÓN DE ANTITOXINAS ESTAFILOCOCCICAS "A" Y "B".

Nájera Sánchez Gabriela, Jiménez Nieto Felipe, Amador López Raúl, Padierna Olivos Juan y Mota de la Garza Lydia.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Apartado Postal 4-870. México, D. F. 06400. México.

El diagnóstico confirmativo de la intoxicación por métodos inmunológicos requiere de toxinas y antitoxinas específicas, las cuales son difíciles de conseguir en nuestro país. Por lo anterior se realizó la producción de las antitoxinas estafilocócicas "A" y "B" utilizando métodos de inmunización.

Método tradicional.- Con cada toxina de referencia (obtenida comercialmente) se inmunizaron tres conejos, utilizando un protocolo de 77 días con cuatro inmunizaciones por vía cutánea los días 0, 24, 66 y 70. La dosis total administrada fue de 220 mg de toxina por conejo.

Método nuevo.- Se prepararon los conjugados albúmina-toxina, uniendo respectivamente las toxinas "A" y "B" parcialmente purificadas y obtenidas en nuestro laboratorio, con albúmina bovina comercial utilizando carbodiimida como ligando. Con estos conjugados se inmunizaron tres conejos con protocolos de inmunización de 39 días con dos inoculaciones por vía cutánea en sitios múltiples los días cero y 15 y tres inmunizaciones por vía intravenosa los días 30, 31 y 32. La dosis total administrada fue de 11.75 mg de conjugado por conejo. La purificación de los anticuerpos se hizo en "salting out" y utilizando DEAE-celulosa; el título de anticuerpos específicos se determinó por la técnica de Weiss y Robbins.

Por el método tradicional se obtuvieron títulos de anticuerpos del orden de 1:8 para ambas toxinas, mientras que por el método propuesto se obtuvieron títulos de anticuerpos del orden de 1:1024 para ambas toxinas.

Se hace notar que por el método nuevo se obtuvo un título mayor de anticuerpos, utilizando las enterotoxinas parcialmente purificadas y un protocolo de inmunización más corto.

### HP 17

#### UTILIZACIÓN DE LA TERMONUCLEASA-ESTAFILOCOCCICA (TNasa) EN EL CONTROL SANITARIO DE LOS ALIMENTOS.

Uscanga Prieto Irma, Sosa Luna Alicia, Sánchez Mendoza Miroslava, Fernández Rendón Elizabeth y Mota de la Garza Lydia.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Apartado postal 4-870. México, D. F. 06400. México.

En México las intoxicaciones estafilocócicas son responsable de la mayoría de los brotes de intoxicación alimentaria. Sin embargo, la demostración de *Staphylococcus aureus* en alimentos que han sido sometidos a procesos térmicos durante su elaboración, no siempre es factible, de aquí la importancia de contar con un criterio auxiliar que permita poner de manifiesto el riesgo potencial del alimento de contener estafilotoxinas, ya que la ausencia del microorganismo en los alimentos no asegura

la buena calidad de los mismos. El presente trabajo representa la experiencia obtenida en nuestro laboratorio en la utilización de la Tnasa como criterio de calidad sanitaria de diversos alimentos.

Se analizaron 54 muestras de jamón, ocho yemas de huevo congelados, cinco harinas, siete pastas para sopa, un chorizo y tres muestras de pollo cocinado. A las muestras se les realizó el recuento de *S.aureus* por la técnica de la FDA y la demostración de la Tnasa directamente del alimento utilizando la técnica de Lachica. Adicionalmente a tres muestras de Jamón, y a las muestras de chorizo y pollo se les hizo la determinación de estafilotoxinas.

La enzima se demostró en 10 jamones, seis yemas de huevo, dos harinas, en todas las pastas y en las tres muestras de pollo. Es importante señalar que la mayoría de estas muestras cumplieron con la norma microbiológica establecida en nuestro país relativa a la cantidad permitida de *S.aureus* e inclusive en algunas muestras no se pudo poner en evidencia al microorganismo, pero sí se demostró la presencia de la enzima.

En el caso de las muestras a las que se les hizo la determinación de estafilotoxinas, se encontró una relación directa entre la presencia o ausencia de éstas con la presencia de la TNasa.

### HP 18

#### RIBOTIPIA DE *V.cholerae* 01 AISLADO EN CENTRO AMÉRICA.

Torres O., Cano F. y Cruz R.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

*V.cholerae* 01 se reintrodujo al continente Americano en 1991. A Centro América la epidemia entró por la frontera entre Guatemala y México, de donde se trasladó al resto de países Centroamericanos, siendo ahora un mal endémico.

El instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) fungió como centro de capacitación para los microbiólogos de la subregión y como laboratorio de referencia de cólera durante los primeros años de la epidemia. Como, tal se recibieron los primeros aislados de *V.cholerae* 01 de los diferentes países centroamericanos. Con el objeto de hacer una comparación bioquímica, serológica, en términos de producción de toxina y ribotipia después de digestión de ADN con la enzima de restricción Bgl II, se analizaron 23 cepas.

Todas las cepas analizadas fueron productoras de toxina al observarse la presencia del gen *toxA*, en blots de colonias utilizando una sonda marcada con digoxigenina. Todas las cepas fueron 01 serotipo Inaba.

Se compararon cepas obtenidas de pacientes de San Marcos, Chiquimula, Santiago Atitlán, Antigua Guatemala, Santa Rosa, Ciudad Peronia y Ciudad de Guatemala, en Guatemala. asimismo los tres primeros aislados de *V.cholerae* 01 de Managua, Nicaragua y la primera cepa aislada de San Salvador, El Salvador. El patrón de restricción con Bgl II permitió observar diferencias entre las cepas originales de Managua comparadas con las cepas de Guatemala y El Salvador. Se observaron 14 bandas idénticas en todas las cepas a excepción de las de Managua, las cuales tienen doce bandas en común con el resto de las cepas, pero las

dos primeras bandas son de peso molecular más elevado, lo que sugiere una evolución más rápida de este grupo de cepas.

#### HP 19

### IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio cholerae* EN MUESTRAS DE MOLUSCOS BIVALVOS EN PRODUCTOS MARINOS DEL MERCADO DE LA NUEVA VIGA EN LA CIUDAD DE MÉXICO.

Díaz García Rafael., Perea Cantero Rodolfo, Castrejón Mendoza Edilberto.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Cepario. Calzada del Hueso No. 1100 Colonia Villa Quietud. Delegación Coyoacán

El cólera como problema sanitario ha adquirido gran interés en los países de América Latina. Las fuentes de mayor incidencia son pescados y mariscos especialmente los moluscos bivalvos. El mercado de pescados y mariscos La Nueva Viga es el de mayor acopio, en él, se comercializa más del 70% de los productos marinos que se consumen en el país. Objetivo: Identificación de microorganismos de interés de salud pública en moluscos bivalvos de alto consumo por métodos taxonómicos. Método experimental: La técnica de muestreo y tratamiento fue la propuesta por el INSTITUTO NACIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA. Se recolectaron 120 muestras de moluscos bivalvos: 24 de almeja chocolate, 24 almeja chirila, 24 almeja negra, 24 pata de mula y 24 de ostión. Cada una se sembró en cuatro diferentes medios: McConkey, Cerebro Corazón, Verde Brillante y Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa. En diluciones 1/10,000, 1/100,000 y 1/1,000,000. Para su identificación se utilizó el Sistema BBL CRYSTRAL.

Resultados: En las diluciones 1/10,000 el número de colonias en el 90% de las muestras fue incontable y el restante 10% fue mayor a  $350 \times 10^6$  colonias. En las diluciones 1/1,000,000 en medio McConkey, en 36 muestras fue incontable y en las restantes 84, superior a las  $200 \times 10^6$  colonias. En Cerebro Corazón, en 24 muestras el crecimiento fue incontable en 60 el crecimiento fluctuó entre  $50 \times 10^6$  y  $1200 \times 10^6$  colonias y en 36 no hubo crecimiento. En el medio Verde Brillante, en 18 muestras el crecimiento fue incontable y en 102 se encontraron entre las  $90 \times 10^6$  y  $580 \times 10^6$  colonias. Y finalmente las muestras en T. C. B. S. en 24 muestras fue incontable 88 restante superior a  $50 \times 10^6$  colonias y en 12 no hubo crecimiento. De los resultados por BBL CRYSTRAL, destacan: *Acinetobacter iwoffi*, *Weksella virosa*, *Weksella zoohelcum*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis* y *Vibrio cholerae* 01 biotipo, El Tor.

#### HP 20

### OBACTERIOCINA PRODUCIDA POR *E. faecium* J96 AISLADA DE AVE ACTIVA CONTRA ESPECIES INTESTINALES RELACIONADAS

Audusio, M. Carina, Adriana Pérez-Chaia, Carlos Cuevas, Guillermo Oliver y Ma. C Apella.  
Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA) y Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina.

OBJETIVO: Detección de cepas aisladas de flora normal de aves con propiedades antimicrobianas, para la posterior

formulación de un alimento probiótico que asegure aves sanas.

MATERIALES Y MÉTODOS: La cepa *E. faecium* J96 fue aislada del tracto gastrointestinal de un ave joven, de alimentación libre en la provincia de Tucumán. Esta fue cultivada en medio Laptg1/2 (Laptg con la concentración de los nutrientes a la mitad) y medio CA (formulado según los requerimientos nutricionales de pollos parrilleros entre 1-15 días de vida) La detección del antimicrobiano se determinó por el empleo del sobrenadante libre de células, de un cultivo en fase exponencial tardía, esterilizado por filtración y pH ajustado a 5,5 por método de difusión en placa. El antimicrobiano fue caracterizado según su estabilidad térmica, respuesta a enzimas proteolíticas y catalasa y por su perfil en SDS-PAGE. Se determinó su título, expresado en UA/mL, en el medio Laptg 1/2 por el método de difusión en placa. *Enterococcus avium* 31/96 fue utilizado como cepa indicadora.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: *E. faecium* J96 tiene la propiedad de producir en la fase exponencial tardía de su desarrollo, una sustancia de naturaleza peptídica, termoestable (conserva actividad luego de un calentamiento a 121°C por 15 min), diferente del peróxido de hidrógeno y a ácidos orgánicos, activa frente a *E. avium* y *E. faecalis*, que puede ser considerada una bacteriocina. Su síntesis y actividad no se vieron modificadas por la composición del medio de cultivo, siendo producida tanto en medio Laptg1-2 como en CA.

CONCLUSIONES: Las propiedades de la bacteriocina producida por *E. faecium* J96 es un indicio importante para considerar a esta bacteria como un posible integrante de un

#### HP 21

### MODIFICACIÓN DE LA FRECUENCIA DE ESPECIES BACTERIANAS EN EL TRACTO RESPIRATORIO DE RATONES A TRAVÉS DEL TIEMPO.

Cangemi de Gutiérrez Rosa<sup>1</sup> Nader Olga de<sup>1</sup>, Ruiz Holgado Alda de<sup>1,2</sup>, Nader Macías María Elena<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Microbiología. Fac. Bqca, Qca y Fcia. Universidad Nacional de Tucumán.

<sup>2</sup>CERELA, Chacabuco 145.4.000. Tucumán-Argentina.

La flora microbiana normal de las diferentes superficies y mucosas juega un importante efecto protector sobre el huésped. En etapas previas realizamos un relevamiento de la flora indígena del tracto respiratorio de ratones adultos, determinando en instilado nasal, faríngeo, y homogenatos de tráquea, bronquio y pulmón la presencia y predominancia de los diferentes grupos bacterianos.

En el presente trabajo se estudió la evolución de las especies de microorganismos presentes en el árbol respiratorio de animales de 15, 28 y 58 días de vida, con el objetivo final de estudiar el efecto protector de la microflora bacteriana en el tracto respiratorio, empleando el ratón como modelo experimental.

METODOLOGÍA: Se trabajó con lotes de 15 ratones cada uno, machos cepa BALB/C de 15, 28 y 58 días de edad, los cuales se sacrificaron por dislocación cervical. Para el aislamiento de la flora nasal y faríngea se instiló 1 ml de agua peptona y se aspiró el exudado con pipeta Pasteur. Tráquea,

bronquio y pulmón fueron removidos asépticamente, suspendidos en 1 ml de agua peptona y homogeneizados separadamente en homogeneizador de teflón. Se emplearon medios de cultivos enriquecidos y selectivos. Los microorganismos fueron identificados usando criterios morfológicos y bioquímicos, por API CHL50 (BioMerieux-Francia), y de acuerdo a metodología estándar desarrollada y adaptada en el laboratorio.

**RESULTADOS:** De un total de 44 cepas aisladas en ratones de 15 días, las especies más frecuentes fueron: *Streptococcus viridans*(33,7%), *S.saprophyticus*(18%), *S.epidermidis*(15,8%), *S.cohnii* I(11,25%), *S.simulans*(4,5%) y *S.cohnii* II(4,5%) y *Micrococcus*(2,25%), configurando en 90% de las especies. Los lactobacilos se aislaron en un 10%. No se aislaron bacilos Gram negativos, ni anaerobios estrictos.

En ratones de 30 días, en un total de 45 cepas, las especies más frecuentes fueron: *Streptococcus viridans* (22,2%), *S.saprophyticus* (13,3%), *S.epidermidis* (14,5%), *S.aureus* (2,2%), *S.cohnii* I(6%), *S.cohnii* II(4%), *Micrococcus* (8,8%) formando el 77,7%. Los anaerobios estuvieron presentes en un 8,8% con una frecuencia de especies de: *Veilonella* (4,4%), *Peptostreptococcus* (2,2%), *Peptococcus* (2,2%). Los lactobacilos se aislaron en un 13,5%. No se aislaron Gram negativos.

En ratones adultos (58 días), de 68 cepas aisladas, las más frecuentes fueron: *S.aureus* (6%), *S.viridans* (22,2%), *S.saprophyticus* (23%), *S.epidermis* (17%), *S.simulans* (4%), *S.cohnii* I(6%), *S.cohnii* II(4%), *Micrococcus* (8%). Dentro de los bacilos Gram negativos (18 cepas) la frecuencia fue de: *Citrobacter* (10%), *E.coli* (4%), *Klebsiella* (3%) y *Aeromonas* (1%). Los lactobacilos (6 cepas) fueron: *L.brevis*, *L.cellobiosus* y *L.plantarum*. Los anaerobios estrictos (8 cepas) que predominaron fueron: *Peptococcus* (2%), *Peptostreptococcus* (2%), *Veilonella* (1%), *Clostridium* (2%), y *Bacteroides* (1%).

Nuestros resultados nos permiten evaluar las especies bacterianas que forman parte de la flora normal del tracto respiratorio de ratones desde su nacimiento hasta la edad adulta a fin de seleccionarlas en base a su predominancia cuantitativa y a propiedades *in vitro* para ser empleadas posteriormente en el estudio de su acción protectora frente a microorganismos patógenos empleando al ratón como modelo experimental.

#### HP 22

### BROTE INTRAHOSPITALARIO DE SALMONELLOSIS EN HOSPITAL PEDIÁTRICO DE TUCUMÁN

Aulet, O.<sup>1</sup>; Jure, M.A.<sup>1</sup>; Cecilia, M.<sup>1</sup>; Trejo, A.<sup>2</sup>; Ruiz Holgado, A.<sup>1</sup>; Nader, O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Microbiología. Facultad de Bqca., Qca y Fcia. Universidad Nacional de Tucumán. Ayacucho 471.

<sup>2</sup>Hospital del Niño Jesús. Tucumán. 4.000-Argentina.

Se estudiaron 60 cepas provenientes de un brote intrahospitalario de salmonellosis del Hospital del Niño Jesús de Tucumán que se produjo entre junio del año 1994 y mayo de 1995, extendiéndose a 5 salas del nosocomio; de éstas 50 fueron aisladas de gastroenteritis y 10 de procesos extraintestinales.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar al agente

responsable de estas patologías.

**METODOLOGÍA:** las cepas fueron identificadas bioquímica y serológicamente de acuerdo al esquema de Kauffman y White y correspondieron al serotipo *Salmonella oranienburg*. Las mismas fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad (método de difusión en discos de Kirby Bauer siguiendo las recomendaciones de la NCCLS) y se estudió su perfil plasmídico (Bimboim y Dolly).

Los antibióticos ensayados fueron: Ampicilina(AMN), ampicilina Sulbactama(AMS), Piperacilina(PIP), piperacilina-Tazobactama(TAZ), Cefalotina(CEF), Cefuroxima(CXM), Aztreonam(AZT), Cefoperazona(CFP), Ceftazidima(CAZ), Cefotaxima(CTX), Imipenem(IMP), Gentamicina(GEN), Netilmicina(NET) Amikacina(AKN), Fosfomicina(FOS), Ciprofloxacina(CIP), Ofloxacina(OFX), Trimetoprim-Sulfametoxazol(TMS), Cloranfenicol(CMP).

**RESULTADOS:** el microorganismo responsable fue multirresistente con los siguientes resultados: 100% de resistencia frente a: AMS, PIP, CEF, OFX, CXM, CTX, CFP, GEN, NET; 37,5% de resistencia frente a CAZ; 12,5% frente a AKN, y TAZ y 62,5% de R para AZT. El análisis de perfil plasmídico muestra que la cepa está libre de plásmidos con lo cual la resistencia estaría codificada a nivel cromosomal.

#### HP 23

### RELEVAMIENTO DE LACTOBACILOS DE VAGINA HUMANA. SUS PROPIEDADES.

Ocaña, Virginia<sup>1</sup>, Alloris Cristina de<sup>2</sup>, Ruiz Holgado Aida de<sup>1,2</sup>, Nader Macías María Elena<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>CERELA. Chabuco 145. <sup>2</sup>Instituto de Microbiología. Fac. Bqca, Qca y Fcia. Universidad Nacional de Tucumán. 4.000. Tucumán-Argentina.

Los lactobacilos constituyen la flora autóctona o indígena del tracto urogenital, donde forman un ecosistema estable y tienen un papel importante al ejercer resistencia a la colonización por microorganismos patógenos. En el presente trabajo se estudió la incidencia de lactobacilos en muestras vaginales de 264 mujeres de 19 a 55 años que concurren a consulta ginecológica, determinándose la relación entre presencia y ausencia de lactobacilos y microorganismos patógenos y/o reacción inflamatoria. Además se estudiaron algunas propiedades de los lactobacilos aislados, las cuales intervienen en la adhesión a epitelios e inhibición de patógenos (hidrofobicidad, hemaglutinación, producción de bacteriocinas)

**MATERIALES Y MÉTODOS:** En el examen directo de los flujos vaginales se determinó presencia de reacción inflamatoria (leucocitos), bacterias y hongos, eritrocitos y clue cells. Se cultivaron en agar sangre, agar chocolate y LBS (medio selectivo para lactobacilos). Los microorganismos se identificaron por pruebas morfológicas y bioquímicas descritas en el manual de Bergey, y estandarizadas en el laboratorio.

Las propiedades evaluadas de los lactobacilos fueron: a) grado de hidrofobicidad por partición en solventes orgánicos (hexadecano, tolueno, xileno); b) hemaglutinación frente a los grupos A, B y O; c) producción de bacteriocinas (ensayada en

sobrenadantes estériles en microplacas) frente a *S.aureus*, *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico y Enterococo.

**RESULTADOS;** de 264 muestras se aislaron 134(51%) cepas de lactobacilos de los cuales 48% son homofermentativos con las especies: *L.gasseri*, *L.acidophilus*, *L.delbruekii* subsp *delbruekii*, 33% son heterofermentativos facultativos: *L.casei* subsp *tolerans*, *L.agilis*, *L.coryniformis* subsp *coryniformis*; y el 19% son heterofermentativos obligados: *L.reuteri*, *L.fermentum* y *L.brevis*. Se observó que las pacientes que tienen lactobacilos muestran menor grado de respuesta inflamatoria(2%), menor incidencia de *Gardnerella vaginalis*(8%), de hongos(8%) y de otros patógenos(*E.coli*, *S.agalactiae*)(2%), mientras que las pacientes en las que no están presentes lactobacilos, dichos porcentajes se elevan a 13%,36%,16% y 5% respectivamente.

En cuanto a las propiedades de los lactobacilos aislados, se determinó que hay: a) cepas muy hidrofóbicas en un 51%, de mediana hidrofobicidad en un 31% y de baja hidrofobicidad en un 12%; b) cepas hemaglutinantes: 72% y c) cepas productoras de bacteriocinas: 53%.

Estos resultados nos permiten seleccionar a los lactobacilos con propiedades benéficas para ser empleados en la elaboración de óvulos vaginales para la prevención de infecciones.

#### HP 24

### AUMENTO DEL CONTENIDO DE Cd EN BIVALVOS (*Arca zebra*) DE LA COSTA ORIENTAL DE VENEZUELA, ENTRE 1989 y 1995.

Zanders, I.P. y Rojas, W.E.

Lab. Ecofisiología Animal, Centro de Biofísica y Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-IVIC, CARACAS 1020A, VENEZUELA.

