

## Resúmenes

### A - Micobacterias

#### A-1 La apoptosis y la necrosis inducidas por el Derivado Proteico Purificado (PPD) en macrófagos de pacientes con tuberculosis (TB) e individuos sanos dependen del balance TNF $\alpha$ /IL-10.

D. Gil, L.G. León, L.F. García, M. Rojas.

Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** aunque se ha mostrado la presencia de macrófagos apoptóticos en lesiones de tejidos y lavados broncoalveolares de pacientes con TB, se desconoce el papel que tiene la apoptosis en la patogénesis de la tuberculosis. En el presente trabajo evaluamos si la estimulación con PPD podría inducir apoptosis y/o necrosis en monocitos/macrófagos de pacientes con TB pulmonar en comparación con controles tuberculino positivos. **Metodología:** estimulamos células de sangre periférica o monocitos con PPD durante 24 horas. Por citometría de flujo determinamos los macrófagos apoptóticos y necróticos, el porcentaje de células productoras de TNF $\alpha$  e IL-10 y sus efectos mediante ensayos de bloqueo con anticuerpos monoclonales. La necrosis fue confirmada cuantificando lactato deshidrogenasa (LDH) en sobrenadantes. **Resultados:** el PPD indujo apoptosis en el 70% de los macrófagos de controles y un 3% de necrosis; en pacientes un 26% de apoptosis y 25% de necrosis, ( $p < 0.0001$ ) y en estos se observó mayor liberación de LDH. El PPD indujo un 55% de monocitos TNF $\alpha$  en los controles, comparado con un 25% de los pacientes ( $p < 0.001$ ). Los porcentajes de monocitos IL-10+ fueron del 70% y 20% en pacientes y controles ( $p < 0.002$ ). El anti-TNF $\alpha$  inhibió completamente la apoptosis y aumentó la necrosis. El anti-IL-10 aumentó el porcentaje de células apoptóticas e inhibió el porcentaje de necróticas. **Discusión:** estos resultados sugieren que el balance TNF $\alpha$ /IL-10 es responsable de la modulación de la apoptosis y la necrosis de monocitos/macrófagos infectados y que éste puede ser crítico en el daño tisular y la diseminación de la tuberculosis. *Financiado por Colciencias.*

#### A-2 Estudio de aislamientos colombianos de *M. tuberculosis* con aparente neurotropismo.

F.I. Cohen<sup>1</sup>, R. Hernández-Pando<sup>2</sup>, C. Espitia<sup>3</sup>, C.I. León<sup>1</sup>, M.I. Guerrero<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Micobacterias, Instituto Nacional de Salud, Colombia. <sup>2</sup>Laboratorio de Patología experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México. <sup>3</sup>Laboratorio de Inmunología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

**Resumen:** en Colombia se realizó tipificación molecular de cepas de *M. tuberculosis* por *spoligotyping*, hallándose 10 cepas con un patrón diferente, todas provenientes del LCR de pacientes con TBC-SNC. Análisis molecular del locus DR evidenció elevado polimorfismo; permitiendo ubicarlas en tres grupos y lanzar la hipótesis de que dicho polimorfismo se asocia con su capacidad para evadir el sistema inmune y alcanzar el S.N.C. Se escogió una representante de cada grupo para estudio en un modelo murino experimental, inoculando vía intratraqueal ratones BALB/c, los cuales se sacrificaron a diversos días post-infección, extrayéndose encéfalo, pulmón, bazo e hígado. Se realizó curva de supervivencia escogiendo los ratones infectados con una de las cepas para estudios histopatológicos en láminas de pulmón; búsqueda de antígenos y DNA micobacterianos en encéfalo por inmunohistoquímica y PCR *in situ*, búsqueda microbiológica por cultivo de encéfalos y tipificación molecular por RFLP-IS6110 de los aislamientos. Una de las cepas produjo elevada tasa de mortalidad en los ratones infectados con ella, de igual forma gran multiplicación bacilar en los pulmones. El resultado de la inmunohistoquímica y PCR *in situ* en encéfalo fue positivo y fueron aisladas colonias del encéfalo de ratones infectados con la cepa clínica, cuyo patrón de RFLP-IS6110 fue exacto al de la cepa inoculada. Tales hallazgos permiten calificar la cepa estudiada como hipervirulenta, evidenciar la presencia de DNA y antígenos micobacterianos en el encéfalo, así como demostrar que la cepa inoculada y la aislada de tal órgano presentaron un patrón exacto RFLP-IS6110, lo cual se asocia con cierto grado de neurotropismo en dicha cepa.

#### A-3 Papel de las células espectadoras en la remoción de células apoptóticas infectadas con *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*).

L.G. León, B. Ortiz, L.F. García, M. Rojas.

Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** durante la infección con *Mtb* no todas las células fagocíticas son infectadas, algunas que concurren al sitio de infección son responsables de la remoción de macrófagos infectados apoptóticos utilizando diferentes mecanismos de reconocimiento, evitando el daño tisular, la inflamación y la dispersión de las bacterias. **Metodología:** desarrollamos un modelo *in vitro* para evaluar la remoción de cuerpos apoptóticos infectados y la inhibición del crecimiento micobacteriano por células espectadoras, utilizando líneas de macrófagos murinos congénicos, resistentes (B10R) y susceptibles (B10S), para el gen *Nramp1* (*Natural resistance associated macrophage protein 1*). A los macrófagos, estimulados o no con IFN $\gamma$ , se les agregaron cuerpos apoptóticos generados mediante infección con *Mtb* o tratamiento con PPD. Medimos TNF $\alpha$ , IL-10, apoptosis y crecimiento intracelular de *Mtb*. Evaluamos la participación de estas citoquinas y de posibles receptores mediante ensayos de bloqueo. **Resultados:** los macrófagos espectadores B10R, pero no los B10S, inhibieron el crecimiento intracelular de *Mtb* y sufrieron apoptosis cuando fagocitaron cuerpos apoptóticos infectados, pero no aquellos obtenidos mediante estimulación con PPD. Los cuerpos apoptóticos fueron fagocitados por las células espectadoras mediante receptores "scavenger" y de manosa, pero no CD14. La expresión de estos receptores fue modulada por el TNF $\alpha$  y la IL-10. La inhibición del crecimiento de *Mtb* se correlacionó con la producción de óxido nítrico y la apoptosis de las células espectadoras. **Discusión:** estas evidencias indican que los macrófagos espectadores refuerzan la actividad antimicobacteriana y la resolución de la infección, dependiendo del gen *Nramp1*. *Financiado por la Fundación para la Investigación y la Tecnología.*

#### A-4 Las drogas anti-tuberculosas modulan la apoptosis de macrófagos inducida por *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*).

D. Gil, L. F. García, M. Rojas.

Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** se ha descrito que la infección micobacteriana induce apoptosis en macrófagos y que ésta es regulada por TNF $\alpha$  e IL-10, citoquinas que modulan la producción de óxido nítrico (NO) y la activación de las caspasas. Adicionalmente, la infección induce entrada de calcio y alteraciones mitocondriales, independientes de TNF $\alpha$ /IL-10. **Metodología:** para explorar el papel de la apoptosis sobre el control micobacteriano, macrófagos B10R infectados o no con *Mtb*, se expusieron a drogas anti-tuberculosas (isoniacida, rifampicina, tiacetazona, estreptomina y etambutol) y correlacionamos su efecto sobre el crecimiento intracelular con la producción de TNF $\alpha$ , IL-10, activación de caspasas, función mitocondrial y apoptosis. **Resultados:** en macrófagos infectados las drogas bloquearon las alteraciones mitocondriales, la producción de TNF $\alpha$ , IL-10 y NO, y la activación de las caspasas en forma dependiente de la dosis. Este bloqueo se correlacionó con la inhibición del crecimiento de la micobacteria. Las drogas no afectaron la apoptosis inducida por el PPD, ni los eventos asociados a ésta, sugiriendo que las drogas bloquean la apoptosis por sus efectos sobre la actividad metabólica de la micobacteria. En macrófagos no infectados, altas concentraciones de drogas anti-tuberculosas, excepto la isoniacida y la rifampicina, indujeron alteraciones mitocondriales y éstas fueron prevenidas por la remoción de Ca<sup>2+</sup>. **Discusión:** estos resultados indican que las drogas anti-tuberculosis modulan indirectamente eventos asociados a la apoptosis afectando la actividad metabólica de las micobacterias. Los análisis de componentes principales y correlación, sugieren que el daño mitocondrial es un evento independiente a la modulación por citoquinas y asociado con el calcio. *Financiado por Sustainable Science Institute (SSI).*