En bivalvo *Arca zebra* (= pepitona) es explotado comercialmente en Venezuela para su consumo fresco, en conserva, o enlatado. En el presente estudio se determinó el contenido de cadmio en estos bivalvo, frescos o procesados, para comparar los valores con los de años precedentes según cifras del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INH). Se tomaron muestras heterogéneas de tejido (5 g de peso fresco, 1.3 g peso seco), extrayendo el metal en HNO<sub>3</sub>, 1N grado Analar.

Las mediciones de Cd fueron hechas por espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados obtenidos indican que: (1) el contenido de Cd en bivalvos frescos ( $2.6 \pm 0.15 \mu\text{g}^{-1}$  peso seco,  $0.65 \pm 0.04 \mu\text{g} \text{g}^{-1}$  peso húmedo) no se modifica durante el proceso de conserva o enlatado ( $2.2 \pm 0.36 \mu\text{g} \text{g}^{-1}$  ps); (2) el contenido natural de Cd en estos bivalvos (incrementado de  $1.0 \pm 0.1$  a  $1.97 \pm 0.46 \mu\text{g} \text{g}^{-1}$  ph entre 1989 y 1993, según datos del INH) ha seguido aumentando en 1995; (3) estos valores son mucho mayores que los medidos con fines comparativos en atún o sardinas (fresco o enlatados) en este trabajo, que van de 0.14 a  $0.5 \mu\text{g} \text{g}^{-1}$  ps, (4) los niveles de Cd en los bivalvos sobrepasan

el límite máximo establecido en Venezuela para moluscos y/o mariscos comestibles ( $0.1 \mu\text{g} \text{g}^{-1}$  ph, Norma COVENIN 1947782, 1982, por lo que éste debería ser revisado, tal como lo han hecho otros países en los que se acepta hasta  $2 \mu\text{g} \text{Cd} \text{g}^{-1}$  ph en moluscos aptos para el consumo humano; (5) la(s) posible(s) causa(s) del incremento gradual de las concentraciones de Cd en *A.zebra* permanecen sin identificar.

#### HP 26

### THE HUMAN GASTRIC EPITHELIUM AS A REGULATOR OF LOCAL IMMUNE RESPONSES DURING HELICOBACTER PYLORI INFECTION.

Ye G.<sup>1</sup>, C. Barrera<sup>1</sup>, H. Gunasena<sup>1</sup>, X. Fan<sup>1</sup>, P.B. Ernst<sup>2,3</sup> and V.E. Reyes<sup>2</sup>. Departments of <sup>1</sup>Pediatrics, <sup>2</sup>Microbiology & Immunology and <sup>3</sup>Sealy Ctr. Molec. Science, Univ. Texas Medical. Branch, Galveston, Texas 77555.

Multiple lines of evidence suggest that mucosal epithelial cells play a role in the T cell activation. During gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection there is an increase in epithelial expression of Class II MHC molecules, paralleled by CD4+ cell infiltration. The sentinel location of mucosal epithelial cells, which allows them to interact with both luminal antigens and T cells, together with their Class II MHC+ phenotype suggest their involvement as antigen presenting cells in the development of local immune responses.

To assess the ability of gastric epithelial cells to act as antigen presenting cells in their interaction with T cells, resident or recruited during *Helicobacter pylori* infection, we examined their ability to internalize and process foreign antigens. In addition, their expression of elements required in antigenic peptide loading by class II MHC and the costimulatory molecules required during T cell activation were evaluated. Foreign antigens coincubated with the gastric epithelial cells were internalized as confirmed by immunofluorescence and confocal microscopy. By immunofluorescence and flow cytometry, we detected in several gastric epithelial cell lines the presence of the antigen processing cathepsins B and D. HLA-DM, a recently described intracellular heterodimer required in enabling class II MHC to bind foreign peptides, was found to colocalize with internalized antigens in human gastric epithelial cell lines. The expression of CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2), which are required for optimal T cell activation, was examined by flow cytometry. Our studies showed low, but detectable, levels of CD80 expression. Interestingly, CD86 expression was higher than CD80 and was increased by IFN  $\gamma$  or by crosslinking of Class II MHC molecules with antibodies or superantigens. These results suggest that epithelial cells are more than a passive barrier since they possess features commonly associated with professional antigen presenting cells enabling them to activate T cells and thus play a central role in local immune responses. Supported in part by NIH grants A134043 and DK 50669.

## BIOTECNOLOGÍA Y PRODUCTOS NATURALES

---



**BPN 1**

**DISEÑO DE BIORREACTORES PARA OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS FERMENTATIVOS**

Rodríguez, C.F., Quiñones, M.I.<sup>1</sup>

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto s/n Barrio La Laguna Ticomán, Del Gustavo A. Madero 07340 Tel.(5)-754-45-48, Tel/Fax (5)-754-29-92.

<sup>1</sup>Centro de Química Farmacéutica. Calle 200 y 21 Atabey, Playa apado 6990 C.Habana Cuba. Tel.(53-7)21-79-25/21-78-09/21-78-22.

La biotecnología no importando su conceptualización involucra para trasladar sus resultados a un plano comercial, un trabajo de desarrollo de proceso y optimización en todas sus partes con un enfoque sistémico. El tamaño de las unidades de trabajo para la optimización depende de muchos factores como el tipo de producto, el costo de la investigación, la infraestructura disponible, las condiciones de proceso y el grado de control necesario entre otros, pero sobre todo del grado de confiabilidad de la información obtenida para el diseño de las operaciones a nivel mayor. Por otro lado la diversidad de agentes biológicos (microorganismos, células, enzimas, etc.) y productos involucrados en procesos biotecnológicos, hace imposible la existencia de la unidad universal. Este aspecto se ilustra de manera clara en la etapa de fermentación (biorreacción o biocatálisis) que se constituye como la etapa productiva del proceso, aquí el biorreactor o fermentador debe proveer las mejores condiciones para la producción, el problema radica primero en el desconocimiento y complejidad que se tiene de los fenómenos involucrados en el proceso, segundo, la evaluación de los efectos que los parámetros ambientales tienen sobre el mismo y tercero que comúnmente estos parámetros tienen reacciones contrarias o en conflicto por lo que se refiere a la optimización. Este trabajo presenta la estrategia de diseño de biorreactores para trabajo a nivel piloto con objetivo de trabajo multipropósito mostrando a la vez la importancia de la modulación y simulación para el aspecto de diseño de la unidad de optimización para fermentación, se da especial importancia en aspectos como escala mínima útil de optimización y diseño versátil para lograr el mayor número de aplicaciones posibles en función del agente biológico utilizable, las características del medio de fermentación y del producto y las limitaciones técnicas originadas por la falta de conocimiento absoluto del proceso.

**BPN 2**

**UN NUEVO HONGO DEL GENERO *Aspergillus* QUE CRECE Y TRANSFORMA EL ACÍBAR DE *Aloe vera*.**

Grassi, H.C.; Rojas-Velásquez, L.M.; Andrade, E.D.J.

Sección Biotecnología, Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

La Biotransformación de productos naturales es clave en el diseño de nuevos procesos y productos. Las plantas del género

*Aloe* son una fuente natural de compuestos medicinales. *Aloe vera* es una planta autóctona de Venezuela y el extracto obtenido de sus hojas (acíbar) contiene múltiples productos naturales entre los cuales se encuentran las antraquinonas glicosidos y sus respectivas agliconas. El acíbar posee propiedades antimicrobianas y antimicóticas. En el presente trabajo reportamos el aislamiento y estudio de un *Aspergillus sp.* capaz de crecer en el acíbar desecado a 4°C después de 72 h. Los hongos fueron aislados mediante técnicas microbiológicas convencionales en medio rico y en medio mínimo conteniendo acíbar. Como medio rico se utilizó el medio Método Estándar (BBL) y como medio mínimo el M9. Se observó crecimiento en medio mínimo dependiente del acíbar o de glucosa, indicando que el acíbar le proporciona la fuente de carbono y de energía. La identificación del organismo se logró en medio Czapeck, llegándose al resultado de que se trata de un *Aspergillus sp.*, con cabezas de conidio radial, vesículas elípticas a globulares, sterigmata de una sola fila y colonias blancas a canela por arriba y canela por debajo. Las vesículas tienen un diámetro de 18 µm y las conidias tienen 2.5-3.1 µm. Estas dos últimas características, junto con la capacidad de crecimiento y utilización del acíbar en condiciones xerofílicas lo distinguen como una especie nueva.

Para comprobar la biotransformación de productos aislados y purificados del acíbar por técnicas cromatográficas, se diseñó un sistema de diálisis al equilibrio que permitió determinar el consumo y la posible transformación de dos fracciones extraídas del acíbar: las antraquinonas agliconas y la barbaloina. Se concluye que se tiene un nuevo *Aspergillus sp.* capaz de consumir y transformar compuestos presentes en el acíbar de *Aloe vera*. Este organismo puede ser utilizado Biotecnológicamente para obtener nuevos compuestos a partir de esta fuente de productos naturales medicinales.

**BPN 3**

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CONSUMIDORES DE COCAÍNA.**

Andrade, E.D.J.; Chacón-Barreto, F.R.; Grassi, H.C.

Sección Biotecnología, Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Los organismos que crecen y transforman drogas de uso controlado tales como la cocaína, la marihuana y las anfetaminas son claves en el diseño de nuevos procesos y productos. Las aplicaciones potenciales serían la detección específica de la droga, bioconversión de la misma para obtener otros derivados activos o inactivos y desarrollo de sistemas de desintoxicación rápida y específica usando sistemas enzimáticos metabólicos aislados a partir de dichos organismos. En el presente trabajo se reporta el aislamiento de varios hongos consumidores de cocaína la cual utilizan como fuente de nutrientes y de energía. Estos organismos fueron aislados a partir de una solución de cocaína 1mg/ml en agua destilada, a 20°C, después de 48 h. A partir de varios ciclos de aislamiento y enriquecimiento en medio ACA (agua-cocaína 1mg/ml-agar 12g/l) fue posible aislar 6 clones pertenecientes a 3 grupos de organismos: *Penicillium sp.*,

*Hialopus sp.*, y un tercer hongo cuyo género ha resistido hasta ahora la asignación taxonómica.

Los organismos presentan las siguientes características fisiológicas: crecen con cocaína como única fuente de carbono, nitrógeno y energía; crecen mejor en medios hipotónicos líquidos; no crecen en ausencia de cocaína como única fuente de nutrientes y de energía; crecen bien en medios ricos convencionales a condición de que sean agarizados o líquidos. Los hongos de los géneros *Penicillium* y *Hialopus* crecen rápido en medio rico y lentamente en medio ACA. El hongo aún no asignado taxonómicamente se comporta a la inversa. Se concluye que se tienen organismos de gran interés Biotecnológico y Toxicológico.

#### BPN 4

### ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PROPÓLEOS ARGENTINOS

Moreno Nieva, María I.; Vattuone, Marta A.; Isla, María I.; Cudmani, Norma M.; Sampietro, A.R.  
Cátedra de Fitoquímica. Instituto de Estudios Vegetales. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. Ayacucho 461. 4000 - San Miguel de Tucumán y Hospital Nicolás Avellaneda. Catamarca 2000. 4000 - San Miguel de Tucumán. ARGENTINA. FAX: 0054 81 248025; E-mail: postmaster@untmre.edu.ar

Desde siempre el hombre ha utilizado recursos naturales con fines terapéuticos logrando así antagonizar diferentes enfermedades. La medicina popular argentina tiene numerosos ejemplos, así los propóleos fueron usados para combatir catarros, bronquitis, anginas, etc. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la acción de propóleos obtenidos de distintas zonas de la República Argentina sobre el crecimiento de bacterias GRAM (+) y GRAM (-) de interés clínico que participan en lesiones superficiales (escaras, lesiones de piel, úlceras, etc.). Para ello se trabajó con once extractos alcohólicos de propóleos provenientes de áreas geográficas diferentes: Santiago del Estero, Chaco, Tucumán y Buenos Aires. Se ensayó su efecto sobre cepas antibiótico resistentes de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* Grupo A, C y F, *Enterococcus sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp* y *Pseudomonas sp*. Se realizaron pruebas de susceptibilidad bacteriana por difusión de los extractos alcohólicos en agar (MH). Se utilizaron suspensiones bacterianas de 106 U.F.C. distribuidas uniformemente en el medio de cultivo y discos de papel conteniendo cantidades variables de extractos de propóleos con el correspondiente control alcohólico. La inhibición del crecimiento bacteriano se determinó como el promedio de medición del diámetro de la zona de inhibición en cuatro direcciones. Los resultados indican susceptibilidad de las bacterias GRAM (+) únicamente. Los propóleos con mayor actividad antimicrobiana corresponden a las zonas de Forres y Fernández ( Santiago del Estero) y Verónica ( Buenos Aires). Con los datos obtenidos se realizó una representación gráfica de 1/diámetro del halo de inhibición en función de 1/mg de propóleo con la que se obtuvo el valor de la mínima cantidad de propóleo inhibitoria del crecimiento bacteriano. Este resultado

fue confirmado experimentalmente determinando la concentración bactericida mínima. Los resultados obtenidos sugieren que los propóleos de áreas fitogeográficas diferentes poseen capacidades antimicrobianas diferenciales, las que pueden estar influenciadas por la flora de la región.

#### BPN 5

### ALGAS MARINAS DEL PARQUE NACIONAL MORROCO Y VENEZUELA: USOS EN EL DIAGNÓSTICO Y LA TERAPÉUTICA,

Carabot Cuervo A., G.E. Medina Ramirez, E.D.J. Andrade, L.E. Díaz de T., J.M. Jiménez Medina, H.C. Grassi, P. Djabayan Djibeyan, E. Murano, R. Toffanin, C. Pedersini, G. Blunden, R. Rizzo, B.G. Carpenter y D.J. Rogers

Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.  
University of Portsmouth, Portsmouth, U.K. Poly-bios, Trieste, Italia.

La zona tropical alberga la mayor proporción de la diversidad biológica del planeta. De atención especial en este aspecto son las costas marinas Venezolanas. Este ecosistema ha sido objeto del presente estudio en algas marinas con miras a la futura aplicación en el Diagnóstico y la Terapéutica. La recolección, transporte, almacenamiento, clasificación y determinación Botánica de los ejemplares objeto de este estudio fueron realizados entre 1990 y 1995. El material vegetal marino recolectado fue sometido a extracciones acuosas en tampón fosfato salino, 0.13M NaCl (0.76%), 0.0065M Fosfato y 0.0015M Potasio, pH 7.1, para luego ser precipitado con sulfato de amonio a concentraciones crecientes, resuspendidos los precipitados y sometidos a diálisis inversa. Se cromatografiaron en columnas de filtración molecular Biogel P100, Sephadex-G200, Sepharosa CL 2B, y se obtuvieron fracciones a las cuales se les probaron actividades tales como antimicrobianas, antimicóticas, hemaglutinantes y bioensayo usando *Artemia salina*. Los resultados obtenidos son los siguientes: en el alga *Gracilaria mammillaris* se aisló un factor aglutinante de eritrocitos tipo B y en *Laurencia obtusa* se obtuvo una fracción específica para las células tipo O. En las algas *Ulva sp.*, *Codium fragile*, *Halimeda opuntia*, *Gracilariopsis tenuiformis*, *Gracilaria polycavernosa* y *Acanthophora spicifera* se observó el efecto aglutinante sobre todos los tipos de eritrocitos. Por otra parte, las muestras *Padina pavonica*, *Chaetomorpha linum*, *G. mammillaris*, y *Caulerpa sertularioides* promovieron la lisis celular. Se encontraron factores antimicrobianos en las muestras de *Laurencia papillosa*, *H. opuntia*, *L. obtusa* y *G. polycavernosa* sobre cepas de: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Las muestras de *L. papillosa*, *G. tenuiformis* mostraron actividad mutagénica y tóxica al ser evaluados sobre la cepa *E. coli* Gy5027. Algunas de las acciones presentaron actividad tóxica frente a *A. salina*. Sobre las especies *Gelidiella acerosa* y *G. mammillaris* se hicieron pruebas para evaluar la producción de agar. Según nuestros resultados, *G. acerosa* puede ser considerada como una potencial fuente de agar que gelifica

con alta cohesión, mientras que *G. mammillaris* aunque contiene un porcentaje mayor de agar (27 vs. 20%), gelifica con baja cohesión.

#### **BPN 6**

### **PLANTAS MEDICINALES DE LA AMAZONIA VENEZOLANA**

Carabot-Cuervo, A. Cegarra, J. Carmona, G.E. Medina-Ramírez, M. Jiménez-Medina, G. Méndez, M. Sosa, I. Ramírez, D. Jiménez, I. Hernández y F. Andueza.  
Facultad de Farmacia, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

La zona tropical abriga la mayor porción de la diversidad biológica del planeta. La selva amazónica, constituye el bioma de tierras emergidas con la mas profusa biodiversidad en la biósfera. El estudio de plantas medicinales en tal bioma representa un reto de mucha envergadura, pero de incalculable interés. En este trabajo se presenta un avance de lo que constituye la primera de tres etapas de este proyecto, cuales son: recolección y determinación botánica, extracción de compuestos y separación de productos naturales y bioensayos específicos. Estos ensayos están dirigidos a detectar actividades biológicas tales como antivirales, antibacterianos, antimicóticos, antiparasitarios, antiinflamatorios, antihipertensivos y de toxicidad frente a *Artemia salina*. La recolección se realizó en tres salidas de campo en septiembre de 1994, mayo y junio de 1995. La captura se realizó en: Puerto Ayacucho y sus alrededores, en los ríos Pozo Azul, Cataniapo, Sipapo y Autana hasta el raudal ceguera. Río Orinoco desde Puerto Carreño hasta la desembocadura del Río Meta (ambas márgenes, la Colombiana y la Venezolana) incluyendo a La Esmeralda en la Amazonia Venezolana. En el Estado Bolívar, en los Ríos Orocopiche, Aro, Pao, Cuchivero, Suapure, Parguaza y Caura. En el Estado Apure en los Ríos Cunaviche, Capanaparo, la Pica, Caño Guaritico, Sinaruco y Apure. Se han recolectado 334 ejemplares pertenecientes a más de 50 familias. Las plantas han sido preparadas convenientemente en dos vertientes: para la determinación botánica y para la extracción de Productos Naturales. La determinación botánica está siendo efectuada conjuntamente con especialistas nacionales e internacionales. La extracción de productos naturales se ha efectuado mediante dos técnicas y dos solventes diferentes: cloroformo y etanol. Se extrajeron 5g de muestra seca con cada uno de los solventes en Soxhlet y 5g de muestra seca con cada solvente a temperatura ambiente por 18 horas. Ambos extractos fueron filtrados, concentrados y almacenados en frío a 5°C hasta su utilización. Los extractos obtenidos se evaluaron en principio, para su actividad antiinflamatoria, usando dos modelos; la inducción del edema de pata causada por el polisacárido carragen y la inducción del edema de oreja causada por el acetato de 12-O-Tetradecanol Forbol (TPA). Muestras del género *Solanum* comparadas con (PIROXICAM) 4-hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxilamina 1,1- dióxido, mostraron importante acción antiinflamatoria al ser administrados en forma oral, intraperitoneal y tópica. Muestras de frutos de *Hyptis dilatata* (*Labiatae*) y de *Cestrum sp.* (*Solanaceae*) mostraron actividad antiinflamatoria y en el caso de *Hyptis dilatata* como

estimulante del Sistema Nervioso Central. La enorme variedad vegetal de la Amazonia y lo profuso de nuestra colección hace pronosticar que contamos con un enorme potencial medicinal que debe ser evaluado.

#### **BPN 7**

### **INACTIVACIÓN IN VITRO DE LOS VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO 1 Y 2 POR ACIDO ASCÓRBICO-CU<sup>2+</sup>**

Gabriel Betanzos Cabrera<sup>1</sup>, Fco. Javier Ramírez<sup>2</sup>, Blanca L. Barrón<sup>2</sup>, José Luis Muñoz<sup>1</sup> y Rogelio Maldonado<sup>1</sup>.  
1Dpto. de Bioquímica y <sup>2</sup>Dpto. de Microbiología, ENCB, IPN., Carpio y Plan de Ayala, México 11340, D.F. México.

En los estudios previos se han demostrado que la combinación ácido ascórbico-Cu<sup>2+</sup> causa un efecto letal sobre los bacteriófagos. Sin embargo, se desconoce si tiene el mismo efecto sobre virus de organismos superiores.

El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto del ácido ascórbico-Cu<sup>2+</sup> sobre la efectividad de los virus herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), en células de pulmón embrionario de cobayo (PC).

Una suspensión de virus HSV-1 contenido 10<sup>5.7</sup> DICT<sub>30</sub>/ml y de HSV-2 con 10<sup>6.6</sup> DICT<sub>50</sub>/ml fueron tratadas a concentraciones de 2, 5, 15, y 20 mM de ácido ascórbico manteniendo constante la concentración de Cu<sup>2+</sup> (1mM). Las concentraciones de 15 y 20 mM de ácido ascórbico con 1mM de Cu<sup>2+</sup>, provocaron la inactivación de HSV-1, mientras que concentraciones de 2.5 mM de ácido ascórbico y 1mM de Cu<sup>2+</sup>, fueron suficientes para inactivar a HSV-2. Cuando ambos virus se trataron con ácido ascórbico o Cu<sup>2+</sup>, de manera aislada, a las mismas concentraciones anteriores, éstas fueron inocuas en ambos virus. Estos resultados comprueban el efecto letal biológico del ácido ascórbico en presencia de metales de transición como previamente fue reportado para otros virus. Adicionalmente se determinó la citotoxicidad de la mezcla ácido ascórbico-Cu<sup>2+</sup> a las concentraciones que respectivamente provocaron la inactivación, sobre células PC, por ensayo con MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolio), obteniendo 80% y 100% de viabilidad celular para HSV-1 y HSV-2 respectivamente. Por lo que se concluye que la mezcla no tiene efecto citotóxico.