#### A-5 Producción de TNF $\alpha$ e IL-10 en pacientes con tuberculosis y controles sanos.

M. Henao, S. Paris, L.F. García.  
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** las citoquinas desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmune antimicobacteriana. IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  están asociados con activación del macrófago y aumento de la capacidad antimicobacteriana, mientras IL-10 y TGF $\beta$  tienen efectos opuestos. La producción de estas citoquinas está controlada por diferentes factores, incluyendo una regulación mutua. En pacientes con TB hay disminución de IFN $\gamma$  e incremento en la producción de TGF $\beta$  e IL-10. Estos perfiles podrían tener consecuencias funcionales y clínicas en diferentes formas de tuberculosis. **Objetivos:** estudiar la producción de TNF $\alpha$  e IL-10 en diferentes formas clínicas de tuberculosis, comparativamente con controles sanos. **Metodología:** 62 pacientes con TB pulmonar, 7 con TB pleural y 4 con TB miliar. Como controles 30 individuos sanos. Los niveles de citoquinas se estudiaron en sobrenadantes de cultivos de mononucleares circulantes en presencia de PPD y de LPS por Elisa. **Resultados:** el PPD y en mayor medida el LPS indujeron un aumento significativo en la producción de ambas citoquinas en los controles y los pacientes con TB pulmonar y pleural. No se observaron diferencias en la producción de TNF $\alpha$  e IL-10 entre controles y pacientes con TB pulmonar. Se encontró una correlación positiva entre PPD y LPS para las dos citoquinas y en los niveles de TNF $\alpha$  e IL-10. **Discusión:** los resultados obtenidos hasta el momento muestran una gran variabilidad en la producción de TNF $\alpha$  e IL-10 en respuesta a LPS y PPD que esperamos explicar por los polimorfismos genéticos asociados con alta o baja producción de estas citoquinas. *Financiado por Colciencias.*

#### A-6 Aislamiento y caracterización de proteínas de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) H37Rv con capacidad de modular la apoptosis de los macrófagos.

A. Obregón, M. Rojas, L.F. García, B.L. Ortiz.  
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción:** recientemente se ha evidenciado que la apoptosis de macrófagos infectados, puede ser un mecanismo de defensa para controlar infecciones intracelulares. En el modelo murino, la infección con Mtb H37Rv y la estimulación con PPD inducen apoptosis. Sin embargo, la micobacteria muerta y componentes estructurales como el ManLAM, previenen la muerte celular, sugiriendo que existen productos micobacterianos capaces de modular positiva y negativamente la apoptosis. Por lo tanto una mejor caracterización de estos productos, es de gran importancia para comprender la fisiopatología de la enfermedad. **Metodología:** purificación de proteínas de filtrados de cultivos de Mtb H37Rv crecidas en medio 7H9, por técnicas de cromatografía de afinidad, intercambio iónico, interacción hidrofóbica y exclusión molecular. Medición de apoptosis por hipoploidía y despolarización mitocondrial de macrófagos murinos B10R estimulados con proteínas micobacterianas durante 24 horas, por citometría de flujo. Medición de nitritos con el reactivo de Griess. **Resultados y discusión:** en el sobrenadante de cultivos de tres semanas de Mtb H37Rv, existen moléculas que inducen apoptosis. Por SDS-PAGE y tinción con nitrato de plata, se ha evidenciado una compleja mezcla de proteínas entre 5-200Kda. Mediante cromatografía de intercambio iónico se ha logrado fraccionar el sobrenadante en cuatro grupos. Al someterlos posteriormente a cromatografía de interacción hidrofóbica, el sobrenadante se separó en catorce fracciones que contienen entre 1-3 proteínas. Actualmente se está evaluando su capacidad de modular la apoptosis y se procederá a evaluar los mecanismos implicados en ella. *Financiado por la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología (FPIT).*

#### A-7 Estudio de fragmentos de DNA asociados con características de virulencia del *M. tuberculosis* de aislamientos clínicos meníngeos.

W.A. Ribón, M.I. Guerrero.  
Laboratorio de Micobacterias. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia.