#### **BPN 8**

### **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICACIA ANTIVIRAL DE LA ALBAHACA, EN LA INFECCIÓN ZOSTERIFORME MURINA CON HSV-1 Y HSV-2.**

Ramírez Moreno M., Vázquez Corzo Sara, Barrón Romero Blanca L.  
Dpto Microbiología, ENCB,IPN. Carpio y Plan de Ayala, México 11340, D.F. México.

Debido a que las infecciones virales son un problema importante de salud humana, recientemente se ha retomado el estudio de plantas medicinales para la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos.

En este trabajo se evaluó la eficacia antiviral de la albahaca (*Ocimum basilicum*) en la infección zosteriforme murina con virus herpes simplex (HSV) tipo 1 y 2, para ello se infectaron ratones adultos de la cepa CF1 y Balb/c con HSV-1 y HSV-2 respectivamente, en una región del costado izquierdo del cuerpo, previamente depilada y escarificada. La infusión de albahaca liofilizada, se administró oralmente 8 h antes y cada 12 h después de la inoculación en dosis de 300mg/Kg durante 8 a 12 días.

Se registró diariamente el peso y el desarrollo de las lesiones en piel y se tituló el virus recuperado en tejido cerebral. La administración de albahaca en los animales infectados con HSV-2 produjo una mejoría leve, sin embargo, cuando esta infusión se administró en animales infectados con HSV-1, logró reducir la tasa de mortalidad a 0% en comparación con el 20% observada en animales no tratado; las lesiones no progresan a su forma más severa y no se encontró virus en el cerebro de los animales tratados. Los resultados muestran que la administración de esta infusión produce un cambio en el curso clínico de la infección cutánea herpética cuando es producida por HSV-1, por lo que sería importante buscar el principio responsable de esta actividad ya que podría usarse en el tratamiento de las infecciones causadas por este agente.

#### BPN 9

### EFFECTO DE UN EXTRACTO ACUOSO DE *Spirulina maxima* SOBRE CÉLULAS MA-104 INFECTADAS CON HSV.

Hernández Corona Armida<sup>1</sup>, Barrón Romero Blanca L.<sup>1</sup>, Chamorro A. Germán<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología, <sup>2</sup>Dpto. Farmacia, ENCB., IPN. Carpio y Plan de Ayala, México 11340, D.F. México.

Para el tratamiento de infecciones virales, como las causadas por los virus herpes simplex (HSV) existen solo tres medicamentos para el uso en humanos, por lo que es importante la búsqueda de sustancias biológicamente activas que puedan usarse para la terapia.

*Spirulina maxima* es una cianobacteria que ha recibido considerable atención ya que un 60-70% de su peso seco es proteína, también se ha demostrado que no es teratogénica y tiene un aspecto hipocolesterolémico.

El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antiviral de un extracto acuoso (EA) de *S.maxima* en células MA-104 infectadas con HSV-1 y 2; así como conocer la actividad citotóxica de este extracto en el mismo sistema celular sin infectar. Las células MA-104 fueron tratadas con concentraciones de 0.08 mg/ml hasta 50 mg/ml del EA, después se le adicionó una suspensión conteniendo 1000 DICT<sub>50</sub>/ml de HSV-1. Para HSV-2 se utilizó la misma concentración viral y las células se trataron con las mismas concentraciones del EA que para HSV-1.

Se encontró que la concentración mínima citotóxica al 50% (ID<sub>50%</sub>) del EA fue de 22.59 mg/ml. Se determinó que la concentración mínima protectora al 50% (ED<sub>50%</sub>) del EA para las células infectadas con HSV-1 fue de 0.94 mg/ml, con lo cual se obtiene un índice terapéutico *in vitro* (SI) de 25. Mientras que para las células infectadas con HSV-2 la DE<sub>50%</sub> fue de 0.5 mg/ml y el SI de 45.18.

Podemos concluir que la concentración del extracto acuoso de *S.maxima* que protege al 50% de las células MA-104 para HSV-1 y HSV-2 es 25 y 45 veces respectivamente más pequeña que la que produce citotoxicidad.

#### BPN 10

### CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE UN INHIBIDOR DE FOSFOLIPASAS A<sub>2</sub> BÁSICAS AISLADO DE PLASMA DE TERCIOPELO (*Bothrops asper*)

Lizano González Sergio

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, y Departamento de Bioquímica, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica,

Las propiedades bioquímicas y farmacológicas de un inhibidor de miotoxinas tipo fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub> grupo II) básicas (BaMIP) aislado del plasma de terciopelo (*Bothrops asper*) fueron determinadas. Mediante electroforesis de esta proteína en geles de poliacrilamida e isoelectroenfoque se determinaron bandas de 25 kDa y un punto isoeléctrico (pI) de 4.2, respectivamente. La masa molecular determinada por filtración en gel fue de 120 kDa, indicando una estructura oligomérica compuesta de 4-5 subunidades de 25 kDa. La secuencia de los primeros 63 aminoácidos NH<sub>2</sub>-terminales de BaMIP indican un 72% de homología con inhibidores de PLA<sub>2</sub>s de *Agkistrodon blomhoffi siniticus* y *Trimeresurus flavoviridis*, así como la presencia de dominios de reconocimiento de carbohidratos (CRD) homólogos a los de receptores de PLA<sub>2</sub>s tipo pancreática (grupo I) y secretora (Grupo II) y a lectinas tipo C como la proteína A de unión a manosa y el factor surfactante pulmonar, sugiriendo una relación evolutiva entre estas proteínas.

Aunque BaMIP es capaz de unir las cuatro isoformas conocidas de miotoxina tipo PLA<sub>2</sub> básica del veneno de *B.asper* (I, II, III, y IV), solamente inhibe la actividad PLA<sub>2</sub> y las propiedades anticoagulante, edematizante, de miotoxicidad *in vivo* y citotoxicidad *in vitro* de las miotoxinas I y III. El edema y toxicidad causados por las isoformas enzimáticamente inactivas I y IV no son neutralizados. BaMIP es el primer inhibidor de actividad miotóxica que disocia entre los efectos tóxicos de las miotoxinas de *B.asper*, y actualmente se investiga su utilidad para estudiar el mecanismo de acción de estas miotoxinas, así como su potencial aplicación en el tratamiento del accidente ofídico y de ciertos procesos inflamatorios.

#### BPN 10a

### BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF A BASIC PHOSPHOLIPASE A<sub>2</sub> INHIBITOR ISOLATED FROM PLASMA OF *Bothrops asper* (FER DE LANCE).

Lizano González Sergio

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Tel: 229-3135, 229-0344. Fax: 292-0485.

This study describes the biochemical and pharmacological

properties of an inhibitor of basic group II phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) myotoxins (BaMIP) isolated from plasma of fer-de-lance (*Bothrops asper*) and major cause of snake bites in Central America. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and isoelectric focusing (IEF) studies established a protein with a molecular weight of 25 kDa and isoelectric point (pI) of 4.2 respectively. The molecular mass determined by gel filtration is 120 kDa, suggesting an oligomeric structure composed of at least four 25 kDa subunits. The first 63 NH<sub>2</sub>- terminal amino acid of BaMIP share 72% sequence homology with PLA<sub>2</sub> inhibitor from *Agkistrodon blomhoffii siniticus* and *Trimeresurus flavoviridis*. These factors including BaMIP, contain sequences resembling the carbohydrate recognition domains (CRDs) found in C-type lectins such as mannose binding protein A and pulmonary surfactant protein as well as cellular PLA<sub>2</sub> receptors found in humans and other animals, thus suggesting a common evolutionary relationship among these proteins. Binding studies indicate that BaMIP is capable of forming complexes with the four characterized isoform of basic PLA<sub>2</sub>-type myotoxin isoforms (I, II, III and IV) present in *B. asper* venom. However, it only inhibits the PLA<sub>2</sub> activity as well as the anticoagulant, edema-forming, myotoxicity *in vivo* and cytotoxicity *in vitro* of myotoxins I y III, whereas the edema y toxicity caused by the enzymatically inactive isoforms II and IV are not neutralized. This study represent the first report of a natural myotoxin inhibitor in snake venom and the first evidence of dissociation between the myotoxic properties among the basic PLA<sub>2</sub> myotoxin isoforms in *B. asper* venom. The molecular characterization of BaMIP will help in the characterization of the molecular basis of the toxic effects of myotoxins, and may become an important alternative in the search for new agent for the treatment of snake envenomations and certain inflammatory processes.

#### BPN 11

### USE OF BUFFERED CHARCOAL YEAST EXTRACT AGAR PLUS ANTIBIOTIC FOR THE SELECTIVE ISOLATION OF SOIL ACTINOMYCETES

Hinda Zlotnik and Alina M. Galliano  
School of Medicine, Medical Sciences Campus, University of Puerto Rico

Actinomycetes are widely distributed in nature and are an important source of antimicrobial substances. Their isolation from soil has been accomplished by the use of antibiotic containing growth media as no selective ones have been developed for them. In this work we evaluated the use of the buffered charcoal yeast extract (BCYE) medium containing different antibiotic combinations for the selective isolation of actinomycetes from soil. This medium was originally developed for the selective isolation of *Legionella* but has been shown to support the growth of *Nocardia* from clinical samples.

The control medium used for this study was Sabouraud Dextrose Agar (SDA) supplemented with the same antibiotic mixture used in the BCYE. The results generated from two different experiments in which ten soil samples were processed

and used to inoculate two sets of experimental and two sets of control media revealed that SDA with chlortetracycline, amphotericin B and polymyxin B or with vancomycin, amphotericin B and polymyxin B allowed the recovery of more actinomycete colonies than either of the two antibiotic supplemented BCYE. The latter, however, supported the growth of more microorganisms than SDA plus antibiotics.

From these results it can be concluded that a careful selection of growth media is required for the successful isolation of soil actinomycetes.

#### BPN 12

### ANÁLISIS TAXONÓMICO DE 96 CEPAS DEL GÉNERO *Brucella* CON LAS GALERÍAS DE ASIMILACIÓN PAPI 100.

López Merino, A.<sup>1</sup>, Hernández, A.P.<sup>1</sup>, Sandoval, T.H.<sup>2</sup>, Sánchez, N.L.<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 4-862, México, D.F. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100 col. Villa Quietud, México, D.F. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA., México, D.F.

La gran heterogeneidad existente entre las cepas del género *Brucella*, da por resultado, que la identificación por técnicas convencionales sea laboriosa, tardada y en ocasiones la interpretación de resultados sea confusa; por lo cual, se ha incrementado la búsqueda de nuevas técnicas que proporcionen resultados más confiables, entre ellas, se cuenta con los sustratos para asimilación de las Galerías PAPI-100 (Lab. Bio Merieux). En este estudio, se analizaron noventa y seis cepas del género *Brucella*, entre ellas, 15 son de referencia, 3 vacunales y el resto de campo provenientes de diversos estados de la República Mexicana. Se sembraron en 99 sustratos de asimilación que constituyen las Galerías PAPI-100. Los resultados obtenidos, fueron analizados por técnicas de Taxonomía Numérica, utilizando el Coeficiente de Similitud Simple (Ssm) y el Análisis Grupal con UPGMA (Average linkage or Unweighted Pair Group Method), construyendo así una matriz de similitud jerarquizada y el dendrograma correspondiente; para estos análisis se utilizaron los paquetes computacionales, TAXUM (Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Dr. H.Sandoval) y NTSyS (Universidad de Nueva York, J. Rohlf). La matriz de similitud jerarquizada, se construyó únicamente con 55 cepas del total; se observó que mostraban tendencia a formar 4 grupos. En el dendrograma, se evidenciaron 5 grupos o fenas, (A,B,C,D y E), en ellos existe una separación de especies: *B. melitensis* (grupo B), *B. suis* y *B. canis* (grupo A) y *B. abortus* (grupos C y D), así como un pequeño grupo de cepas de referencia (grupo E). Dentro de los Grupos A y D, hay subgrupos claramente definidos, como el que corresponde a un grupo de cepas vacunales dentro del Grupo D, de *B. abortus* (grupo D1). Estas diferencias metabólicas mostradas por la diversa asimilación en sustratos, brindan elementos para la diferenciación de los diferentes miembros del género *Brucella*, los cuales podrán ser empleados junto con otros para establecer una clasificación más utilitaria.

**BPN 12a**

**TAXONOMIC ANALYSIS OF 96 STRAINS OF GENUS *Brucella* TESTED WITH PAPI-100 ASSIMILATION GALLERIES.**

López Merino, A.<sup>1</sup>, Hernández, A.P.<sup>1</sup>, Sandoval, T.H.<sup>2</sup>, Sánchez, N.L.<sup>3</sup>.  
<sup>1</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 4-862, México, D.F. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100 col. Villa Quietud, México, D.F. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA., México, D.F.

The great heterogeneity among the strains of the *Brucella* genus, conducts to identification difficulties by conventional techniques because they requires laborious and lasting work, that carries on confused interpretations and results. Therefore an increased effort has been done in searching for new identification techniques that affords to more precise results. Among them, there are the substrate assimilation on the PAPI-100 galleries from BioMerieux Laboratory. In this study, 96 strains of the *Brucella* genus, were analyzed, among them 15 were reference strains, 3 were vaccine strains, and the remainder field strains, were collected from several location in Mexico. All the strains were tested in 99 assimilation substrates that constitutes the PAPI-100 galleries. The obtained results, were analyzed by Numerical Taxonomy methods, using a Simple Matching Coefficient and a cluster analysis of the Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Average (UPGMA). Those analysis were achieved by the TAXUM (UAM- X, Dr. Horacio Sandoval) and the NTSyS (New York University, J.Rohlf) packages. An hierarchical similarity matrix, was built using only 55 strains of the total. A tendency to form 4 clusters was observed. Thereafter, the corresponding dendrogram was performed and 5 clusters or phenas were obtained. On these

**BPN 13**

**SÍNTESIS DE PROCESOS PARA PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS**

Rodríguez, C.F.

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional Av. Acueducto s/n, Barrio La Laguna Ticomán, Del. Gustavo A. Madero, 07340, México, D.F., México.Tel. (5)-754-45-48, Tel/Fax (5) 754-2492

Para un gran porcentaje de productos de la moderna biotecnología, la separación y purificación de dichos productos resulta ser un factor limitante para lograr rendimiento adecuados y altos niveles de rentabilidad. El origen son los altos niveles de pureza y calidad para los productos que obliga a establecer procesos de separación y purificación largos, complejos y costosos tanto por su inversión como para su operación. Bajo este marco, la etapa de investigación y desarrollo de proceso se convierte en una actividad crucial que debe realizarse cuidadosamente. El proceso de separación y purificación debe ser diseñado de manera tal de lograr el mayor beneficio posible con un proceso reproducible y fácil de controlar. En este

contexto, la definición de proceso, y la selección de uno entre varios posibles, requiere un conocimiento no solo de las operaciones involucradas sino también de las relaciones que guardan una operación con otras y el efecto que estas tienen con parámetros como la productividad, rendimiento inversión necesaria, costos de operación y rentabilidad. La síntesis de proceso es una actividad de la ingeniería que tiene el objetivo de diseño y selección de proceso basándose en métodos que requieren desde una gran experiencia práctica hasta los mas complejos algoritmos de cálculo y apoyo computacional considerable. El método a elegir depende del conocimiento de las operaciones, la infraestructura y tiempo disponible. No obstante lo anterior la actividad de síntesis es ineludible y tiene gran importancia para dirigir el esfuerzo y los recursos de la investigación. En este último punto, síntesis del proceso completo en etapas tempranas de la investigación y desarrollo da una información valiosa para reconocer las etapas críticas del proceso desde un punto de vista económico de productividad o rendimiento permitiendo establecer criterios objetivos de evaluación de los procesos para su selección a la vez de marcar las prioridades de la investigación en aquellas operaciones críticas estableciendo metas concretas a alcanzar. Conforme la investigación avanza la síntesis de proceso permite necesidades físicas de operación de servicios, etc., para la ejecución del proceso. El presente trabajo tiene como objeto hacer un análisis de tan importante actividad, sus métodos de ejecución y su gran

**BPN 14**

**RECOMBINANT ANTIGENS, MONOCLONAL ANTIBODIES, AND ENGINEERED ANTIBODY FRAGMENTS IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF HUMAN DISEASE**

Jorge V. Gavilondo, Ph.D.

Division of Immunotechnology and Diagnostics, Center for Genetic Engineering and Biotechnology, P.O. Box 6162, Cubanacán, Playa, La Habana 10600, CUBA; Fax: 53-7-218070, 336008, email: Jorge.Gavilondo@cigb.edu.cu

The talk will detail our efforts in the production of recombinant antigens and monoclonal antibodies (MAb) for *in vitro* diagnosis, and the development of engineered antibody fragments for *in vivo* diagnostic techniques and the immunoaffinity purification of a vaccine antigen.

We have cloned and expressed at high levels in *E. coli* a set of 13 relevant recombinant diagnostic antigens from HIV-1/2, HTLV-I/II, HCV, HBV, HEV, *Theponema pallidum* and *Toxoplasma gondii*, using in-house developed vectors. The antigens have been purified by HPLC or Immobilized Metal Ion Affinity Chromatography (IMAC), and developed by us into commercial serologic ELISA and multi-step visual assays (VIA), with favorable performance in terms of sensitivity and specificity.

Our Division has also raised a large number of mouse MAbs. MAbs to Lp(a) have been used to develop ELISA and multi-step VIA. A one-step fast VIA for early pregnancy detection with anti-hCG MAbs has been produced and registered,

and similar kits for Rotavirus in feces and HBsAg in serum are in the immediate pipeline. Other MAbs are being developed into reagents and kits for sepsis detection, identification of RSV and Herpes simplex, and early diagnosis of myocardial infarct.

For the last 8 years the Division has also worked in the modification of antibodies using genetic engineering, and specifically in the development of antibody fragments of the single-chain Fv (scFv) type. A scFv for carcinoembryonic antigen was prepared by PCR from the V-region genes of a mouse hybridoma, and has been expressed as a cytoplasmic or periplasmic

protein in *E. coli*. Production of this scFv is being scaled-up in order to start preclinical trials this years as a radiolabelled reagent for immunoscintigraphy in colon cancer. Another scFv, specific for the HBsAg, has been expressed in the bacterial periplasm as an insoluble protein. This scFv was tested against the original mouse MAb as ligand for the immunoaffinity purification of a recombinant vaccine antigen. We were able to show that the scFv performed in a similar manner to the MAb, in terms of antigen yield, purity and gel stability in time.

**CIENCIAS BÁSICAS**

---



**CB1**

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL GEN S3 DE CEPAS DE CAMPO DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL OBTENIDAS EN CALIFORNIA**

de Mattos Carlos A., Cecilia C. de Mattos, N. James MacLachlan, Bennie I. Osburn.

Dpt. of Veterinary Pathology, Microbiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California, USA.

El objetivo de este estudio fue caracterizar las relaciones filogenéticas del segmento S3, uno de los más conservados, del virus de la lengua azul en una región geográfica restringida. Cepas de campo de los serotipos 10, 11, 13 y 17 aisladas en California entre 1980 y 1990, los virus prototipos correspondientes a los serotipos presentes en Estados Unidos de América y la vacuna atenuada contra el serotipo 10 fueron evaluados usando técnicas de secuenciado cíclico y análisis filogenético. Con excepción del virus prototipo del serotipo 2, los virus estudiados mostraron una homología genética entre el 95% y el 100%. El prototipo 2 segregó en una rama independiente en el árbol filogenético, mientras que el resto formó dos grupos monofiléticos principales. Este agrupamiento no estuvo relacionado al serotipo viral, al año de aislamiento, al lugar geográfico o a la especie animal de origen de la muestra.

El segmento S3 del prototipo 10 mostró el porcentaje más alto de homología genética con el prototipo del serotipo 13, sugiriendo la ocurrencia de intercambio de genes entre estos virus en la naturaleza. Nuestros resultados indicaron que las poblaciones circulantes en California del segmento S3 del virus de la lengua azul están formadas por diferentes secuencias consenso que no pueden ser agrupadas por serotipo, que circulan simultáneamente en la naturaleza y que evolucionan en forma independiente del gen L2.

**CB 2**

**RELACIONES FILOGENÉTICAS DEL GEN L2 DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL DE CEPAS DE CAMPO OBTENIDAS EN CALIFORNIA**

de Mattos Cecilia C., Carlos A. de Mattos, N. James MacLachlan, Bennie I. Osburn.

Dept. Veterinary Pathology, Microbiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California, USA.

El objetivo de este estudio fue analizar la evolución molecular del gen más variable (L2) del virus de la lengua azul en una región geográfica restringida durante un período de aproximadamente 30 años. Doce cepas de campo de los serotipos 10 y 17 y la vacuna contra el serotipo 10 fueron caracterizadas usando técnicas de secuenciado cíclico y programas filogenéticos. El prototipo y las cepas del serotipo 10 obtenidas en 1980 formaron un grupo monofilético claramente definido del constituido por las cepas de 1990. Estos grupos representaron diferentes secuencias consenso con una homología genética del 95.5% e indicaron que dos poblaciones virales diferentes

co-circularon en California entre 1953 y 1990. Las cepas del serotipo 17 representaron una secuencia consenso diferente de aquella correspondiente al prototipo que fuera aislada en Wyoming en 1962.

Estos datos sugieren la existencia de diferentes secuencias consenso en diferentes áreas geográficas. Los resultados de nuestros estudios filogenéticos sugieren que el gen L2 del virus de la lengua azul evolucionaría comportándose como una quasispecie.

**CB 3**

**VARIANTES GENÉTICAS Y ANTIGÉNICAS DEL VIRUS DE LA RABIA EN VENEZUELA.**

de Mattos Carlos A.<sup>1</sup>, Cecilia C. de Mattos<sup>1</sup>, Jean S. Smith<sup>2</sup>, Edith Miller<sup>3</sup>, Sara Papo<sup>4</sup>, Antonio Utrera<sup>5</sup> y Bennie I. Osburn<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>School of Veterinary Medicine, University of California Davis, California, USA. <sup>2</sup>Centers for Disease Control and Prevention, Georgia, USA. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Veterinarias, Aragua, Venezuela. <sup>5</sup>Universidad Nacional de Los Llanos "Ezequiel Zamora", Portuguesa, Venezuela.

El objetivo de este estudio fue caracterizar antigénica y genéticamente, mediante el uso de técnicas de anticuerpos monoclonales y secuenciado nucleotídico, 21 muestras del virus rábico obtenidas de casos humanos y de diferentes especies animales en Venezuela entre 1990 y 1994. Todas las muestras provenientes de perros domésticos y dos de casos humanos infectados por contacto con perros rabiosos, fueron caracterizadas como variante antigénica 1. Estas muestras formaron un solo grupo genético compuesto por dos subgrupos estrechamente relacionados, presentando una homología mayor del 95% permitiendo determinar la presencia de dos brotes diferentes de la enfermedad ubicados al Oeste del país. La única muestra proveniente de un murciélago vampiro y dos muestras de ganado vacuno reaccionaron como variante antigénica 3.

Estos aislamientos compartieron un 96% de homología en su secuencia y estuvieron estrechamente relacionados a muestras provenientes de murciélagos vampiros y con casos de rabia asociados a vampiros, de otros países Latino Americanos. De las 10 muestras restantes, 9 reaccionaron como variante antigénica 5 y estuvieron genéticamente asociadas a variantes de vampiro y 1, proveniente de un gato doméstico, estuvo genéticamente más relacionada a variantes de murciélagos no hematófagos de Estados Unidos de América. La caracterización genética de muestras obtenida sistemáticamente de diferentes regiones geográficas de América Latina contribuirá a un mejor entendimiento de la epidemiología molecular de la rabia en estos países.

**CB 4**

**MODIFICACIONES DE LOS LÍPIDOS SÉRICOS EN LAS RATAS TRATADAS CON COBRE POR VÍA ORAL.**

Carnevali de Tatá E., Alarcón-Corredor OM., Reinoso-Fuller JA., Urdaneta-Carruyo E., Colina A. y López P.

Escuela de Nutrición y de Farmacia. Universidad de los Andes e Instituto

Nacional de Investigación y Estudios sobre la Infancia. Mérida, Venezuela.

En la presente investigación se estudió el efecto de las dosis crecientes de Cu (50 a 200 ppm/kg de dieta) sobre el contenido sérico de lípidos totales, de colesterol total, de triglicéridos, de fosfolípidos y de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en ratas normales (Grupos experimentales) y se comparó con lo que sucede en ratas igualmente sanas, que ingieren una dieta balanceada que contiene 5 ppm de Cu. Las determinaciones de los lípidos séricos se realizó mediante métodos colorimétricos. Los resultados obtenidos demuestran que el Cu administrado por vía oral disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos e incrementa concomitantemente los niveles de fosfolípidos y de AGNE.

El o los mecanismos mediante los cuales el suministro de Cu determina estos cambios no se conocen; se considera que en ellos están involucrados diversas enzimas que intervienen en el metabolismo intermediario de los lípidos. Para el caso de los AGNE se supone que el incremento se debe a cambios en los procelipólisis y re-esterificación de los ácidos grasos presentes en la sangre. Estos mecanismos serán objeto de estudio en investigaciones posteriores a realizar tanto en humanos como en animales de experimentación.

#### CB 5

### EFFECTO QUIMIOTÁCTICO EN LOS SOBRENADANTES DE CULTIVO DE GLOMÉRULOS DE RATA NORMAL.

Eliexer Urdaneta-Carruyo<sup>1</sup> y Jesús Mosquera Sulvarán<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Nefrología, Diálisis y Transplante Renal, Hospital Universitario de los Andes, Mérida e <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Maracaibo-Venezuela.

En estudios previos se ha determinado que el mesangio glomerular es repoblado periódicamente por células LC<sup>+</sup> e Ia<sup>+</sup> procedentes de la médula ósea. El presente estudio fue realizado con el objeto de determinar si el glomérulo normal de rata era capaz de producir sustancias con capacidad de atraer células (quimiotaxis) provenientes de la médula ósea (macrófagos) y de esta manera acondicionar la penetración en el mesangio de estas células. Para los efectos, se estudiaron los sobrenadantes de cultivos de glomérulos provenientes de ratas normales; encontrándose efecto quimiotáctico sobre macrófagos obtenidos de la cavidad peritoneal de la rata.

A su vez, con objeto de identificar a las posibles sustancias que pudiesen causar el efecto quimiotáctico se analizaron en sobrenadantes, la presencia de Fibronectina e Interleucina 1 (ambas sustancias quimiotácticas para células del sistema monocito/macrófago). En todos los sobrenadantes se apreció la presencia de ambas sustancias. Se concluye de estos resultados que la repoblación del mesangio por parte de células del sistema monocito/macrófago puede ser debida a la presencia de sustancias quimiotácticas producidas por el glomérulo y que estas sustancias podrían ser la Fibronectina, la Interleucina, una o ambas.

#### CB 6

### METABOLISMO COOPERATIVO DEL LACTATO Y 3-HIDROXIBUTIRATO EN CEREBRO EN DESARROLLO.

Tovar-Franco, J.A. y Medina, J.M.  
Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.

El desarrollo de las estructuras cerebrales no puede interrumpirse, ni siquiera durante el corto período denominado prelactancia donde, el gasto de energía es tan alto que la glucogenólisis es incapaz de restablecer los niveles de glucosa en la sangre. El descubrimiento de que los cuerpos cetónicos juegan un papel importante durante la ontogenia cerebral nos motiva a estudiar su papel en las funciones integrativas del cerebro en desarrollo. Se estudia la regulación de la oxidación y lipogénesis a partir de L-lactato (Lac) y 3-hidroxitirato (3-Hb). Neuronas y astrocitos quiescentes se preparan a partir de cerebros de rata, de fetos y neonatos. Y mantenidos 7 y 13 días en cultivo primario respectivamente. Las células se incuban por una h. en un medio fisiológico saturado de oxígeno en presencia de los sustratos fríos y marcados (14C). Se utilizan inhibidores que favorecen el aumento del citrato; un inhibidor de la piruvato deshidrogenasa quinasa, el dicloroacetato (DCA); inhibidores del transporte del citrato tales como el butilmalonato (BM) y el 1,2,3-bencentricarboxilato (BT) y un inhibidor de la síntesis de aspartato como el aminooxiacetato (AOA). El dióxido de carbono radioactivo y los lípidos son medidos en un contador de centelleo.

Al comparar las velocidades de oxidación y lipogénesis (nmol/h x 10<sup>6</sup> células) de los dos sustratos se encuentra que las neuronas y los astrocitos prefieren al lactato. La incubación de astrocitos con DCA incrementa significativamente (p=0.05) la velocidad de oxidación y lipogénesis observándose un efecto mayor en los astrocitos. Estos resultados indican la presencia de una piruvato deshidrogenasa más activa en los astrocitos que en las neuronas. El BM aumenta significativamente la velocidad de oxidación del lactato en los astrocitos (95%), mientras que en las neuronas aumenta la lipogénesis (44%). El BT aumenta la lipogénesis a partir del lactato en las neuronas. Con el inhibidor AOA la velocidad de oxidación y lipogénesis aumenta en neuronas y astrocitos a partir del lactato. Sin embargo, solo se observa un efecto en la velocidad de oxidación al utilizar como sustrato 3-Hb en presencia de AOA. Estos resultados indican la presencia del transportador de citrato a nivel de membrana mitocondrial en los astrocitos y a nivel de membrana plasmática en las neuronas. Además, nuestros resultados sugieren la existencia de una ruta alternativa extramitocondrial para la lipogénesis a partir de L-lactato en los astrocitos en el cerebro en desarrollo. (este trabajo se realizó con ayuda del Programa de Cooperación con Iberoamérica y la Universidad de Salamanca).

#### CB 7

### PRODUCCIÓN DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL/CAQUEXINA (TNF) POR CÉLULAS

## MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA (CMSP) DE PACIENTES DREPANOCÍTICOS. (Production of TNF in cultures of peripheral blood mononuclear cells from sickle cell disease patients).

Vethencourt MA, Malavé I, Durand M.<sup>1</sup> y Perdomo Y. IVIC y <sup>1</sup>HUC. Km 11 Carretera Panamericana, Altos de Pipe IVIC. Centro de Medicina Experimental, Laboratorio de Inmunología Celular. Tel. 504 1161. FAX 504 1086

Se investigó la producción espontánea e inducida por mitógenos de TNF en cultivos de CMSP de 18 pacientes drepanocíticos con hemoglobinopatía SS, 6 con hemoglobinopatía SC y 6 heterocigotos SA y en un grupo de controles sanos (C). Las muestras se tomaron ausencia de crisis vasooclusiva, hemolítica o infección. Las CMSP se cultivaron solas o en presencia de mitógenos recogiendo los sobrenadantes después de 48 horas de incubación. La cantidad de TNF se determinó por ensayo de citotoxicidad sobre células WEHI 164, clón 13. Los pacientes drepanocíticos mostraron una cantidad de TNF en los sobrenadantes de cultivos sin mitógenos significativamente mayor que los C. La producción espontánea de TNF fue también mayor en los pacientes SS que SC y que en los heterocigotos SA. Esto se corresponde con la mayor gravedad del curso clínico de la hemoglobinopatía SS que SC. Se observó depresión de los valores de TNF en sobrenadantes de cultivos de drepanocíticos SS estimulados con dosis subóptima de PHA (1 mg/ml) comparados con los C y aumento de la concentración de la citoquina en sobrenadantes de cultivos de pacientes estimulados con dosis óptimas de PHA en combinación con PMA o de LPS con PMA e indometacina. El aumento de la síntesis espontánea de TNF en pacientes SS sin infección aparente, puede deberse a infecciones ocultas, traslocación bacteriana a través de la barrera mucosa intestinal, persistencia de productos bacterianos o disminución de actividad supresora. La depresión de la producción de TNF en respuesta a dosis subóptimas de PHA concuerda con la depresión de la respuesta linfoproliferativa a dosis subóptimas de mitógenos que observamos previamente en estos pacientes. El aumento de TNF en respuesta a estímulos óptimos podría estar determinado por expansión de la serie monocito-macrofágica. La mayor producción espontánea de TNF podría contribuir al déficit ponderal de los pacientes. Por sus acciones procoagulantes y por aumentar la adhesividad de células hemáticas a los endotelios esta citoquina actuaría como coadyuvante en el desencadenamiento de las crisis vasooclusivas.

### CB 8

## ERITROCITOS DE RATONES TRANSGÉNICOS MANIFIESTAN ALTOS NIVELES DE HEMOGLOBINA HUMANA S Y EXHIBEN FLUJO DE CATIONES DESOXIESTIMULADOS

Romero, José R., Mary E. Fabry, Sandra Suzuka, Ronald L. Nagel, y Mitzy Canessa

Endocrine-Hypertension Division, Brigham and Women's Hospital, Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, MA 02115. Division of Hematology, Albert Einstein College of Medicine,

Montefiore Medical Center, Bronx, NY.

El flujo de cationes desoxiestimulados se ha correlacionado con la formación de células falciformes densas e irreversibles en pacientes homocigóticos para la hemoglobina S. Aquí estudiamos el efecto a corto plazo del transporte desoxiestimulado de K<sup>+</sup> y Na<sup>+</sup> en glóbulos rojos de ratones control (C57BL/6J) y de una línea de ratones transgénicos (H $\beta$ S[ $\beta$ MDD]) que manifiestan altos niveles de cadenas de hemoglobina humana H y  $\beta$ S y que tienen un pequeño porcentaje de células densas pero no manifiestan anemia. Bajo condiciones oxigenadas en eritrocitos de transgénicos (n=5) el eflujo de K<sup>+</sup> fue de 0.22 $\pm$  0.01 mmol/L cell x min y el influjo de Na<sup>+</sup> fue de 0.17 $\pm$  0.02 mmol/L cell x min. Estos flujos fueron estimulados por 10 min de desoxigenación en los ratones transgénicos pero no en los control. El eflujo de K<sup>+</sup> desoxiestimulado en eritrocitos de transgénicos fue inhibido en un 55% por 5 nM caribdotoxina (CTX), un bloqueador del canal de K<sup>+</sup> activado por Ca<sup>2+</sup>. Estos resultados sugieren que en los ratones transgénico la desoxigenación de los eritrocitos aumenta el Ca<sup>2+</sup> citosólico a niveles necesarios para abrir los canales de K<sup>+</sup> activados por Ca<sup>2+</sup>. La presencia de estos canales se confirmó en los transgénicos y controles fijando el Ca<sup>2+</sup> intracelular a 10  $\mu$ M con el ionóforo A23187 y midiendo el eflujo de K<sup>+</sup> activado por Ca<sup>2+</sup>. Los dos tipos de ratones tenían similares porcentajes máximos de eflujos de K<sup>+</sup> activado por Ca<sup>2+</sup> y sensitivos al CTX. La capacidad de los eritrocitos para regular los niveles de Ca<sup>2+</sup> citosólico fueron observados midiendo la actividad máxima de la ATPasa de Ca<sup>2+</sup> activada por calmodulina. Dicha actividad es 3 veces mayor que la observada en eritrocitos humanos.

Esto sugiere que los eritrocitos de los ratones tienen una mayor capacidad para regular los niveles de Ca<sup>2+</sup> citosólico. Las propiedades señaladas pueden contribuir a un porcentaje menor de células densas y a la ausencia de anemia observada en los animales de este y otros modelos animales para anemia falciforme humana.

### CB 9

## ASPECTOS NOVEDOSOS DE LA REGULACIÓN DE PORINAS EN *Salmonella typhi*.

Oropeza Ricardo, Irma Martínez-Flores, Marcos Fernández, José Luis Puente, y Edmundo Calva

Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.

Las porinas de *Salmonella typhi* han sido de interés por su valor como antígenos en el diagnóstico y la vacunación de la fiebre tifoidea. Hemos descrito dos genes nuevos, OmpS1 y OmpS2, que codifican para proteínas de la membrana externa con todas las características de la familia OmpC/OmpF de porinas. En contraste con estas porinas principales, OmpS1 y OmpS2 son sintetizadas a niveles relativamente bajos, en condiciones estándar de laboratorio.

La expresión de OmpS1 aumentó hasta 400 veces, cuando porciones definidas de la región 5' reguladora fueron removidas. Posibles regiones para la unión de reguladores, con efectos

negativos, se localizaron entre los nucleótidos 310 y 88, corriente arriba del inicio de la transcripción; la transcripción fue dependiente del regulador OmpR y no fue influenciada por la osmolaridad del medio. Esto, junto con una distribución característica de los sitios posibles para la unión de OmpR, sugiere un modo novedoso de regulación positiva/negativa. De manera similar, la expresión de OmpS2 aumentó 4 veces, cuando una región 268 a 149 nucleótidos corriente arriba del primer codón fue removida.

En contraste con lo observado en *E. coli*, la expresión de OmpC en *S. typhi* no fue influenciada por la osmolaridad del medio. Experimentos cruzados de complementación, entre *S. typhi* y *E. coli*, mostraron que este comportamiento fue determinado por el operón OmpB (OmpR/EnvZ). EnvZ de *S. typhi* contiene una cisterna característica en la posición 354. El gen OmpF de *S. typhi* fue reprimido en alta osmolaridad, comportándose como su contraparte en *E. coli*, con la cual comparte una identidad del 73% en la región 5' reguladora, con la conservación de los elementos reguladores. En contraste, los genes estructurales tienen una identidad del 65%, lo que sugiere que han tenido una diferente presión evolutiva.

Este aumento en el repertorio de las porinas, y las particularidades de su regulación, ha abierto nuevas preguntas en cuanto a su función en diferentes microambientes.

#### CB 10

### RcsA/RcsB INTERACTION IN COLANIC ACID CAPSULE REGULATION

López-Torres, A., Stout, V.

Arizona State University, Current Address: UPR, Bayamón Campus.

The capsular polysaccharide colanic acid is normally synthesized by *E. coli* in low amounts. The genes necessary for this capsule synthesis (the *cps* genes) have been shown to be under the control of two positive regulators, the RcsA and RcsB proteins. RcsA has been identified as an unstable protein that is degraded by the ATP-dependent protease Lon, whereas RcsB has been shown to have homology to phosphorylated DNA binding protein effectors. Genetic data have shown that RcsA may be acting directly or indirectly through RcsB to activate transcription of the *cps* genes. In activation by a sensor kinase suggesting that RcsA interacts with RcsB forming heterodimers.

The interaction of RcsA and methionine at the designated temperature, antisera to RcsB and RcsA were used to co-immunoprecipitate RcsB/RcsA heterodimers. The effects of mutations in the regulatory proteins and temperature on the heterodimer formation were studied. Densitometer analysis showed slightly more heterodimer formation at 30°C than 37°C.

#### CB 11

### MECANISMOS DE PROTECCIÓN CONTRA LA MALARIA *P.falciparum* BASADOS EN DEFECTOS

### GENÉTICOS DEL GLÓBULO ROJO.

Nagel, Ronald L. y Hannah Shear

División de Hematología, Departamento de Medicina, Albert Einstein College of Medicine/ Montefiore Medical Center, Bronx, NY 10461.

En los últimos años hemos complementado nuestros estudios *in vitro*, con la utilización de ratones transgénicos, para dilucidar los mecanismos de protección que la presencia de la b-talasemia y hemoglobinas S, C, y F, ofrece a sus portadores. Hemos concluido, usando cultivos *in vitro* y ratones con talasemia y transgénicos para la hemoglobina S y F, los siguientes mecanismos. a) La HbS ofrece protección porque los glóbulos rojos parasitados producen formas drepanocíticas en portadores de la HbS (AS) que son rápidamente reconocidos por el bazo y destruidos (infección suicida).

Además, formas más avanzadas como los trofozoitos, no pueden crecer adecuadamente porque las enzimas proteolíticas del parásito no digieren la hemoglobina S polimerizada. En ratones transgénicos se prueba que la protección depende principalmente de la presencia del bazo; b) La hemoglobina C no permite la salida de los merozoitos del glóbulo rojo en el momento de la lisis final; c) La hemoglobina F inhibe el crecimiento de los parásitos en cultivos *in vitro* y protege cuando especies de ratones transgénicos son infectados con malarías de roedores (*P. chabaudi* y *P. yoelli*). Esta protección no es dependiente de la presencia del bazo y probablemente tiene que ver con las propiedades intrínsecas de la hemoglobina F, que es

#### CB 12

### CROSS REACTIVITY BETWEEN *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP) AND *Blomia tropicalis*

Mora, C., Arroyo M., Montealegre, F., and Díaz, A.M.

School of Medicine, Medical Science Campus, University of Puerto Rico and Ponce School of Medicine

The objective of this research was to define species-specific and cross reactive antigens from the house mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP) and the storage mite *Blomia tropicalis* (BT). To this end, polyclonal antibodies to whole mite body extracts from DP and BT were produced in rabbits.

The homologous and heterologous reactivity from the obtained antisera were tested by ELISA and the specific and cross-reacting antibodies were detected by Western blots.

The results show that these mites contain multiple antigens, some of them are shared by DP and BT and other ones are specific to each mite.

The results of this study have considerable implications for the diagnosis, management and epidemiology of mite mediated allergies, as well as for mite and allergen production for use in immunoassays.

**CB 13**

**BIODIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. CUANTIFICACIÓN DE PARASITEMIA POR PCR-ELISA.**

Carrasco J., González A.,  
Instituto de Biomedicina y Parasitología, Granada-España. Sección de Inmunología. Departamento de Microbiología. UNAH-Honduras.