**Resumen:** para contribuir al entendimiento de la patogénesis, transmisión y diseminación mundial de la forma más severa de tuberculosis extrapulmonar (tuberculosis meníngea), se analizaron por métodos moleculares y celulares las diferencias entre aislamientos clínicos meníngeos que se correlacionan con el nivel de patogenicidad, virulencia y variabilidad genética. La caracterización molecular de los aislamientos se realizó amplificando por PCR, secuenciando y digiriendo con endonucleasas, una secuencia repetitiva "el locus DR" presente en todas las micobacterias patógenas del complejo tuberculosis. Mediante ensayos de infección en la línea celular J774 se analizó la virulencia micobacteriana medida como la capacidad de entrar, sobrevivir y multiplicarse intracelularmente, así como la capacidad de inducir la expresión de citocinas por RT-PCR y la ubicación intracelular del bacilo por microscopía electrónica. El análisis de los resultados evidenció que estos aislamientos presentan diferentes tamaños en el fragmento amplificado debido a la presencia de grandes deleciones y cambios puntuales en sus regiones variables, debido posiblemente a eventos de transposición proporcionando patrones de restricción particulares ocasionados también por la posible metilación de algunos sitios de corte de las endonucleasas. La dinámica de los ensayos de infección muestra marcada alteración morfológica con una tendencia similar entre los aislamientos meníngeos y la cepa patógena de referencia que es diferente a la cepa vacunal BCG, comportamiento similar observado al evaluar la infección y alta multiplicación en los macrófagos. La respuesta de citocinas fue heterogénea, tanto en la citocinas como en el tiempo en el cual se expresan, y la ubicación intracelular predominante fue la citoplasmática dentro de vacuolas.

#### A-8 Determinación de la susceptibilidad a drogas de *Mycobacterium tuberculosis* utilizando Fagos Reporteros de Luciferasa por medio de las técnicas de Luminometría y Caja del Bronx.

B.E. Ferro, N. Guarín, A.L. Rodríguez, R. Tovar, M.H. Hazbón.  
CIDEIM.

**Resumen:** una estrategia importante para el control de la tuberculosis multirresistente (MDR) es la prescripción de un tratamiento efectivo, basado en el patrón de susceptibilidad (PS) del aislamiento clínico. En Colombia, Buenaventura ha sido descrito como un foco importante de MDR, por lo que la disponibilidad de pruebas rápidas, económicas, sensibles y específicas para la determinación de PS, que superen las limitaciones de las pruebas existentes, ayudaría considerablemente al control de este problema. La metodología de Micobacteriofagos Reporteros de Luciferasa (FRL) surge como una alternativa promisoría para el diagnóstico microbiológico a través de fagos capaces de infectar micobacterias viables, transferirles el gen Fflux y con éste, la capacidad de emitir luz en presencia del sustrato adecuado. La detección de la señal de luz producida por micobacterias, previamente expuestas a antibióticos, permite revelar el PS de cada aislado. El objetivo de este estudio fue la determinación del PS a drogas de *M. tuberculosis* utilizando FRL por medio de las técnicas de Luminometría y Caja del Bronx. 51 aislados de *M. tuberculosis*, provenientes de la población de Buenaventura, fueron descongelados del banco de cepas y se evaluó el PS para Isoniazida, Rifampicina, Estreptomicina y Etambutol, siendo el gold standard el método proporcional. La sensibilidad para la detección de Isoniazida y Rifampicina (MDR) fue del 100% por ambos métodos, la sensibilidad para Etambutol y Estreptomicina por Luminometría fue 40% y 78.9%; por Caja del Bronx 33% y 80%. Respecto al tiempo requerido por prueba, las pruebas de FRL fueron más rápidas (94 horas para la caja del Bronx y 54 horas para luminometría) en comparación con el método proporcional (3 semanas). Se sugiere que las metodologías de FRL, pueden ser una herramienta útil para el tamizaje de MDR en los programas de control de tuberculosis.



**A-9 Comparación de una prueba rápida para la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, basada en micobacteriófagos vs. el medio sólido Ogawa Kudoh en muestras de esputo. Medellín, Colombia.**

M. Restrepo\*, C.L. Salazar\*, M.C. Ospina\*\*, G. Álvarez\*\*.  
\*Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Medellín; \*\*IPS Clínica León XIII laboratorio clínico, Medellín.