La elaboración de un método de cuantificación de parasitemia en la enfermedad de Chagas (aguda y crónica) es importante para la evaluación de tratamiento. Con esta idea en mente se desarrolló y evaluó un ensayo de PCR-ELISA cuantitativo. El sistema consiste en dos fases, A) un PCR de competencia, que se basa en mezclar el competidor (diferentes concentraciones de 206 pb) con el DNA de *T. cruzi* (concentración constante) que contienen ambas secuencias complementaria a los cebadores de amplificación y b) una inhibición colorimétrica, en la detección por ELISA de los productos amplificados de la secuencia de 195 pb. La inhibición colorimétrica ocurre por el exceso de producto de DNA competidor que sobrepasa a la secuencia satélite de *T. cruzi*, debido a esto la sonda biotinilada no hibrida con la secuencia del competidor ya que es complementaria a la secuencia interna del DNA satélite y consecuentemente no son capturados en la fase sólida.

Para estandarizar el PCR-ELISA cuantitativo se mezcló DNA de *T. cruzi* con DNA del competidor obteniéndose una correlación de inhibición colorimétrica de 0.998. Los resultados de las parasitemias obtenidas en los cuatro grupos de pacientes fueron a) de cuatro pacientes hemocultivo-xenodiagnóstico positivos las parasitemias fueron de 475-1000 parásitos por ml, de tres pacientes hemocultivos positivos las parasitemias fueron de 1-1000 parásitos por ml, de los pacientes xenodiagnóstico positivos las parasitemias fueron de 1-400 parásitos por ml y once pacientes hemocultivo-xenodiagnóstico negativos las parasitemias oscilaron entre 2-890 parásitos por ml. Estos resultados indican que el PCR-ELISA cuantitativo es barato, simple de realizar, altamente sensible y reproducible.

**CB 14**

**KINETIC CHARACTERIZATION OF THE MAIN ANTIGEN FROM *Fasciola hepatica* ADULT WORM.**

Jara José<sup>1</sup>; Martha Córdova<sup>1</sup> and María A. Juliano<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Biochemistry section, Universidad Peruana Cayetano Heredia, A.P. 4314 Lima 100, Peru and <sup>2</sup>Dep. Biophysics, Escola Paulista de Medicina, 04034, Sao Paulo, Brazil.

The main antigen from the excretory-secretory (E/S) products of *Fasciola hepatica* adult worm was purified to homogeneity by ethanol fractionation followed by a CM-50 Sephadex cationic exchange chromatography. This antigen was classified as a cysteine proteinase using specific inhibitors such as L-Trans-Epoxy-succinyl-leucylamido(4-guanidino) butane (E-64), and reducing agents such as dithiothreitol. The purified antigen had an apparent molecular weight of 25 kDa on reduc-

ing SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

The cysteine proteinase was active in a broad Ph range, with maximum activity at pH 5 and pH 9. The kinetic parameters (Km, Kcat, Kcat/Km) were tested at both pHs. The Km, Kcat and Kcat/Km constants were determined using fluorogenic substrates such as Z-Phe-Arg-MCA, eNH<sub>2</sub>Cap-Leu(sBzl)Cys-MCA, eNH<sub>2</sub>Cap-Leu-Arg-MCA, and fluorogenic peptide substrates having kininogen sequences such as Abz-MISLMKRPQ-EDDnp, Abz-GFSPFRSSRQ-EDDnp. At pH 5, this antigen had a high Kcat/Km constant value when eNH<sub>2</sub>Cap-Leu(sBzl)Cys-MCA substrate was used (11513 mM<sup>-1</sup> S<sup>-1</sup>), while the value of this constant was 3267 mM<sup>-1</sup> S<sup>-1</sup> when Z-Phe-Arg-MCA substrate was used. The same result was obtained when the activity was assayed at pH 9. These results could be suggesting that the P1 position of this enzyme requires bulky residue. Using fluorogenic substrates containing kininogen sequences, the cysteine proteinase hydrolyzed the bond peptide between -Arg-Ser- residues by a way similar to human kallikreins.

**CB 15**

**STRUCTURAL AND SPECTRAL PROPERTIES OF GLYCATED AND NATIVE ALBUMINS.**

Joshi N.V.  
Centro de Óptica, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida Venezuela. Tel. +58 74 401254 FAX +58 74 401286. e-mail: joshi@ciens.ula.ve

Albumin is an important protein and its glycated form increases in diabetes mellitus and is responsible for the age related phenomena. We have, therefore, investigated the optical absorption and fluorescence spectra along with a kinetic study by means of a proteolytic reaction.

For this purpose, albumin was glycated by a conventional method and the optical absorption spectra were recorded for both the glycated and the native forms, from 240 nm to 400 nm and found that they were dominated by a strong peak at 280 nm (4.43 eV) which was followed by a long tail up to 300 nm for the native and 400 nm for the glycated.

Non tryptophane Fluorescence spectra of both glycated and native albumins in solid form were investigated and it was found that the general features of both spectra are similar. The spectra are dominated by a weak peak located at 450 nm (2.75 eV) and an intense broad peak at 550 nm (2.25 eV). This peak is followed by a shoulder at 625 nm (1.98 eV) and then a long tail up to 800 nm.

The major effect of glycation is their physical forms. Native albumin has a crystalline form while the glycated one has a conglomerate form. This effect can be easily visualized when the sample is examined with the help of a fluorescence microscope. This result is in accordance with the data obtained from electron microscopy. Thus, this quick and direct approach could identify the presence of glycated protein and could provide information on the pathology of diabetes at an early stage.

**CB 16**

**FLUORESCENCE INVESTIGATION OF GLYCATED AND NATIVE GAMMA GLOBULIN.**

Joshi N.V.

Centro de Óptica, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida Venezuela. Tel. +58 74 401254 FAX +58 74 401286. e-mail: joshi@ciens.ula.ve

Fluorescence spectra of native and glycosylated gamma globulin were recorded in the solid form of the protein by using a computer controlled spectrometer with a CCD detector. The detector was operated at 77°K. Non tryptophan fluorescence spectra were found to lie in the region 500 nm ( 2.48 eV) to 800 nm ( 1.55 eV). As expected, the glycosylated globulin has much higher intensity as compared with the native form even though the global features below 650 nm remain similar.

The most interesting aspect of the present investigation is that the spectrum of the glycosylated globulin shows clearly two peaks located at 722 nm( 1.71 eV) and 763 nm( 1.62 eV.) respectively. Such structures are absent in the spectrum of native gamma globulin. This fact indicates that the presence of these peaks could be considered as a key feature for detecting the glycosylation process in gamma globulin.

Extensive investigation confirms that glycosylated proteins are closely associated with aging and the diabetic pathology and hence, its detection by means of an optical technique (probably more precise and sensitive) is of prime importance. This potential capability based on structural details, if well exploited could be converted into a powerful tool for the early detection of diabetes.

**CB 17**

**EL COEFICIENTE KAPPA Y EL COEFICIENTE CPR PARA DETERMINAR LA VALIDEZ DE CONTENIDO Y LA CONCORDANCIA ENTRE JUECES EN UN INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS (Kappa and CPR coefficients in determining content validity and concordance among judges in a data collection instrument)**

Hernández Nieto, R. A.

Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela) Escuela de Educación y Laboratorio LABMICE - Facultad de Medicina.

El problema de la evaluación de la Validez de Contenido de un determinado instrumento de medición con escala Likert o tipo test objetivo de respuestas múltiples, por lo general se ha efectuado a través del análisis lógico-crítico de cada uno de los ítems del instrumento, por parte del propio autor o de algunos expertos (Thorndike and Hagen, 1970; Nunnally, 1978; Garmines and Zeller, 1979; Hernández Sampieri, Fernández Collado y Baptista Lucio, 1994).

Cuando se utiliza la técnica del Juicio de Expertos para determinar la Validez de Contenido de un instrumento, los datos obtenidos generan una matriz de rangos I x J (I = ítems, J = Jueces), en la cual se utiliza una escala Likert de k rangos para

evaluar a validez de cada uno de los ítems y del instrumento en total: Algunos investigadores han utilizado ciertos procedimientos estadísticos, para determinar la validez de contenido y/o la concordancia entre jueces, cada uno de los cuales presentan ciertas limitaciones. Entre ellos, el Coeficiente Kappa, utilizado para medir la concordancia entre diferentes Jueces acerca de un determinado número de objetos, ítems o categorías. Se considera un estimador de la confiabilidad entre Jueces (interrater reliability) (Fleiss, 1981; Dawson-Saunders and Trapp, 1990).

Aún cuando existe una versión extendida del coeficiente para n objetos o ítems, m Jueces y k rangos, el cálculo correspondiente es relativamente complejo, requiriendo en algunos casos el uso de un computador. Por otra parte, Kappa solo mide la concordancia entre Jueces acerca de un determinado número de ítems, y no nos dice mucho acerca de la Validez de Contenido de un instrumento. Utilizando el método de Juicio de Expertos, se propone un nuevo algoritmo para obtener un coeficiente que permite calcular la validez de contenido de cada ítem, la validez de contenido de todo el instrumento y el nivel de concordancia entre los Jueces: el Coeficiente de Proporción de Rangos (CPR). Mediante un conjunto de ejemplos, se logra determinar que el CPR mide validez y concordancia, mientras que el Coeficiente Kappa solo mide concordancia.

**CB 18**

**CHAPERONAS MOLECULARES DE *Chromatium vinosum***

León, B.L. y Torres-Ruiz, J.

Escuela de Medicina de Ponce-Departamento de Bioquímica

Estudios en este laboratorio se han centralizado en entender la funcionalidad de Chaperonas Moleculares en la naturaleza. En particular hemos estudiado las relaciones estructurales y funcionales de tres tipos de esta familia de proteínas purificadas del organismo fotosintético *Chromatium vinosum*. Estas proteínas son: Chaperonina 10 (Cpn10), Chaperonina 60 (Cpn60) y la proteína de golpe de calor 70 (Hsp70). Por ejemplo, hemos encontrado que Cpn10 de *C. vinosum* comparte una serie de propiedades previamente documentadas para proteínas homólogas de otros organismos bacterianos como *E. coli*. Es decir, la composición y secuencia de aminoácidos, así como las estructuras oligoméricas de estas proteínas son similares. La Cpn10 de *C. vinosum* ha sido identificada en gran medida, a su habilidad para formar complejos binarios con Cpn60. En relación a esto, hemos demostrado la formación de estos complejos binarios utilizando tres procedimientos diferentes. En primer lugar, Cpn10 cosedimenta con Cpn60 en gradientes de sucrosa después de ultracentrifugación, cromatografía de afinidad, Affi-Gel 10, bajo condiciones experimentales similares.

En tercer lugar, Cpn 10 suprime casi en su totalidad la actividad de ATPasa en Cpn60. Estos estudios han sido extendidos para examinar el efecto de Cpn 10 purificadas de otros organismos como *R. sphaeroides* y *A. nidulans*. Interesantemente, Cpn 10 de estos organismos solamente pueden suprimir aproximadamente el 50% de la actividad ATPasa en Cpn60 de *C. vinosum*, en contraste al 100% de inhibición

inducida por la Cpn 10 de *E. coli*. Recientemente, hemos identificado otra Chaperona Molecular en *C. vinosum* la cual aparenta ser un miembro de la Familia Hsp70. Autofosforilación se ha observado tanto para Cpn60 como para Hsp70. Además hemos iniciado estudios para entender cambios en expresión y localización intracelular en las Chaperoninas de *C. vinosum* bajo condiciones de temperatura elevada.

### CB 19

#### ESTUDIOS DE DIFERENCIACIÓN EN LA LÍNEA CELULAR UCHCC1 DERIVADA DE CORTEZA CEREBELOSA DE RATA ADULTA.

Cárdenas, A.M.<sup>1</sup>, Reyes P.<sup>1</sup>, Rocca, X.<sup>2</sup> Caviedes, R. y Caviedes P.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de farmacología, Facultad de medicina, Universidad de Valparaíso. <sup>2</sup>Departamento de fisiología y Biofísica, Facultad de medicina, Universidad de Chile. Centro de Estudios Científicos de Santiago, Chile.

Se estudió el efecto de 2% de dimetilsulfóxido (DMS), suplemento hormonal y matriz extracelular (matrigel) en la diferenciación de la línea celular UCHCC1, proveniente de la corteza cerebelosa de rata adulta. Las células UCHCC1, tanto en presencia como en ausencia de inductores de la diferenciación celular, tienen inmunorreacción positiva para la proteína neuronal P-210 y negativa para el marcador glial S-100, lo cual sugiere un origen neuronal. Al ser diferenciadas con DMSO por 10 días o suplemento hormonal por 14 días, las células expresan parvalbúmina y no expresan calbindin D-28k, sugiriendo un patrón similar a las células en cesto. También se estudió el efecto de distintos sustratos proteicos, tales como matrigel y colágeno aumentan el tiempo de duplicación en 10 y 7.5 veces respectivamente, y aumenta el número de células con prolongaciones en 49% y 10% respectivamente. Al agregar GABA  $10^{-5}$ M a células cultivadas sobre matrigel la emisión de prolongaciones disminuyen en un 50%. Mas aún estudios de potencial de membrana en estas células muestran que GABA  $10^{-5}$ M induce una hiperpolarización de 10 a 12 mV. Estudios de señales de  $(Ca^{2+})$ : en células diferenciadas con DMSO, se aumentó de 2,5 mM a 5,0 mM. Por otra parte, se observó una disminución de la  $(Ca^{2+})$ ; en presencia de KCl 70mM y glutamato 1mM la cual parcialmente inhibida al reemplazar  $Na^+$  por colina en el Krebs. Se concluye que la línea celular UCHCC1 presenta características neuronales inducibles por diferenciación, pudiendo constituir un modelo de función celular del cerebelo.

Financiamiento: Proyectos DIUV 2995 y Fondecyt 1950485.

### CB 20

#### INFLUENCIA DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS SOBRE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS ERITROCITARIAS EN CONDICIONES *IN VITRO* E *IN VIVO*

Luquita, A.; Rasia, M.  
Cátedra de Física Biológica. Facultad de Ciencias Médicas.  
Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Durante el desarrollo de este trabajo se estudió la influencia de las proteínas plasmáticas absorbidas sobre la reología eritrocitaria. La elasticidad y la viscosidad superficial de la membrana determinadas por la difracción láser (eritrodefómetro) disminuyeron a medida que las proteínas plasmáticas se modifican por dilución, afectando la capacidad de deformarse de los glóbulos rojos humanos.

El hecho de que sus valores aparezcan como una función exponencial de las proteínas del medio sería una evidencia de que la desorción proteica de la superficie eritrocitaria sigue la ley matemática que caracteriza a los procesos de lavado. Para demostrar la existencia de este efecto *in vivo* y ya que en los humanos las características sanguíneas son muy heterogéneas se proyectó realizarlo en ratas por lo que previamente se repitió la experiencia *in vitro* con ellas.

La similitud de los resultados humanos y en murinos nos permitió generalizar las conclusiones y los resultados *in vivo* condujeron a considerar que la modificación de las proteínas en esas condiciones afecta de la misma forma las propiedades reológicas eritrocitarias. La extrapolación de estos resultados a situaciones clínicas, constituyen un aval de los beneficios de hemodilución normovolémica en pacientes con compromiso circulatorio que no solo prevendrían de la disminución de la viscosidad sanguínea sino también del ambiente del aumento de la deformabilidad del glóbulo rojo que incide en forma crucial mejorando la perfusión en la microcirculación.

### CB 21

#### ROL DEL METABOLISMO DEL ACIDO ARAQUIDÓNICO EN LA QUIMIOTAXIS DE LAS CÉLULAS DE MELANOMA (A-2058).

Ivette García Castro y Luis E. Vázquez.  
Departamento de Biología. Universidad de Puerto Rico, Recinto de Río Piedras.

Se estudió la quimiotaxis de células del melanoma humano (A-20589 en respuestas a los componentes de la matriz extracelular, colágeno tipo IV y laminina, en presencia del metabolismo del ácido araquidónico (AA); el ácido norhidroguaiarético (NDGA) y la indometacina (INDOMET). También se estudió la respuesta quimiotáctica al leucotrieno, LTB, uno de los productos del metabolismo del AA, en ausencia y presencia de NDGA utilizando la lámina como quimioatrayente.

Los resultados revelaron que la INDOMET no inhibió la quimiotaxis de las células A-2058 en respuesta ni a colágeno tipo IV ni a laminina. El NDGA, a una concentración de  $10^{-4}$  M inhibió por más de 50% la quimiotaxis hacia el colágeno y la laminina.

El LTB, estimuló la quimiotaxis a concentraciones desde  $10^{-10}$  M hasta  $10^{-7}$  M, con estimulación óptima a  $10^{-8}$  M, aunque a ninguna concentración fue tan efectivo como la laminina a 200nM, El LTB, al ser co-incubado con el inhibidor NDGA ( $10^{-4}$  M) o luego de haberlas pre-incubado con NDGA, logró restablecer la quimiotaxis en las células. Las pruebas de toxicidad revelaron que ni INDOMET ni NDGA fueron tóxicas a las células a las concentraciones utilizadas.

Los resultados sugieren que el metabolismo del ácido araquidónico juega un rol importante en la quimiotaxis de las células A-2058.

### CB 22

#### INTERACTION DURING FOLDING OF *Salmonella typhimurium* phage P22 TAILSPIKE PROTEIN (TSP).

Villafane Robert

Universidad Central del Caribe, School of Medicine, call Box 60-327, Bayamon, Puerto Rico 00960-6032.

The P22 TSP has been used as model for how protein can fold and how their folding can be dissected genetically. Mutants have been found that perturb TSP folding path at elevated temperatures. Genetic suppression of these mutants can be used to determine interactions occurring during protein folding. The data, obtained through genetic suppression, describe some of these interactions. One mutant-suppressor pair may describe the first ionic interaction important during the folding of the TSP. Data present from preliminary physiological studies with suppressor of a special ultra temperature sensitive folding mutant, indicate that these mutants may help dissect folding further since several different suppressor classes are obtained. Additionally a TSP from a different phage may shed light on the P22 TSP folding and some initial studies are described.

### CB 23

#### PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA LA TIORREDOXINA PRODUCIDA POR *Bacillus subtilis*

R. Lara y A. Díaz

Sistema Universitario Ana G. Méndez (UMET), Recinto Ciencias Médicas, UPR.

Uno de los procedimientos utilizados para resolver los problemas ambientales es la biorremediación. Nuestro estudio demostró, que la bacteria *Bacillus subtilis* aislada de ambientes sumamente contaminados con metales pesados, tiene la capacidad para crecer en altas concentraciones de selenio (50-200mM). *Bacillus subtilis* reduce el selenio hasta una forma insoluble identifica como selenio elemental (H. Nietsche, et al.) depositándolo dentro o sobre la matriz de su pared celular produciendo colonias rojas.

Sin embargo, los mecanismos bioquímicos y genéticos utilizados para la destoxificación no se conocen. *Bacillus subtilis*, que carece de glutatona, posee un sistema NADP/Tiorredoxina que consiste de la tiorredoxina y NADP-tiorredoxina reductasa (NTR). Uno de los mecanismos propuestos, al inicio de la destoxificación, es la reducción del selenito a dihidruro de selenio mediante catálisis del sistema de tiorredoxina. El gene responsable para la producción de tiorredoxina se aisló y secuenció. Con el propósito de detectar la expresión del gene de tiorredoxina, en la presente investigación, se produjeron Monoclonales mediante la técnica de hibridoma. Los híbridos se clonaron mediante dilución limitante y los

anticuerpos producidos se han purificado mediante precipitación con sulfato de amonio.

### CB 25

#### CAMBIO EN EL CASCARON DEL HUEVO DE *Schistosoma mansoni* DURANTE EMBRIOGÉNESIS

Fernández-Santiago Antonio y Sharon File de Emperador

Laboratorio de Parasitología Experimental, Departamento de Biología, Recinto de Río Piedras, Universidad de Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico

Los huevos de *Schistosoma mansoni* contiene un cigoto que se desarrolla hasta formar un miracidio durante los primeros 5 días luego de la ovoposición. Este desarrollo ocurre en el tejido del hospedero y está acompañado por un aumento significativo en el tamaño. El presente estudio evalúa cambios en el grosor del cascarón durante el período de rápido crecimiento. Secciones finas de huevos en plástico fijados en gluteraldehído/osmio, fueron estudiados en el microscopio electrónico. La pared electrodensa del cascarón aumentó significativamente ( $P > 0.001$ ) en grosor de  $393 \pm 65 \mu\text{m}$  a  $769 \pm 107 \mu\text{m}$  mientras que el embrión se desarrolló de la etapa de 0-2 a 5+ días. El origen de este aumento en el grosor del cascarón aún no ha sido establecido pero aparenta estar relacionado a un proceso continuo de depósito de material desde el interior del huevo (Capa de Reynold's). Existe también un contacto íntimo con extensiones de syncytium de von Lichtenberg. Este estudio fue auspiciado por Fondos Institucionales para la Investigación de U.P.R.

### CB 26

#### REGULACION DE LA INFECCIÓN DE *Schistosoma* POR INTERACCION DEL PARÁSITO CON EL GANGLIO CEREBRAL DEL CARACOL: MOLÉCULAS CANDIDATAS

File de Emperador Sharon, Anping Chen, Antonio Fernández-Santiago y Kermie Mendoza Avilés

Laboratorio de Parasitología Experimental, Departamento de Biología, Recinto de Río Piedras, Universidad de Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico

Varios péptidos de vertebrados y transmisores clásicos han sido localizados generalmente en platyhelminths y molluscos incluyendo *Schistosoma mansoni* y *Biomphalaria glabrata*. Ha sido demostrado que algunos de estos compuestos regulan la ovoposición en el caracol y pueden estar sujetos a regulación por productos del parásito. Una serie de proteínas han sido aisladas de extracto de *B. glabrata* por cromatografía de inmunoadfinidad utilizando IgG anti-schistosoma.

Una fracción ha sido localizada en el gusano adulto, en el material vitelino de huevos y en vesículas en ciertas células grandes del ganglio cerebral de *B. glabrata* por inmunocitoquímica y en Western blots. Este epitope es un candidato excelente para la neuroinmunomodulación de la relación caracol-tremátodo y tiene potencial inmunodiagnóstico. Este estudio fue auspiciado en parte por Fondos Institucionales para la investigación de U.P.R.

**CIENCIAS CLÍNICAS**



**CC 1**

**UNA NUEVA CLASIFICACIÓN PARA LA EVALUACIÓN DE PACIENTES CON MIOCARDITIS CRÓNICA CHAGÁSICA.**

Fuenmayor Carmen E., Hugo Carrasco G, Ana de Arriaga y Cesar Molina.

Dpto. Anatomía Patológica, HULA, Universidad de los Andes. Facultad de Medicina. Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Abel Fuenmayor" Hospital de El Vigía Edo. Mérida

Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo de 33 biopsias tomadas de pacientes con diagnóstico clínico de miocarditis chagásica crónica, controlados en la consulta de Miocardiopatía del Servicio de Cardiología de Hospital Universitario de los Andes durante los años 1986 - 1993 y distribuidos en las categorías clínicas IA, IB, II y III según el grado de daño miocárdico utilizadas en nuestro departamento de cardiología; con el fin de conocer la prevalencia de miocarditis en nuestro material biopsico.

Estas biopsias fueron tomadas mediante biopunto de Caves - Schultz por vía venosa yugular interna derecha. Sobre este material se aplicaron los criterios de Edwards, Dallas e Higuchi. Se realizaron gráficos comparativos y se obtuvo resultados no representativos, poco discriminativos y sin relación clínico-histopatológica. Llamó la atención la diversidad y cuantía del infiltrado inflamatorio y su relación con la presencia de focos de necrosis sarcoplásmica y la presencia de fibrosis.

Con estos datos como base se diseñó una nueva clasificación para los pacientes chagásicos crónicos y se encontró "respuesta aguda" a expensas de polimorfonucleares y numerosos focos de necrosis severa con un 60% de fibrosis leve (tipo I) en el 30% de los pacientes chagásicos del grupo clínico IA. Por otro lado el mayor número de pacientes estudiados (pertenecientes al grupo II) presentaron moderados focos de necrosis sarcoplásmica e infiltrado inflamatorio mixto (linfocitos y polimorfonucleares). Los resultados obtenidos mediante esta clasificación servirán de apoyo para nuevos esquemas terapéuticos y factores pronósticos que serán evaluados en una próxima investigación.

**CC 2**

**PREVALENCIA DE MIOCARDITIS EN MIOCARDIOPATIAS CRÓNICAS. ESTUDIO CON BIOPSIA MIOCÁRDICA**

Fuenmayor Carmen E., Hugo Carrasco y Ana de Arriaga  
Universidad de los Andes. Facultad de Medicina Hospital Universitario de los Andes. Mérida, Venezuela.

Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo de 75 biopsias endomiocárdicas tomadas de pacientes con cuadros crónicos controlados en la consulta de Miocardiopatía del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario de los Andes durante los años 1986-1993. Estas muestras fueron separadas en tres grupos de acuerdo a los criterios diagnósticos clínicos: I) Miocarditis Infeciosa, II) Miocardiopatías no Infecciosas y III) Grupo

Misceláneo. Sobre este material se aplicaron los criterios de Edwards, Dallas e Higuchi. Se realizó un análisis crítico para obtener una alta prevalencia de Miocarditis en los tres grupos de pacientes evaluados.

En el número I encontramos que con cualquiera de los tres criterios aplicados el 97% de los casos corresponden a Miocarditis en sus diferentes fases y que de estos el 49% presentó más de 10 células inflamatorias por campo de alto poder. En los grupos II y III encontramos un 81% y 66% respectivamente de los casos de Miocarditis en sus diferentes fases aún en el caso clínico catalogado como No Cardiópata. Estos resultados sugieren que los criterios utilizados conducen a un sobrediagnóstico de Miocarditis en Miocardiopatías crónicas; en consecuencia deben ser redefinidas tomando en cuenta también el tipo de infiltrado inflamatorio.

**CC 3**

**STUDY OF BETA RECEPTORS AND BETA BLOCKERS DURING ACUTE CHAGAS DISEASE**

Fernández, A.R., Enders, J.E., Rivarola, E., Campana, V., Paglini, P., Palma, J.A.

Cat. de Física Biomédica, Inst. de Fisiología Fac. Cs. Médicas (U.N.Cba). Santa Rosa 1085,5000 Córdoba, Argentina. Established Investigator CONICET.

Chagas disease presents complex pathogenic mechanism that in our country generally produce several cardiac lesions. Albino Swiss mice inoculated with 45 tripomastigotes of *T. cruzi*. Tulahuen strain/animal (group 1) developed an acute infection.

In reaching highest parasitemias levels by day 35 post inoculation (p.i.) This group evolutionated to indeterminate and chronic phase. Mice inoculated with  $7 \times 10^4$  tripomastigotes/animal (group 1) presented a severe acute infection at 7 days p.i. and a mortality of 100% between 12 and 14 days p.i. The present studies were carried out in order to correlate histopathogenic and functional cardiac damage with affinity and density of cardiac beta receptors in both acute experimental groups. Besides a beta blocker therapy with propranolol 9 mg/kg/day (Pro-9) and 40 mg/Kg/day (pro-40); a control group of non infected mice was also studied.

Cardiac beta receptors were labeled with 3H/DHA. Specific bindings were defined as the difference in radioactivity bound in absence and presence of propranolol  $10^{-6}$  M. Dissociation constant (Kd) and maximum 3 H/DHA binding (Bmax) were determined by Scatchard analysis. Cardiac beta receptors density expressed as 1 mol/mb protein were; Bmax group 1:  $76.5 \pm 4.2$  group II non treated:  $49.9 \pm 9.8$ , Pro-9:  $44.03 \pm 1.74$ , Pro-40:  $35.04 \pm 1.68$ ; and control group  $69.15 \pm 3.72$ . There were no difference between groups I and control, but all group II presented receptors density significantly diminished. Analysis of Kd(nM) showed that the affinity was similar between group 1 ( $6.4 \pm 0.5$ ) group II non treated ( $4.4 \pm 0.9$ ) and Pro-9 ( $4.16 \pm 0.44$ ) but significantly higher in Pro-40 ( $0.98 \pm 0.17$ ) (p0.01). Kd was diminished when group 1 and control ( $3.08 \pm 0.4$ ) were compared (p). The present results show that the acute phase of chagas disease involves

cardiac beta receptors disorders in significantly different degree related with T...

**CC 4**

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE LA MORTALIDAD POR CÁNCER DE UNA COMUNIDAD RURAL DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ.**

Ferguson Ella A., Denis Chan, Jorge Vergara, Luis Lezcano, Daniel Sánchez.

Universidad de Panamá. Ministerio de Salud. Asociación Nacional contra el Cáncer.

Monagrillo, pequeña población rural, es conocida internacionalmente por la alta incidencia del cáncer del cérvix. Las estadísticas vitales de Panamá indican que en este corregimiento no solo se evidencia la presencia de este cáncer sino también de pulmón y estómago. Igualmente importante es la mortalidad por enfermedades cardiovasculares. El objetivo inicial de nuestro trabajo fue determinar los factores de riesgo oncogénicos relacionados con el ambiente y estilo de vida que podrían justificar el comportamiento de la morbi-mortalidad expresada en este sector de la población panameña.

Se diseñó un estudio descriptivo de la morbi-mortalidad en la comunidad de Monagrillo, cuyo instrumento de trabajo fue una encuesta orientada a todos los hogares que conforman este segmento poblacional. Se encuestó un 86% de los hogares que conforman dicha comunidad. La información fue lograda de 1661 jefes de familias, cubriendo una población de 4595 personas desde menores de 1 año hasta 99 años y más.

El comportamiento observado de la mortalidad en Monagrillo, expresa que un 36% de las muertes totales son atribuibles al cáncer, un 29.6% a afecciones cardiovasculares, un 5.2% a la diabetes y 28.6% a otras causas. El 41.48% de la población es atendida por el Centro de Salud, responsabilidad del Ministerio de Salud, mientras que el resto es atendida por otras instituciones de salud. Solo el 27.6% acude a un examen médico anual y un 48.6% no brindó información.

Los datos sugieren que la promoción y prevención en salud no ha logrado proyectarse de manera efectiva en Monagrillo, por lo que se hace necesario fortalecer la planificación y programación de la educación comunitaria de salud en el sector.

**CC 5**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE CA15-3 Y CEA EN LA EVALUACIÓN PRE Y POST-OPERATORIA DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA.**

Romero, V.F.; Montiel-O; N.L.; Vilorio-P, A.

Laboratorio de Métodos Inmunológicos. Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Una variedad de marcadores tumorales son utilizados con tres fines principalmente: despistaje, diagnóstico y seguimiento;

el valor de éstos, depende de dos parámetros bien establecidos: sensibilidad y especificidad. En este estudio se evaluó la importancia de los niveles séricos de CA15-3 y CAE en el seguimiento de pacientes con cáncer de mama. Durante un programa de seguimiento, 35 pacientes con cáncer de mama y 40 controles, fueron estudiados mediante un inmunoensayo por micropartículas para de CA15-3 y CEA. No hubo diferencias significativas entre los niveles de CA15-3 de pacientes tratados con quimioterapia y los no tratados (Fs=1.105, P=0.05).

Al evaluar los niveles de éste antígeno en pacientes tratados con terapia combinada, las diferencias fueron significativas (Fs=2,611; P=0.05), sin embargo, éste marcador presentó diferencias significativas entre pacientes sin tratamiento y los tratados con quimioterapia (Fs=5.51 P=0.01), ésta diferencia se encontró aumentada cuando se comparó con el grupo de pacientes tratados con terapia combinada (Fs=5.963; P=0.001) con una variación intergrupala elevada (81.54%). Los resultados demuestran que el CEA es más sensible para el monitoreo de pacientes con cáncer de mama tratados.

**CC 6**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE CA15-3 Y CEA EN LA EVALUACIÓN PRE Y POST-OPERATORIA DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA.**

Romero, V.F.; Montiel-O; N.L.; Vilorio-P, A.

Laboratorio de Métodos Inmunológicos. Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Una variedad de marcadores tumorales son utilizados con tres fines principalmente: despistaje, diagnóstico y seguimiento; el valor de éstos, depende de dos parámetros bien establecidos: sensibilidad y especificidad. En este estudio se evaluó la importancia de los niveles séricos de CA15-3 y CAE en el seguimiento de pacientes con cáncer de mama. Durante un programa de seguimiento, 35 pacientes con cáncer de mama y 40 controles, fueron estudiados mediante un inmunoensayo por micropartículas para de CA15-3 y CEA. No hubo diferencias significativas entre los niveles de CA15-3 de pacientes tratados con quimioterapia y los no tratados (Fs=1.105, P=0.05).

Al evaluar los niveles de éste antígeno en pacientes tratados con terapia combinada, las diferencias fueron significativas (Fs=2,611; P=0.05), sin embargo, éste marcador presentó diferencias significativas entre pacientes sin tratamiento y los tratados con quimioterapia (Fs=5.51 P=0.01), ésta diferencia se encontró aumentada cuando se comparó con el grupo de pacientes tratados con terapia combinada (Fs=5.963; P=0.001) con una variación intergrupala elevada (81.54%). Los resultados demuestran que el CEA es más sensible para el monitoreo de pacientes con cáncer de mama tratados.

**CC 7**

**DETERMINACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A LOS AMINOGLUCÓSIDOS EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS AISLADAS EN UN**

## AMBIENTE HOSPITALARIO VENEZOLANO

Pedroza, R.<sup>1</sup>; Alonso, G.<sup>2</sup> y Rodríguez Lemoine, V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, <sup>2</sup>Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47557 Caracas 1041A, Venezuela.

En bacilos gram negativos (BGN) la resistencia esta determinada por enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA). Estas enzimas han sido clasificadas de acuerdo a la naturaleza de la reacción y al sitio de modificación de la molécula en: aminoglucósido acetil (AAC), nucleotidil (ANT) y fosfotransferasas (APH). Estas enzimas son codificadas por genes ubicados en plásmidos y/o transposones, lo cual ha contribuido a la rápida diseminación de estos genes entre especies relacionadas.

En trabajos anteriores demostramos la presencia de plásmidos que confieren resistencia a los aminoglucósidos amikacina, tobramicina y gentamicina, presentes en BGN aislados de pacientes internados en el Hospital Universitario de Caracas. En 100 cepas BGN aminoglucósido resistentes analizadas la mayor incidencia se encontró asociada a los géneros *Acinetobacter* (26%), *Enterobacter* (21%), *Klebsiella* (20%) y *Pseudomonas* (18%).

En el presente trabajo se determinó la presencia de las EMA en cepas portadoras de plásmidos transmisibles por el método de hibridación Dot Blot (transferencia de punto). Para ello se aisló el DNA plasmídico tanto en las cepas originales como de las transconjugantes, y se hibridó con sondas (marcadas no radioactivamente) que contienen parte de los genes estructurales, que codifican a las EMA: ANT(4')-IIa, AAC(3)-V y AAC(6')Ib. En los resultados obtenidos se corrobora la prevalencia de las AAC, codificadas por plásmidos transmisibles. En algunos casos se evidencia la presencia de más de un gen responsable de la resistencia. El conocimiento de la distribución de los genes de resistencia a los aminoglucósidos en poblaciones bacterianas hospitalarias es importante para el tratamiento de las infecciones.

CC 8

## IDENTIFICACIÓN Y MULTIRESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN PACIENTES CON LESIONES RESULTANTES DE OSTEOMIELITIS

Perea Cantero R. A. Rodríguez Salazar R. B. Díaz García R. Castrejón Mendoza E.

Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco Depto. Sistemas Biológicos Calz. del Hueso 1100 Edif.-G Lab. 05 Col. Villa Quietud C.P.:04960 Tel 7 24 51 62 Fax. 724 52 37

Objeto de la Investigación: Análisis de la resistencia betalactámica a los antibióticos que presentan las cepas de *Staphylococcus aureus* recuperadas de pacientes con tratamientos mixtos de antibióticos y por periodos prolongados. En el Hospital De Ortopedia Magdalena de las Salinas del IMSS que presentaban padecimientos de Osteomielitis, y que presuntamente presentaban resistencia a diversos agentes antimicrobianos. Método experimental utilizado : Se recolectaron 27 cepas de pacientes que presentaban osteomielitis para verificar la presencia efectiva de *Staphylococcus aureus*.

CC 9

## RELACIÓN ENTRE LA INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori* Y DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE C.A. GÁSTRICO.

Castrejón Mendoza E., Perea Cantero R. A., Rodríguez Salazar R. B., Díaz García R.

Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco Depto. Sistemas Biológicos. Calz. del Hueso 1100 Edif. G-Lab. 05 Col. Villa Quietud C.P.:04960 Tel 7 24 51 62 Fax. 724 52 37

Objetivo de la Investigación: Identificación de *H.pylori* utilizando anticuerpos IgG específicos por cultivo en biopsia del estómago. La rápida detección del *H.pylori* depende de los métodos de inmunoensayo y por supuesto de los histológicos. Las pruebas histoquímicas como es el caso de cortes fijados en Giemsa, no distinguen *H.pylori* de otras bacterias morfológicamente similares encontradas en el estómago. Esto hace necesario recurrir a métodos inmunohistoquímicos.

Método experimental utilizado: Los pacientes fueron examinados endoscópicamente y examinados con pruebas bacteriológicas. Se tomaron 78 biopsias del antrum y del cuerpo de estómago, de pacientes con C.A. gástrico. Después de la pre-digestión proteolítica, fijación en formalina, e inclusión en parafina, se practicó la Prueba de Elisa IgG. El anticuerpo descubre manchando en forma exclusiva cuando la bacteria *H.pylori* está presente, en la superficie del epitelio o en el citoplasma de las células epiteliales.

Resultados obtenidos: La Prueba de Elisa IgG específica en muestras clínicas provenientes de pacientes con diagnostico clínico de C.A. gástrico detectó 38 muestras con antígeno de *Helicobacter pylori* utilizando anticuerpos IgG específicos a *H.pylori*, 12 cultivos positivos, 4 cultivos negativos a las pruebas bacteriológicas. La Prueba de Elisa IgG específica en muestras clínicas representa una sensitiva y no invasiva metodología, así como una alternativa de determinación de la infección que no ha sido erradicada por la terapia triple (Tetraciclina, metronidazol y subsalicilato de bismuto) y puede engañar el potencial de resultados negativos, que pudiesen encontrarse en las biopsias previstas, de las estructuras tomadas en los tejidos del estómago.

CC 10

## INFECCIONES ABDOMINALES EN NIÑOS CON DIÁLISIS PERITONEAL CRÓNICA.

Urdaneta-Carruyo Eliexer, Ricardo Muñoz-Arizpe, Gustavo Gordillo-Paniagua y Pedro Valencia-Mayoral

Unidad de Nefrología Hospital Universitario de los Andes, Mérida-Venezuela y Departamentos de Nefrología y Anatomía Patológica Hospital Infantil de México, "Dr. Federico Gómez" México.D.F.

Las infecciones abdominales son complicaciones frecuentes en niños con diálisis peritoneal crónica (DPC). Su importancia radica en la frecuencia e intensidad con las cuales se presentan exponiéndose la mayoría de las veces la vida del paciente y dificultándose por tanto su rehabilitación.

En el presente trabajo se informan cinco pacientes con diversas infecciones abdominales, tres de ellas por gérmenes poco

usuales. En dos casos, se presentó además apendicitis y periapendicitis secundarias a la formación de granuloma a cuerpo extraño (partículas de talco) y se mencionan también algunos factores que probablemente influyeron en la aparición de la infección como: 1) desnutrición grave, 2) diálisis prolongada, que ocasiona pérdida de nutrientes esenciales y 3) formación de granulomas intrabdominales.

### CC 11

#### RELATION AMONG SKIN TEST REACTIVITY, SERUM IgE LEVELS AND IgG AND IgE REACTIVITY TO DP AND BT IN ATOPIC PATIENTS.

Díaz, A.M., F. López Malpica, R. Delgado, G. Rosario and F. Montealegre.  
School of Medicine, Medical Sciences Campus, UPR and Ponce School of Medicine.

The objective of this research project was to evaluate the relationship among atopic skin reactivity, serum IgE levels and IgG and IgE reactivity to *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP) and *Blomia tropicalis* (BT) extracts. Total IgE was measured using commercial kits. The IgG and IgE antibody binding profiles of sera from atopic patient with extracts of DP and BT were determined using chemiluminiscent immunoblotting.

Forty eight patients were assessed by skin test and some of these samples were evaluated for level of total IgE and reactivity to DP and BT by immunoblotting.

This study demonstrates a high prevalence (81.25%) of skin test reactivity to BT in subjects who were evaluated for allergic respiratory disease. Although a high rate of simultaneous sensitivity to DP and BT occurs, BT appears to induce specific sensitivity.

The results show an association between clinical sensitivity and immune responses, but more studies with a larger population are in progress to dilucidate this relationship and cross-reactivity between allergen from these mites.

### CC 12

#### RESPUESTA INMUNOLÓGICA HUMORAL EN UVEITIS: IDENTIFICACIÓN INMUNOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS DEL EXTRACTO CRUDO DE RETINA BOVINA.

Salmen S., Muñoz J., Rangel A., Salmen N., Urdaneta H., Espinoza A. y Hernández M.  
Instituto de Inmunología Clínica. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Como consecuencia de los trabajos en uveitis experimental, el antígeno soluble de la retina (Ag-S) y la proteína de unión al interfotoreceptor del retinol (IRBP) son consideradas proteínas uveopatogénicas muy potentes. Algunos autores han sugerido la posible existencia de otros péptidos uveopatogénicos presentes en el extracto de retina bovina, aún no caracterizados.

Estudiando el suero de pacientes con uveitis mediante "Immunoblotting", logramos demostrar la presencia de

anticuerpos contra varias proteínas del extracto crudo de retina bovina, diferentes a las ya conocidos anti-Ag-S e IRBP. Estos hallazgos apuntan hacia la necesidad de buscar y caracterizar otras proteínas inductoras de la respuesta inmunológica en uveitis y determinar su papel en el desarrollo de la respuesta inflamatoria en éste tipo de patologías.