**Introducción:** la detección convencional de *M. tuberculosis* utilizando la tinción Ziehl Neelsen seguida por el cultivo Ogawa Kudoh y la prueba bioquímica, puede tomar hasta ocho semanas. En el método Phage TekOMB (Organon Teknika), los micobacteriófagos son específicos del complejo *M. Tuberculosis*, infectan rápidamente bacilos vivos presentes en las muestras, se replican aceleradamente para ser liberados e infectan *Mycobacterium smegmatis* que amplifica los micobacteriófagos, lo cual es evidenciado con la presencia de placas de lisis celular en el agar en 48 horas. **Objetivo:** evaluar sensibilidad, especificidad, valores predictivos de los micobacteriófagos comparado con el cultivo Ogawa Kudoh. **Metodología:** prueba de una prueba. Se procesaron 487 muestras de esputo recolectadas entre septiembre de 2000 y abril de 2001, de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar. A cada muestra se le realizó baciloscopia antes y después de haberse tratado con NaOH-NALC: una parte del sedimento fue sembrado en Ogawa Kudoh, la otra se mezcló con los micobacteriófagos. Una solución virucida elimina los fagos fuera de las micobacterias. Para amplificar la reacción se agregó *M. smegmatis* y la lectura se hizo por presencia de placas de lisis en el agar. El número de placas indica el número de micobacterias viables del complejo. **Resultados:** los micobacteriofagos comparados con Ogawa Kudoh presentó sensibilidad: 54.8% (IC 36.29 - 72.21), especificidad: 96.2% (IC 94.77-98.24), VPP: 54.8% (IC 36.29-72.21), VPN: 96.2% (IC 94.77-98.24) y eficiencia de la prueba: 94.2% (IC 91.69 - 96.07). **Discusión:** los micobacteriófagos son una opción para confirmar tuberculosis pulmonar, en pacientes con baciloscopias positivas y permite rápidamente definir conducta frente al sospechoso como se hace con el cultivo. Es importante evaluar los costos económicos y de salud pública.

**A-10 Identificación de micobacterias por reacción en cadena de la polimerasa y análisis de restricción (PRA).**

C.M. López, G.I. Mejía, A. Guzmán, J.A. Robledo.  
Corporación para Investigaciones Biológicas.

**Introducción:** los métodos clásicos para identificar micobacterias se basan en pruebas bioquímicas y de cultivo, pueden tardar en suministrar resultados. El tratamiento de las infecciones por micobacterias depende de la especie aislada, su inicio oportuno modifica el pronóstico para el paciente, por lo tanto es necesaria una búsqueda de alternativas diagnósticas y de identificación que sean rápidas y costo-efectivas. Este proyecto evalúa la efectividad y reproducibilidad de un método descrito, que utiliza una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y enzimas de restricción para identificar especies de micobacterias. **Metodología:** el método se basa en la amplificación de un gen de la familia de proteínas de choque térmico (hsp65) que conserva secuencias específicas de especie. Se evaluaron 8 cepas de referencia y 13 aislamientos de pacientes para las cuales se conocía la identificación bioquímica estándar. Se extrajo el ADN del cultivo. Se realizó una amplificación con primers Tb11 y Tb12, los amplicones se sometieron a restricción con BstEII y Hae III. Los patrones de electroforéisis se analizaron comparándolos con algoritmos reportados en la literatura. **Resultados y discusión:** se encontraron 3 discrepancias entre la identificación por métodos bioquímicos y por PRA, *M.avium-intracellulare*/*M.scrofulaceum* vs. *M.gastrii*/*M.kansasii*, compatible *M.vaccae*/*M.parafortuitum* vs. *M.gordonae*IV, y *M.scrofulaceum* vs. *M.avium*, los 3 en aislamientos de pacientes. La identificación de *M.tuberculosis* por ambos métodos fue concordante en todos los casos. Los resultados demostraron que el método es fácilmente estandarizable, rápido y los patrones obtenidos son específicos de especie lo cual lo hace una herramienta útil en el laboratorio diagnóstico.

**A-11 Evaluación de dos métodos de descontaminación en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* en medios líquidos.**

F.O. Gamboa, S.B. Del Busto, Y. Villamizar, L.A. Rojas, M. Vargas.  
Departamento de Microbiología y Centro de Investigaciones Odontológicas, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.

**Introducción:** actualmente poco se sabe de la rentabilidad de las técnicas de descontaminación por ditiotreitil-NaOH, cloruro de benzalkonium y otras en la recuperación de *M. tuberculosis* en medios de cultivo líquidos después de este proceso. **Objetivos:** evaluar la utilidad (frecuencia y tiempo de detección) de las técnicas de descontaminación por ditiotreitil-NaOH y cloruro de benzalkonium en la recuperación de *M. tuberculosis* en los medios líquidos MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube; Becton Dickinson) y MB-Chek (Becton Dickinson). **Metodología:** se trabajaron 150 muestras de esputo de 6 ml cada una, con resultados previos, al Ziehl-Neelsen y cultivo, negativos para micobacterias. De cada muestra se hicieron dos alícuotas de 3 ml, para crear 300 alícuotas. Con las 300 alícuotas se crearon dos grupos de 150 c/u. Las 150 alícuotas del grupo 1 fueron inoculadas con *M. tuberculosis* a una concentración de 12.500 unidades formadoras de colonia (UFC)/ml y las 150 restantes (Grupo 2) se inocularon con *M. tuberculosis* a una concentración de 6.250 UFC/ml. En cada grupo, 50 alícuotas fueron descontaminadas con Ditiotreitil-NaOH, 50 fueron descontaminadas con Cloruro de Benzalkonium y las 50 restantes se descontaminaron con N-acetyl-L-Cisteína-NaOH. Posteriormente todas las muestras descontaminadas fueron inoculadas simultáneamente en los medios MGIT, MB-Chek y Lowenstein-Jensen e incubados a 37 °C hasta 8 semanas. **Resultados:** no hubo diferencias estadísticamente significativas en la recuperación de *M. tuberculosis* en los dos medios líquidos realizando la descontaminación con Cloruro de Benzalkonium y N-acetyl-L-Cisteína-NaOH, pero si hubo diferencias estadísticamente en la recuperación de *M. tuberculosis*, en los dos medios líquidos, después de descontaminar con ditiotreitil-NaOH.

**A-12 Segundo estudio nacional de resistencia primaria del *Mycobacterium tuberculosis* a las drogas en Colombia.**

C.I. León, C.R. Sierra, O.N. Naranjo, M.C. Garzón, M.I. Guerrero.  
Laboratorio de Micobacterias. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia.

**Resumen:** en 1994 la OMS y la UICTER iniciaron el proyecto Mundial de Vigilancia de la Resistencia a las Drogas Antituberculosas, siendo uno de sus objetivos medir la prevalencia de resistencia mundial usando métodos estándar, estudio en el cual participó Colombia. Con el objetivo de determinar la prevalencia de resistencia primaria del *M. tuberculosis* a las drogas antituberculosas, se realizó un estudio prospectivo 1999-2000 en todo el territorio colombiano incluyendo pacientes con tuberculosis pulmonar baciloscopia positiva, vírgenes a tratamiento, calculando una muestra nacional estratificada por afiliación proporcional 35 grupos (n=1170). Además de las drogas sugeridas por la OMS/UICTER: isoniazida(H), rifampicina(R), etambutol(E) y estreptomina(S), se incluyó pirazinamida(Z), etionamida(T) y tioacetazona(Tb). La información se maneja utilizando el software de la OMS (SDRTB 2.0). Las pruebas de susceptibilidad a las drogas fueron realizadas por la técnica de las proporciones múltiples. De la muestra calculada se pudo completar el 93%, sin embargo fue representativa. Teniendo en cuenta las drogas sugeridas por la OMS la resistencia global fue 15.6% y la multiresistencia de 1.5%, cuando se tuvieron en cuenta todas las drogas estudiadas fue de 28.2%. La resistencia más alta encontrada fue a S(11.5%), seguida por H(9.5%) y Z(9.3%); las más bajas E(0.8%) R(1.7%) Tb(2.6%) y T(6.2%). Al comparar las proporciones de resistencia de las drogas con las del estudio realizado en 1992, no hubo diferencias estadísticamente significativas. Igual sucedió con la resistencia global: 14.1% vs 15.6%. Colombia comparada con los 54 países participantes presentó resistencia global superior a la media encontrada(10.7%), lo mismo que la MDR(1.0%) aunque aun está por debajo del 3%, no requiere introducción de nuevos esquemas. Se requiere y justifica estar alerta para impedir que llegue a ser un problema de salud pública.

**A-13. Descripción de la población tuberculosa colombiana (1999-2000) involucrada en el segundo estudio nacional de farmacorresistencia.**

C.I. León, C.R. Sierra, O.N. Naranjo, M.C. Garzón, M.I. Guerrero.  
Laboratorio de Micobacterias. Instituto Nacional de Salud.  
Bogotá, Colombia.