### CC 13

#### ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODIES IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS: IS THEIR PRESENCE OVERESTIMATED DUE TO PERIODONTAL DISEASE?.

Novo Ernesto, Soraya Nava, Ernesto García-MacGregor.  
Laboratorio de Inmunología, Área de Biología Oral, Instituto de Investigaciones, Facultad de Odontología, Universidad de Zulia Maracaibo, Venezuela. Unidad de Reumatología, Hospital Central, Maracaibo, Venezuela.

The aim of this study is to point out that the frequent presence of periodontitis in Systemic Lupus Erythematosus (SLE), modifies the connate numbers of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in this systemic disorder, due to the elevated figures of ANCA present in periodontitis. Sixty sera were utilized in this study including 20 SLE patients which were thoroughly examined to determine their periodontal condition, 20 sera from patients having periodontitis and no systemic involvement, and 20 sera from healthy donors as controls.

And indirect enzyme immunoassay was used directed to a neutrophil granular extract and the granule constituents Myeloperoxidase, Elastase, Proteinase 3, Lactoferrin, Lysozyme and Cathepsin G. Thirteen out twenty SLE sera (65%) reacted positively to the granule extract and some granule constituents. Twelve out twenty SLE patients (60%) had periodontitis from this group of SLE patients with periodontitis, 10/12 (83.3%) were ANCA positive. Five out eight (62.5%) SLE, periodontitis free patients were also negative for ANCA. From the group of periodontitis with no systemic involvement patients 9/20 (45%) were ANCA positive. Proteinase 3 and Lactoferrin were the granule proteins with higher ANCA reactivity.

These results show a high frequency of periodontitis in SLE. Moreover the high occurrence of ANCA in periodontitis with no systemic involvement patients added to the high number of SLE patients with periodontitis being ANCA positive, plus the low occurrence of ANCA in SLE patients with no periodontal disease, suggest that the presence of periodontitis could be responsible in part for the elevated ANCA values described in SLE. Therefore, and evaluation of the periodontal status is mandatory when the prevalence of ANCA is going to be evaluated in patients with SLE or any other systemic condition.

### CC 14

#### CHANGES IN FIBRINOGEN PLASMATIC CONCENTRATION IN INFLAMMATORY PROCESSES WITH DAINEs AND LASSER THERAPY TREATMENT

Campana, V., Gavotto, A., Moya, M., Juri, H., Palma, J.A.,

Cátedra de Física Biomédica. Facultad de Ciencias Médicas .  
Universidad Nacional de Córdoba. República Argentina.

Tissular injuries significantly increase plasmatic fibrinogen (PF), an acute stage protein that helps with platelets aggregation which are stimulated by collagen adhesion or by thrombin release. Thus they produce arachidonic acid (AA), precursor of the inflammatory mediators. For this, PF levels mark the degree of the inflammatory process in the same way Prostaglandins do DAINEs inhibit AA derivatives biosynthesis by inhibition cyclooxygenase (Cox), some mainly inhibit Cox 1 (constitutive protein) and others Cox 2 (inducible protein), He-Ne Laser has antiinflammatory effect because of its photobiological action over cellular metabolism. The purpose of this work is to determine the variations of PF produced by using DAINEs associated with LASER therapy in inflammatory processes. The study was carried out in laparotomized females rats separated in groups that received a different postsurgical treatment. A significant decrease (p,05) in PF even to concentrations lower than normal, was observed in laparotomized rats which received a combined postsurgical treatment of Sodic Diclophenac (parenteral administration) and low power Laser irradiation.

The decrease in PF may be attributed to the preferential inhibitory relation of Diclophenac over Cox2/Cox1.

The effect of He-Ne Laser probably enhances inhibition due to the photochemical and photoelectrical action of radiation. Present results show that there is a probable synergy between both th....

#### CC 15

### DESARROLLO DE INDICADORES DE PRONÓSTICOS DEL PROGRESO TEMPRANO DE INFECCIONES POR EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH): SINOPSIS DE ESTUDIOS LONGITUDINALES

del Llano, Ana M., Sonia Saavedra, Carmen Zorrilla Julia A. Lavergne Recinto de Humacao y Recinto de Ciencias Médicas, Universidad de Puerto Rico, Hospital de Veteranos de Puerto Rico

Dada la importancia clínica del síndrome de inmunodeficiencia adquirida y la necesidad de detectar en forma temprana sus manifestaciones, hemos realizado múltiples estudios sobre la pérdida de funciones inmunológicas básicas y sobre diversos aspectos bioquímicos en células de pacientes VIH+. Para ello, hemos utilizado linfocitos de sangre periférica, puestos en cultivo o analizados inmediatamente. Para los linfocitos cultivados por tres días, hemos estudiado la producción de la citoquina TNFbeta, la producción de óxido nítrico (NO), y su capacidad proliferativa en respuesta a mitógenos (PHA, PWM) o su inducción al proceso de muerte celular mediante apoptosis. Para los linfocitos analizados inmediatamente luego de aislados, hemos evaluado su producción de las deshidrogenasas de lactato, glucosa-6-fosfato y de isocitrato, y su potencial de membrana mitocondrial. Los resultados obtenidos indican que todos los parámetros estudiados están

alterados en los linfocitos de pacientes VIH+, al compararse con controles normales.

En la gran mayoría de los pacientes VIH+, independientemente de su estado general de salud o de sus niveles de linfocitos CD4+ circulantes, encontramos los siguientes resultados: disminución en la producción de la citoquina TNFb, aumento en la producción de óxido nítrico, pérdida de la capacidad de reaccionar ante el mitógeno PWM, y un aumento notable en la muerte celular por apoptosis, el cual puede ser regulado con inhibidores de NO *in vitro*. Además, encontramos un aumento en las deshidrogenasas de lactato, glucosa-6-fosfato y de isocitrato, y ya sea pérdida o exceso del potencial de membrana mitocondrial. Por lo tanto, nuestros resultados estimulan la utilización de éstos y otros indicadores relacionados, en estudios de alteraciones tempranas en infecciones con el VIH, y como parámetros con potencial pronóstico en las mismas. Auspiciado por NIH-RCMI 03051.

#### CC 16

### DIABETES INSÍPIDA CENTRAL Y NEFROGÉNICA. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y MANIFESTACIÓN CLÍNICA EN NUEVE PACIENTES ESTUDIADOS EN EL H.U.L.A. DURANTE EL DECENIO 1986-1996. (MÉRIDA, VENEZUELA).

Colina A., Urdaneta Carruyo E., Calderón J., Alarcón O.M. y Guilarte L.M.

Unidades de Investigación Pediátrica y de Nefrología del Hospital Universitario de los Andes. Instituto Nacional de Investigaciones y Estudios sobre la Infancia. (Mérida, Venezuela.)

La Diabetes Insípida (DI) es un trastorno debido a la insuficiencia de la neurohipófisis para la secreción de cantidades adecuadas de vasopresina o bien la incapacidad del riñón para responder a la vasopresina circulante. Con la finalidad de conocer la frecuencia, características epidemiológicas y manifestaciones clínicas de ésta entidad, se evaluaron las historias clínicas de nueve pacientes con DI que ingresaron al H.U.L.A. durante el decenio 1986-1996. Ocho fueron del sexo masculino (89%) y uno femenino (11%); el rango de edad fue entre 2 y 26 años. Las manifestaciones clínicas fueron: poliuria en el 100% de los casos, polidipsia (89%), pérdida de la conciencia (11%), anorexia (11%) y retardo pondoestatural (11%); a todos se les realizó el test de restricción hídrica y en uno se observó como respuesta incremento en la osmolaridad urinaria (Poliuria psicógena).

El test de la vasopresina se efectuó en ocho pacientes, los cuales en siete la osmolaridad urinaria se incrementó en más del 10% (Diabetes Insípida Central) cuya etiología fue: tumor cerebral (66%), histiocitosis X (14%), traumatismo encefalocraneano (14%) e idiopática (14%). En el paciente restante no se obtuvo respuesta considerándose la etiología de la DI Nefrogénica.

Podemos afirmar que en nuestro medio la DI Neurogénica fue la más frecuente y la misma se caracterizó por ser expresión clínica temprana del tumor cerebral.

**CC 17**

**EL ENFOQUE Y ABORDAJE A LOS PROBLEMAS NUTRICIONALES CARENCIALES.**

Moravia Pirela C.

Hospital Angel Larralde, Caracas Venezuela

El enfoque analítico causal, de la desnutrición, muestra la asociación entre las infecciones-incidencia y gravedad con la desnutrición primaria y secundaria, dada su compleja interrelación y los patrones de morbilidad en poblaciones. A nivel biológico los procesos de inflamación y las reacciones de fase aguda secundarios a la infección o lesión tisular, se traduce en cambios funcionales metabólicos, endócrinos y morfológicos, que pueden reflejarse en indicadores nutricionales.

En Venezuela diversas instituciones participan en el estudio o solución de la diversa problemática nutricional con más enfoques radiales. En lo social, el riesgo del hambre, ligado a la pobreza, ha merecido planes de acción y la diversión en programas para incrementar la transferencia de ingresos o alimentos. Por otra parte, perfiles del patrón de morbimortalidad reflejan el peso de las infecciones, y en consecuencia la importancia de profundizar en el análisis y abordaje de la nutrición, donde estrategias integradas, multisectoriales complementadas por acciones en el ámbito económico, social, de la salud pública, educativo son fundamentales para su control.

**CC 18**

**EVALUACIÓN DE RIESGO AL PLOMO EN TRABAJADORES QUE SE DEDICAN A LA REPARACION DE RADIADORES ASI COMO EN SUS FAMILIARES.**

Rizo P.<sup>1,4</sup>, Baron S.<sup>2</sup>, McConnell R.<sup>2</sup>, González R.A.<sup>3</sup>, Valentin J.<sup>5</sup>, Mercado F.<sup>5</sup>, Piacitelli G.<sup>6</sup>, Ruiz M.C.<sup>1</sup>, Tapia C.R.<sup>1</sup> y Rivero S.O.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dirección General de Epidemiología. <sup>2</sup>Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Pediatría. <sup>4</sup>Consejo Nacional de Salubridad. <sup>5</sup>Instituto Nacional de Salud Pública. <sup>6</sup>National Institute for Occupational Safety & Health

Introducción: reparar radiadores de automóviles es una actividad que se realiza en talleres ubicados en casas de trabajadores. La falta de medidas de control y monitoreo por exposición al plomo es un elevado riesgo de intoxicación para trabajadores y familiares, principalmente niños, representando problema de salud pública. México no cuenta con información sobre la contribución de esta fuente de exposición.

Metodología: se realizó estudios transversal en 7 talleres reparadores de radiadores en el D.F., para evaluar factores de riesgo por exposición al plomo que presentan los trabajadores y familiares. Se tomaron muestras ambientales de polvo en casas y talleres, muestras biológicas en trabajadores, familiares y no expuestos, muestras de polvo en manos de trabajadores. Se estudiaron 59 personas, correspondiendo: 25% trabajadores, 25% familiares y 50% no expuestos. En trabajadores promedio de edad de 38.27 años, rango 16-66., DS 13.43. Se realizó monitoreo biológico al 60% promedio 37.31 µg/dl, rango 22.5-68.6., DS

13.43 Se realizó monitoreo de polvo en manos al 73%, en pre-lavado media de 3265 µg/ft, rango 236-22529 DS 6447.13., pos-lavado media 303.09 µg/ft rango 42-718 DS 263.83. Familiares promedio de edad 19 años, rango 3-55 DS 16.12, se practicó monitoreo biológico al 86.6% media 16.52 µg/dl rango 5.7-32.7 DS 9.15. Grupos de no expuestos monitoreo biológico 93.10% media 12.79 rango 3.6-23.5 DS 7.29 Se observó que el 100% de familiares menores de 11 años tuvieron niveles mayores a 10 µg/dl, Variable morder o chupar lápices de colores y ser expuesto tuvo  $r^2=0.56$  y  $p=0.003$ , aumentando a 0.63 cuando se agregó variable monitoreo biológico.

Conclusión: niveles altos de plomo en sangre explican: trabajadores por exposición laboral y falta de medidas de prevención y control adecuadas, familiares por contacto directo con trabajadores y en niños por el hábito de chupar o morder lápices de colores. Finalmente en no expuestos los niveles de plomo se asocian al uso de cerámica vidriada.

**CC 19**

**PRINCIPIOS BIOÉTICOS E INVESTIGACIÓN EN CLÍNICA HUMANA**

Cely Galindo, Gilberto

Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, Colombia

Tratándose de investigación en los aspectos clínicos de la salud humana y de las necesarias relaciones paciente terapeuta-comunidad-ecosistema, es imprescindible tener en cuenta seis principios Bioéticos, que fundamentan desde la antropología filosófica, la segunda parte de nuestra propuesta sobre un código Ético de la investigación científica. Estos seis principios son: de totalidad y de integridad, de beneficencia, de no maleficencia, de la autonomía, de tolerancia, y de justicia.

No es posible elaborar un código Ético sin tener categorías conceptuales que fundamenten, justifiquen y aclaren el horizonte de normatividad puntual que se pretende para el ejercicio de la investigación básica y aplicada en clínica humana. En el presente ensayo involucramos el aspecto ambiental y su tratamiento Ético como referente obligado de nuestro quehacer científico.

El tema de la salud, del cual lo clínico es apenas una parte, desborda en mucho los linderos del presente ensayo. Propongo entender la salud como "higieia", como actitud vital subjetiva: una especial manera personal de - estar bien -, lo cual incluye también la enfermedad y la muerte.

Para una Facultad de Ciencias positivo-analítico-experimentales, que dan fundamento a las ciencias de la salud, el tema bioético que nos proponemos desarrollar es de gran pertinencia.

**CC 20**

**ACCESS TO MIGRANT AND SEASONAL FARM WORKERS IN CENTRAL CALIFORNIA TO OBTAIN INFORMATION ABOUT THEIR HEALTH**

Alvarado, Andrew J.

California State University, Fresno .School of Health and Human Services

Occupational related injuries and illness among agricultural

workers have not been adequately studied. Yet, this group is known to have one of the highest rates of work related injuries and illness among all occupational groups. Located in the nation's most productive agricultural region, researchers in the Center for Agricultural Business at California State University, Fresno have studied this problem among the estimated 500,000 central California farm workers who plant, cultivate and harvest the region's more than 200 farm commodities. The production of many of these crops are labor intensive fruits and vegetables that provide employment to the largest concentration of farm workers in the nation. The health of farm workers has not adequately been studied as have other occupational groups due to difficulties researchers have in gaining direct access to this labor force. Indeed, there are characteristics of farm workers that make them difficult to contact, including their migratory behaviors, their language, and their legal status as residents of the United States.

Migratory workers include not only those who relocate within this country from one state to another or between regions within the same states, but there are thousands of workers who migrate seasonally from rural Mexico, and increasingly, from other Central American countries as well. Problems in obtaining information about the health of farm workers is well noted in the literature. Without direct contact, accurate and reliable assessments of those occupational risks that endanger the health status of farm workers cannot be made. During the past ten years, the author has directed a series of studies where data have been collected using face-to-face interviews with some 3,000 farm workers employed in the central California region and throughout the state. Successful survey research strategies for locating survey participants and enlisting their cooperation have been developed and utilized resulting in a large data base on farm worker's health. The use of intermediaries is often necessary to make direct contact with the farm workers.

#### CC 21

### **DESARROLLO DE UNA ESCALA DE MEDICIÓN DE INDICES CARDIOVASCULARES Y RESPIRATORIOS COMO PRUEBA DE SELECCIÓN A ESTUDIANTES QUE ASPIREN INGRESAR AL DPTO. EDUCACIÓN FÍSICA DE LA U.L.A., POR SU CONDICIÓN DE ATLETAS DE ALTA COMPETENCIA (The development of a scale to measure cardiovascular and respiratory parameters, as an admission aptitude test for students under the category of high performance athletes, to enter the Department of Physical Education at Los Andes University).**

Carrasco, H. y Hernández Nieto, R. A.  
Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela). Departamento de Educación Física y Departamento de Medición y Evaluación - Laboratorio LABMICE (Facultad de Medicina) Fax: (74) 401789 - 447665. E-mail: mieto@faces.ula.ve

Con el propósito de diagnosticar las condiciones de carácter cardiovascular y cardiopulmonar de los aspirantes a ingresar a la Universidad de Los Andes en la condición de Atletas de Alta Competencia (Cohortes 1994, 1995; N = 222), se realizaron un

conjunto de mediciones sobre los siguientes parámetros: Capacidad Vital (CV), Potencia Espiratoria (PE), Tiempo de Apnea (TA), Presión Sistólica (PS), Presión Diastólica (PD) y Frecuencia Cardíaca en Reposo (FCR). Mediante la fórmula algebraica correspondiente, se determinó el Índice Cardiopulmonar (ICP), mediante el cual los sujetos fueron clasificados en una determinada Categoría Deportiva (Atleta, Normal y Deficiente). Tomando en cuenta las variables intervinientes Sexo, Categoría Deportiva y Cohorte, se realizó un análisis estadístico descriptivo y un análisis estadístico inferencial (Anova y Regresión Múltiple). Resultados: a) Diferencias estadísticamente significativas en las medias de algunos parámetros, en función de los grupos definidos por las variables intervinientes Sexo, Categoría Deportiva y Cohorte. b) El Análisis de Regresión Múltiple permite establecer: b.1 Funciones lineales predictivas de la variable dependiente Índice Cardiopulmonar, a partir de los parámetros PE, TA, PS FCR, PD, CV y EDAD, según la variable interviniente Sexo. b.2 Funciones lineales predictivas con resultados equivalentes a las anteriores, pero reducidas a solo cuatro parámetros, con un alto nivel de ponderación: PE, TA, PS y FCR y según la variable interviniente Sexo. En lugar de seguir utilizando la fórmula algebraica conocida tradicionalmente, se propone utilizar las funciones lineales abreviadas con cuatro parámetros, en virtud de que los resultados son equivalentes y el proceso de medición es mucho más sencillo.

#### CC 22

### **INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS Y SU CO-RRELACIÓN CON INDICADORES BIOQUÍMICOS EN NIÑOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS.**

Moravia Pirela, C.<sup>2</sup> Ines Malavé<sup>1</sup> Ma. Alejandra Vethencourt<sup>1</sup>, Arsenales, M<sup>1</sup>, R.Cordero<sup>1</sup>, L.Baute<sup>1</sup>, M. Acuña<sup>2</sup>, P. Sousa<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) Altos de Pipe, Caracas, <sup>2</sup>Hospital Angel Larralde

Los indicadores antropométricos permiten identificar el riesgo nutricional en niños - " indicadores de estado nutricional" o predictores de riesgos -" morbilidad" "mortalidad", por sus condiciones y adaptabilidad ( Punto de corte). El análisis de los indicadores y la fisiopatología de la desnutrición -infección, en la desnutrición primaria o durante la reacción de " fase aguda" desencadenada por la infección o injuria tisular en niños muestra el comportamiento de los marcadores bioquímicos y su relación con antropometría. Se determinaron los niveles séricos de prealbumina, TBP, IL- 6 en niños desnutridos con o sin infección clínica asociada y en sus controles infectados o no infectados comparables por edad, sexo, raza y condición socio-económica. Los resultados de los niveles séricos de pre-albúmina y TBP en los grupos sin infección clínica asociada, eran significativamente menores en los niños desnutridos, que en los controles, correlacionándose con los indicadores antropométricos.

En los niños infectados desnutridos o "eutróficos", eran bajos, sin capacidad de diferenciación entre los niveles de los indicadores antropométricos. Los marcadores bioquímicos reflejan precozmente el estado nutricional calórico-proteico y el efecto de la acción de las citoquinas inflamatorias producidas

por las infecciones; los indicadores antropométricos se correlacionan con estos marcadores pero en presencia de infección clínica, se requiere un análisis más fino entre estos indicadores.

**CC 23**

**VASCULARIZACIÓN ARTERIAL Y VENOSA DEL TIMO EN FETOS HUMANOS A TÉRMINO.**

Abdala Patricio.  
Instituto de Anatomía Humana. Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. Valdivia Chile.

Aunque las arterias tímicas han sido ampliamente estudiadas en hombres y también en otros mamíferos, ya sea aislamiento o en conjunto con la glándula tiroidea; aún no se ha descrito la vascularización venosa. El objetivo de este trabajo es revisar la vascularización arterial y estudiar la vascularización venosa del timo en fetos humanos.

Se diseccionaron las regiones cervical y mediastinal anteriores, según el procedimiento habitual en 50 fetos humanos a término (28 hombres y 22 mujeres) conservados en una solución de formol al 10%, usando para las observaciones una lupa binocular de 10 aumentos.

Las principales arterias son: las arterias tímicas inferiores (78%), arterias tímicas superiores (36%), la arteria tímica mediana (24%), la arteria tiroidea ima (22%) y la arteria timotiroidea mediana (4%). Las arterias tímicas accesorias son ramas provenientes de las arterias pericardiacas (20%), los troncos tirocervicales (10%) y las arterias pericardiofrénicas (6%). El número máximo de arterias tímicas encontradas fue de 4 (6%), y el mínimo, una (6%). Las principales venas tímicas son: las venas tímicas superiores (82%), las venas tímicas laterales (70%), la vena tímica mediana (64%) y las venas tímicas posteriores (58%). Las tímicas accesorias se originaban de los ápices cervicales y drenaban hacia las venas tiroideas medias (4%), las venas tiroideas superiores (2%), las venas yugulares internas (2%), y venas torácicas internas (2%). Las venas de la cápsula tímica desembocan en las venas: torácicas interna izquierda (14%), diafragmática superior izquierda (12%) y pericardiacas (8%). El número máximo de venas tímicas encontradas fue de nueve (4%) y el mínimo, una (2%).

Las arterias tímicas se encontraron en una frecuencia similar a la descrita por otros autores; no se encontró la arteria tímica suprema, ni la arteria tímica suprema accesorias como tampoco, arterias tímicas provenientes de las arterias subclavias, intercostales anteriores, diafragmáticas superiores, escapular transversa o pericardiacas. La principal vena que recoge la sangre del timo es la vena braquicefálica izquierda, las venas tímicas son pequeñas y numerosas, muy abundantes en las caras posterior e inferior del timo. Las venas tímicas principales son concomitantes a las arterias.

**CC 24**

**PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS: ORGANIZAÇÃO DAS NORMAS BRASILEIRAS.**

Anjos, MF; Bermudez, J; Carlini, E; Costa, SIF; Ferrreira, AAS; Freitas, CDB; Hosane, WS; Infantosi, AF; Marques, MB; Monteleone, R;

Nogueira, S; Oliveira, AV; Oliveira, F; Fessini, L; Souza, ACM; Visconde, O.

Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde (CNS/MS) - BRASIL

O Brasil conta com normas de pesquisa em saúde, aprovadas pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS) em 1988 (Resolução 01/88). Estas normas vêm sendo usadas para credenciamento de Centros de Pesquisa, mas em julho de 1995, análise da experiência acumulada evidenciou a necessidade de atualização visando o preenchimento de lacunas geradas pelo desenvolvimento científico. Com este propósito foi designado pelo CNS um grupo multidisciplinar composto de personalidades das áreas de pesquisa, filosofia, bioética, teologia, direito, medicina, além de representantes de usuários de serviços de saúde, de grupos de mulheres, de indústria farmacêutica e dos serviços governamentais (vigilância sanitária, órgãos de ciência e tecnologia). O grupo iniciou seu trabalho em 2 vertentes: consulta à sociedade e revisão cuidadosa da literatura. A consulta incluiu correspondência a 2300 instituições e especialistas solicitando sugestões, divulgação de normas internacionais (25000 exemplares), realização de encontros regionais, participação no Congresso Brasileiro de Bioética, culminando com Audiência Pública em junho/96. Recebeu-se 119 sugestões, de institutos de pesquisa, universidades, organizações de defesa dos direitos humanos, conselhos e associações profissionais, ministério público e associações da sociedade civil, correspondendo portanto a opinião de um conjunto significativo de pessoas. A revisão bibliográfica consistiu da análise da legislação de vários países de América Latina, Canadá e EUA, Comunidade Européia e Organismos Internacionais, além da legislação e literatura brasileiras disponíveis. O resultado concretizou-se na elaboração das normas brasileiras, apresentadas no CNS em sua reunião de outubro/96, em anexo. A aprovação pelo CNS da nova versão das normas de pesquisa envolvendo seres humanos conclui a 1ª fase do processo que deverá continuar com a elaboração das normas específicas por área temática e com desencadenamento da organização dos Comitês de Ética nas instituições de pesquisa em conjunto com a Coordenação de Ciência e Tecnologia/MS, assim como na

**CC 25**

**Meropenem (MER) vs Cefotaxime (CEF) Therapy (Rx) for Pediatric Meningitis (PM), Therapeutic, Pharmacologic, and Epidemiologic Observations.**

Feris, J., W. Rodriguaz, J. Puig, S. Akram, J. Fernandez, C. Peña, M. Gardner AND W. Khan.

Children National Medical Center, Washington D.C., Robert Reid Cabral Hospital, Santo Domingo, Dominican Republic.

In an ongoing multicenter, investigator blinded, randomized 1:1 comparison of MER to CEF in PM. 56 pts were enrolled. Forty-seven (84%) had CSF isolates: 34 (72%) were *H. influenzae* group  $\beta$  (all  $\beta$ -lactamase negative), 7 (15%) were *S. pneumoniae* (PEN sensitive) and 6 (13%) were *N. meningitidis*. An additional patient's early spinal fluid was (+) for *H. influenzae* (latex agglutination only). Sixteen (29%) had (+) blood cultures. In vitro MER inhibited all *H. influenzae* at .06  $\mu$ g/ml and all *N.*

*meningitidis* at .011 µg/ml. Thus for 32 patient have completed the 7 mo follow up. These 32 children (3 mos to 12 yrs/ M:F 2.2:1) have received either MER (40 mg/kg IV q 8 hrs) or CEF (45 mg/kg IV q 6 hrs). Eighteen (56%) of children had received prior antibiotics. On presentation 5 (16%) had seizures and 27 (84%) had hemoglobin 10 gm/dl; they have been ill for a mean of 3 days. The mean peak serum concentration of MER 30 min post infusion was 19 µg/ml and mean CEF 1.4 µg/ml. There was one death in each group within 24 hrs of treatment (6.6% mortality/group). There were no significant differences in outcome (hearing and neurological deficits) at the end of treatment: 3(26.6%) vs 5(43%)  $r=NS$ ; at 5-7 wk follow up 2(14%) vs 4 (31%),  $r=NS$ ; or at 5-7 mos. Consequently both treatments compared favorably.

### AOKI

#### PROLIFERACIÓN Y MUERTE CELULAR. FACTORES CRÍTICOS EN LA SECRECIÓN HIPOFISIARIA.

Agustín Aoki, Alicia I. Torres, Ernesto S. Haggi (\*), Cristina A. Maldonado y Elsa Orgero de Gaisan. Centro de Microscopia Electrónica, Universidad Nacional de Córdoba, 5000 Córdoba, Argentina. (\*) Universidad Nacional de la Patagonia Austral, Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina.

En estudios realizados en este Centro hemos demostrado una gran plasticidad morfológica de la glándula hipofisiaria que esta en directa relación con la actividad funcional de la misma. El volumen glandular y la densidad de la población de las células secretorias de la hipófisis sufren variaciones considerables, que dependen del grado de estimulación y/o inhibición de la secreción específica. Tanto en diversos estadios fisiológicos, como en modelos experimentales estudiados, la estimulación sostenida de una secreción hormonal es seguida de proliferación de la especie celular correspondiente. Con la interrupción del estímulo, se observa una muerte celular programada que elimina las células excedentes, hasta alcanzar la proporción y distribución de la glándula en reposo. Así durante la lactancia se produce una hipertrofia e hiperplasia de las células lactótropas que alcanzan un 50% del total de las células de la hipófisis. La cesación de la lactancia es seguida de una muerte masiva de las células de prolactina, que disminuyen en numero hasta alcanzar su nivel normal del 30%. Estos cambios fisiológicos fueron reproducidos experimentalmente mediante la administración de estrógenos que provocan un notable aumento en el peso de la hipófisis y en el numero de células lactótropas. Este incremento es proporcional al grado de estimulación y la interrupción del tratamiento induce la regresión de ambos parámetros.

Los estudios de los cambios poblacionales realizados en las células productoras de prolactina, han sido extrapolados a otros tipos celulares de la hipófisis, incluyendo las poblaciones de células somatotropas y tirótropas estimuladas con GHRH y propiltiouracilo respectivamente, con resultados comparables. También las células gonadótropas siguen un patrón similar luego de la gonadectomía y terapia de reemplazo. La muerte celular programada de las células hipofisiarias, es un proceso rápido y que sigue un mecanismo diferente a la apoptosis.

Las grandes variaciones de las poblaciones de las células hipofisiarias y su estrecha correlación con su actividad secretoria, sugieren que la renovación celular en la hipófisis es un mecanismo común a todos los tipos celulares y fundamental tanto para la regulación de la composición celular de la hipófisis, como para la secreción de sus hormonas.

### GAMBOA 1

#### VITAMINA A Y LEISHMANIOSIS

Gamboa, D.; Muñoz, A.; Best, I.; Colarossi, A.; Arévalo, J. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Laboratorio de Bioquímica. Universidad Peruana Cayetano Heredia

Con el fin de contar con un modelo animal que permita estudiar el efecto de la leishmaniasis sobre los niveles de Vitamina A, se procedió a la crianza de ratones Balb/c (que es una cepa susceptible a la infección por *Leishmania mexicana*), alimentándolos con dietas semi-purificadas, las cuales tenían diferentes niveles de concentración de vitamina A: Dieta 1: 20,000 UI/kg; Dieta 2: 1,650 UI/Kg y Dieta 3: 0 UI/ Kg de alimento.

Se tomaron muestras de sangre a los 30 días de edad para evaluar el nivel de retinol sérico. El análisis se realizó por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), usando una columna C18 de fase-reversa. Los picos de elución fueron cuantificados a 325 nm, obteniéndose los siguientes valores, Dieta 1: 18.2 mg/dl (n=19), Dieta 2: 12.48 mg/dl (n=20) y Dieta 3: 6.75 mg/dl (n=27).

Posteriormente se midió el nivel de retinol sérico durante la infección, observándose un aumento de los niveles de retinol en los inoculados respecto a los controles, manteniéndose la diferencia de retinol entre las tres dietas.

Finalmente los animales fueron sacrificados y se midió, además de los niveles séricos de retinol, las reservas hepáticas, obteniéndose los siguientes resultados, Dieta 1: 325.02 ug/g (n=11), Dieta 2: 61.09 ug/g (n=14) y Dieta 3: 3.15 ug/g (n=19) de tejido.

### GAMBOA 2

#### LEISHMANIOSIS AND VITAMIN A

Gamboa, D.; Muñoz, A.; Best, I.; Colarossi, A.; Arévalo, J. Department of Physiological Sciences, Laboratory of Biochemistry, Cayetano Heredia University.

In order to have an animal model which permits the study of effect of Leishmaniasis on Vitamin A levels, we bred mice Balb/c (susceptible to the infection with *Leishmania mexicana*), they were fed diets with three different concentrations of vitamin A: Diet 1: 20 000 UI/kg, Diet 2: 1 650 UI/kg and Diet 3: 0 UI/kg of food.

We took blood samples 30 days after birth to measure the serum retinol. The analysis was carried out by high performance liquid chromatography (HPLC), with a reverse-phase C18 column. The elution peaks were observed at 325nm, with the following results: Diet 1: 18.2 ug/dl (n=19), Diet 2: 12.48 (n=20) and Diet 3: 6.75 ug/dl (n=27).

Then we measured the level of serum retinol during the infection, obtaining an increase in the retinol levels of infected mice against control mice and maintaining the differences between the three diets.

---

Finally, the animals were killed, and we measured the serum retinol levels and the liverwort reserves, with the following results: Diet 1: 325.02 ug/g (n=11), Diet 2: 61.09 ug/g (n=14) and Diet 3: 3.15 ug/g (n=19) of tissue.

---

## INDICE DE AUTORES

AUTORES	RESUMEN	AUTORES	RESUMEN
Abdala Sepúlveda Patricio	CC23	Caviedes P.	CB19
Acuña M.	CC22	Caviedes R.	CB19
Aguilar Setién Alvaro	HP9	Cecilia M.	HP22
Alarcón Corredor O.M.	CC16,CB4	Cegarra A.	BPN6
Albert Amador Esteban		Cely Galindo Gilberto	CC19
Alfonzo N.	HP2	Chacón-Barreto F.R.	BPN3
Alloris Cristina De	HP23	Chamorro A. Germán	BPN9
Alonso G.	CC7	Chan Denis	CC4
Alvarado J. Andrew	CC20	Colina A.	CC16, CB4
Amador López Raúl	HP16	Cordero R.	CC22
Amoroso María J.	HP13	Cordoba Martha	CB14
Andrade Efrén	BPN2,BP3,BPN5	Cossy Isasi Sadi	HP1,HP1a
Andueza F.	BPN6	Costa S.I.F.	CC24
Anjos M.F.	CC24	Cova José Angel	HP4
Apella María C.	HP20	Cruz R.	HP18
Arriaga Ana De	CC1,CC2	Cudmani Norma M.	BPN4
Arroyo M.	CB12	Cuevas Carlos	HP20
Arsenales M.	CC22	De Mattos Carlos	CB1,CB2,CB3,HP9
Audusio M. Carina	HP20	De Mattos Cecilia	CB1,CB2,CB3,HP9
Aulet O.	HP22	Del Llano Ana M.	CC15
Baron S.	CC18	Delgado R.	CC11
Barrón Romero Blanca L.	BPN7,BPN8,BPN9	Díaz Ana M.	CB12,CC11
Baute L.	CC22	Díaz Corrales Francisco J.	
Beltrán Salamán	HP6	Díaz De T. L.E.	BPN5
Bermúdez J.	CC24	Díaz García R.	CC8,CC9,HP19
Bernal Nancy	HP5	Djabayan Djibeyan P.	BPN5
Betanzos Cabrera Gabriel	BPN7	Domínguez Carmen	HP7
Bluden G.	BPN5	Duarte Carlos	HP7
Bronia D.	HP1,HP1a	Durand M.	CB7
Caillou L. Susana De	HP13	Enders J.E.	CC3
Calderón J.	CC16	Espinoza A.	CC12
Calva Edmundo	CB9	Fabry E. Mary	CB8
Calvo Julio		Ferguson Ella	CC4
Campana Vilma	CC3,CC14	Feris Jesús M.	CC25
Canessa Mitzy	CB8	Fernández A.R.	CC3
Cangemi De Gutiérrez Rosa	HP21	Fernández Heriberto	HP8
Cano F.	HP18	Fernández Marcos	CB9
Carabot Cuervo Alfredo	BPN5,BPN6	Fernández Rendón Elizabeth	HP14,HP15,HP17
Cardenas D. Ana Maira	CB19	Ferreira A.A.S.	CC24
Carlini E.	CC24	Fessini L.	CC24
Carmona J.	BPN6	File De Emperador Sharon	HP13, HP14
Carnevali De Tata E.	CB4	Freitas C.B.D.	CC24
Carpenter B.G.	BPN5	Frenández A.	HP1, HP1a
Carpio Emilio	HP7	Fuenmayor Carmen	CC1, CC2
Carrasco H.	CC21	Galindo Reyes Verónica	HP15
Carrasco Hugo	CC1,CC2	Galindo Reyes Verónica	HP14
Carrasco Jorge	CB13	Galliano M. Alina	BPN11
Castro Escarpulli Graciela	HP14	García Castro Ivette	CB21
Castrejón Mendoza E.	CC8,CC9,HP19	García Macgregor Ernesto	CC13

AUTORES	RESUMEN	AUTORES	RESUMEN
Gavotto A.	CC14	Mattar Salim	HP5
Gómez Carmen	HP7	Medina J.M.	CB6
González A.	CB13	Medina Ramírez G.E.	BPN5,BPN6
González María Luisa	HP10, HP12	Méndez G.	BPN6
Gordillo Paniagua Gustavo	CC10	Miller Edith	CB3
Grassi H.C.	BPN2,BPN3,BPN5	Molina César	CC1
Guilarte L.M.	CC16	Montealegre F.	CB12,CC11
Hernández A.I.	BPN12	Monteleone R.	CC24
Hernández Corona Armida	BPN9	Montiel Ocando Nola	CC5,CC6
Hernández Cruz Carmen		Moonell R.	CC18
Hernández I.	BPN6	Mora Allyson	HP5
Hernández M.	HP2,HP3,HP4,CC12	Mora C.	CB12
Hernández Nieto Rafael	CC21,CB17	Moravia Pirela Camila	CC17,CC22
Hosane W.S.	CC24	Moreno Nieva María I.	BPN4
Iglesias Enrique	HP7	Mosquera Sulvaran Jesús	CB5
Infatosi A.F.	CC24	Mota De La Garza Lydia	HP14,HP16,HP17
Isla María I.	BPN4	Moya M.	CC14
Jara Aguirre Jose C.	CB14	Murano E.	BPN5
Jiménez D.	BPN6	Muñoz Arizpe Ricardo	CC10
Jiménez Medina J.M.	BPN5,BPN6	Muñoz José Luis	BPN7
Jiménez Nieto Felipe	HP16	Nader Macias María Elena	HP21,HP23
Joshi N.V.	CB15,CB16	Nader Olga De	HP21,HP22
Juliano María A.	CB14	Nagel Ronald L.	CB8
Jure M.A.	HP22	Najera Sánchez Gabriela	HP16
Juri H.	CC14	Nava Soraya	CC13
Kraiselburd E.	HP6	Navea Leonor	HP7
Laba Raquel		Nogueira S.	CC24
Lavergne Julio	CC15	Novo Ernesto	CC13
León Bauza Lourdes	CB18	Ocaña Virginia	HP23
Lezcano Luis	CC4	Oliveira A.V.	CC24
Lizano González Sergio	BPN10	Oliveira F.	CC24
López Arleen J.		Oliver Guillermo	HP20
López D.A.	HP10,HP11,HP12	Oliver J.	HP6
López Malpica F.	CC11	Oropeza Ricardo	CB9
López Merino A.	BPN12	Osburn I. Bennie	CB1, CB2, CB3, HP9
López P.	CB4	Padierna Olivos Juan	HP16
López Torres A.	CB10	Paglini P.	CC3
Loza Rubio Elizabeth	HP9	Palgiani P.	HP1,HP1a
Lugo M.	HP6	Palma J.A.	CC3,CC14
Luquita Alejandra Nora	CB20	Papo Sara	CB3
Maclachlan James	CB1,CB2	Pedersini C.	BPN5
Malave Inés	CC22,CB7	Pedroza Raquel	CC7
Maldonado Rogelio	BPN7	Perdomo Y.	CB7
Marques M.B.	CC24	Perea Cantero R.A.	CC8,CC9,HP19
Martínez De Naval Mirtha Silvia	HP13	Pérez Chaia Adriana	HP20
Martínez Flores Irma	CB9	Pérez M.C.	HP10,HP12
Martínez I.	HP6	Pérez M.L.	HP11
Martínez Idali	HP6	Pleites Morán Alvaro Ernesto	
Martínez L.M.A.	HP11	Puentes José Luis	CB9
Mateos Poumain Armando		Quintana Diógenes	HP7

AUTORES	RESUMEN	AUTORES	RESUMEN
Quiñones M.I.	BPN1	Shear Hannah	CB11
Ramírez Fco Javier	BPN7	Smith J.	HP6
Ramírez I.	BPN6	Smith Jean S.	CB3,HP9
Ramírez Moreno M.	BPN8	Sosa Luna Irma	HP17
Rangel A.	HP4,CC12	Sosa M.	BPN6
Rasia M.	CB20	Sousa P.	CC22
Reinosa Fuller Ja.	CB4	Souza A.C.M.	CC24
Reyes P.	CB19	Stout V.	CB10
Reyes Víctor		Suzuka Sandra	CB8
Rivarola E.	CC3	Teuber C. J.	HB10,HP11,HP12
Rizo Ríos Pedro	CC18	Toffanin R.	BPN5
Rizzo R.	BPN5	Torres De Maatute Olga Rebeca	
Rocca X.	CB19	Torres José V.	HP6
Rodríguez C. Felipe	BPN1,BPN13	Torres O.	HP18
Rodríguez A.	HP6	Torres Ruiz José A.	CB18
Rodríguez Lemoine V.	CC7	Torres S.E.	HP10
Rodríguez Montaña Raul	HP15	Tovar Franco Jairo Alfonso	CB6
Rodríguez Salazar R.B.	CC8,CC9	Trejo A.	HP22
Rogers D.J.	BPN5	Urdaneta Carruyo Eliexer	CC10,CC16,CB4,CB5
Rojas W.E.	HP24	Urdaneta Haidee	HP2,HP3,HP4,CC12
Rojas-Velásquez L.M.	BPN2	Uribe J.M.	HP10,HP11,HP12
Romero C. Nora	HP13	Uscanga Prieto Irma	HP17
Romero José	CB8	Utrera Antonio	CB3
Romero V.	CC5,CC6	Valencia Mayoral Pedro	CC10
Rosales O.	HP3	Vasquez Dania	HP7
Rosario G.	CC11	Vattuone Martha A.	BPN4
Ruiz Holgado Aida A. De	HP21,HP22,HP23	Vázquez Corso Sara	BPN8
Russi José C.		Vázquez Luis E.	CB21
Saavedra M.S.	HP12	Vergara Jorge	CC4
Saavedra Sonia	CC15	Vethencourt M.A.	CC22,CB7
Salmen N.	CC12	Villarubia Olga L.	HP7
Salmen S.	CC12	Villarruel Lopez Angelica	HP14
Sampietro A.R.	BPN4	Viloria P.A.	CC5,CC6
Samut Ariel Jorge		Visconde O.	CC24
Sánchez Daniel	CC4	Volcanes I.	HP2,HP3,HP4
Sánchez Mendoza Miroslava	HP17	Zanders Percy	HP24
Sánchez Nora Lidia	BPN12	Zlotnik Hilda	BPN11
Sandoval T.H.	BPN12	Zorrilla Carmen	CC15