**Resumen:** con el objetivo de describir la actual presentación de la tuberculosis en los aspectos demográficos, geográficos y epidemiológicos, observada a través de un estudio Nacional de Resistencia Primaria, se realizó el presente análisis en el cual la población de estudio, se obtuvo mediante la inclusión consecutiva de los casos nuevos con baciloscopia positiva que se requerían para detectar la farmacorresistencia menor reportada a nivel nacional, lo cual constituyó aproximadamente el 10% de los casos diagnosticados anualmente y por lo tanto es una muestra representativa de los casos de tuberculosis del país/año. El manejo de la información se realizó mediante el software de la OMS (SDRTB 2.0) y las estadísticas descriptivas y análisis bivariados mediante Epi-Info 6.0. El  $\chi^2$  y el Fisher exact test de dos colas fueron usados para comparar diferencias entre género, raza, procedencia, grupo étnico. Los OR y sus respectivos IC95% se calcularon para medir asociaciones. Se encontró un aporte equitativo de casos por género, mientras que la raza indígena aportó diez veces mas casos de los que proporcionalmente debía aportar y el grupo étnico principalmente afectado por la tuberculosis resultó ser el de 20 a 29 años, igual al comportamiento de países latinoamericanos como son Perú, Bolivia y Haití. Se encontró una probabilidad 2 veces mayor de portar cepas farmacorresistentes en el grupo étnico de 25 a 34 años y en la raza negra así como en la población procedente de la costa norte. En general la tuberculosis pulmonar mostró un comportamiento de país que necesitaría consolidar un programa nacional de control de esta enfermedad.

**A-14. Cirugía como terapia coadyuvante en el tratamiento de la tuberculosis pulmonar resistente.**

L.A. Paniagua, M. Henao, A. Tobón, V. Arcila, F. Bedoya, B. Muñoz, J. Ortega, R. Maya.  
Corporación para Investigaciones Biológicas, Hospital la María,  
Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín.

**Introducción:** la tuberculosis pulmonar resistente es una enfermedad de difícil manejo. La resección quirúrgica del tejido pulmonar afectado en conjunto con un tratamiento médico adecuado, puede proporcionar la curación a un grupo seleccionado de pacientes con tuberculosis pulmonar resistente. **Objetivo:** evaluar los resultados clínicos y bacteriológicos de la resección quirúrgica como terapia coadyuvante en el tratamiento de tuberculosis pulmonar resistente en un grupo seleccionado de pacientes. **Materiales y métodos:** se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo. Se consultaron las historias clínicas del Hospital La María, Medellín, 1990-2000. **Resultados:** se incluyeron 62 pacientes en el estudio, 31 eran candidatos para cirugía y 31 no lo eran. De los 31 que fueron intervenidos quirúrgicamente 74,2% eran hombres y 25,8% mujeres. 23 pacientes recibieron tratamiento prequirúrgico. Al 51,6% se les realizó lobectomía superior y a los restantes neumonectomía o segmentectomía. Se encontró resistencia a isoniacida en la totalidad de los pacientes y a rifampicina en el 80,6%. El 90,4% eran resistentes a más de un medicamento. 28 pacientes recibieron tratamiento postquirúrgico por un tiempo promedio de 11,5 meses. El tiempo promedio para la negativización de la baciloscopia fue de 8 semanas. 22 pacientes permanecieron asintomáticos posterior a la cirugía, el 71% curaron. De los pacientes que no eran candidatos para cirugía por su extenso compromiso pulmonar el 23% curaron, el 37% no lo hicieron y el 20% abandonaron el tratamiento. **Discusión:** la cirugía en conjunto con un tratamiento médico adecuado, fue una buena alternativa de curación para un grupo seleccionado de pacientes con tuberculosis resistente.

**A-15. Influencia de la Diabetes Mellitus (DM) en el resultado de la terapia antituberculosa.**

M. Henao, L.A. Paniagua, A. Tobón, J. Sampedro, B. Muñoz, F. Bedoya, J. Ortega, J.R. Maya.  
Corporación para Investigaciones Biológicas, Hospital La María,  
Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín

**Introducción:** los pacientes diabéticos presentan pobre respuesta al tratamiento antiTB, por esto se recomienda prolongar la segunda fase del mismo hasta completar 9 meses. **Objetivo:** establecer la influencia de la DM sobre el tratamiento antituberculoso en pacientes del Hospital La María. **Materiales y métodos:** estudio de casos y controles. Se consultaron las historias clínicas del Hospital La María, 1996-2000. **Resultados:** se incluyeron 25 pacientes con TB y DM, 32 como grupo control. El grupo con DM tuvo un promedio de edad de 53 años y el control de 44 ( $p>0.05$ ). En la presentación de los síntomas y su duración no hubo diferencia significativa entre ambos grupos. El grupo con DM tuvo un tiempo promedio de duración de la segunda fase de tratamiento de 26,3 semanas y el control de 17,2 ( $p=0.000003$ ). De 25 pacientes con DM 60% curaron, 16% refractarios, 12% murieron, 12% sin datos. De los controles 81,2% curaron, 9,4% salieron por pérdida y 9,4% sin datos. En los pacientes con DM que curaron la duración de la segunda fase del tratamiento fue de 29,7 semanas, con promedio de glicemia de 238,8 mg/dl, en los no curados la duración fue de 22 semanas con promedio de glicemia de 280,75 mg/dl. Se observó resistencia a medicamentos antiTB en el grupo con DM. **Discusión:** los datos sugieren que es necesario prolongar la segunda fase de tratamiento antiTB en pacientes diabéticos para obtener buena respuesta. En los diabéticos la no curación se asoció con resistencia a medicamentos antiTB y niveles de glicemia mayores.

**A-16. Frecuencia de infección por *Mycobacterium leprae* en convivientes de pacientes con lepra Antioquia - Colombia 2000.**

N. M. Cardona, S.R. Jaramillo.  
Instituto Colombiano de Medicina Tropical.

**Introducción:** la lepra es un problema de salud pública en países en desarrollo. Los programas de control de lepra priorizan la detección temprana para disminuir secuelas, sin embargo 25-30% de pacientes del mundo sufren complicaciones neurológicas. Una de las principales limitaciones para el control de la lepra es carecer de un método de diagnóstico para casos subclínicos. **Objetivo:** detectar infección por *Mycobacterium leprae* y evaluar respuesta inmune en convivientes de pacientes con lepra multibacilar (MB). **Métodos:** examen físico, Ziehl Neelsen y PCR de moco nasal y linfa, IgM anti-PGL1, Lepromina A. Población: 57 convivientes de 16 pacientes MB registrados en Antioquia 1999. **Resultados:** edad 4-70 años, 39% hombres. Infectados: 9% IgM anti-PGL1 positiva, 54% Mitsuda positiva. PCR negativa en todas las muestras. Se clasificaron 5 grupos de convivientes. G1: 2 sintomáticos de piel diagnosticados con lepra MB. G2: 2 convivientes con Mitsuda negativa y/o anticuerpos IgM positivos patrón LL. G3: 30 con Mitsuda positiva y/o anticuerpos IgM negativos, patrón LT. G4: 21 no infectados. G5: 2 con patrón diferente. **Conclusiones:** evaluar desde varios aspectos a los convivientes de pacientes con lepra MB, es de gran utilidad para el control de la enfermedad en la población de riesgo. La búsqueda activa de casos en Antioquia donde la prevalencia de lepra ha fluctuado desde 1986 a 1998, entre 0.2 a 1.8 por 10.000 habitantes, es de gran importancia para mantener esta enfermedad en estado de eliminación como problema de salud pública según la OMS.



**A-17. Efecto de la producción de óxido nítrico (NO) sobre la expresión de las moléculas clase II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHCII) en macrófagos murinos infectados con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (*Mtb*).**

J.L. Jaramillo, G.M. Vásquez, L.F. García, L.F. Barrera.  
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** el Interferón Gamma (IFN $\gamma$ ) es un potente estimulador de tanto la expresión de las moléculas MHC como de la producción de NO. La infección de macrófagos con *Mtb* en presencia de IFN $\gamma$  resulta en una producción sinérgica de NO. **Objetivo:** examinar el efecto del NO derivado de la infección con *Mtb* sobre la expresión inducida por IFN $\gamma$  de MHCII. **Metodología:** macrófagos murinos B10R fueron estimulados con IFN $\gamma$ , LPS y/o infectados con *Mtb* por 24 horas. En algunos experimentos, aminoguanidina (AG), un inhibidor competitivo de la producción de NO, fue agregado a los cultivos celulares. **Mediciones:** la expresión superficial de MHCII fue estudiada por Citometría de Flujo. Los niveles de mRNA para I-Aa fueron estudiados por Northern blotting. **Resultados:** la infección de los macrófagos con *Mtb*, y el tratamiento con LPS indujeron una disminución en la expresión superficial de MHCII inducidas por IFN $\gamma$ . Esta inhibición se correlacionó con el incremento en las concentraciones de NO en los sobrenadantes de las células en cultivo. La expresión de MHCII y los niveles mRNA para I-Aa se re-establecieron al utilizar AG. **Discusión:** el óxido nítrico ejerce un efecto negativo sobre la expresión superficial de MHCII. A su vez, la inhibición de la expresión de estas moléculas en los macrófagos podría contribuir a una disminución de la presentación antigénica, una menor activación de los linfocitos T específicos, una menor producción de IFN $\gamma$  por éstos, y por tanto, un incremento en la supervivencia de la bacteria.

**A-18. Expresión del receptor tipo toll-2 (tlr-2) en monocitos de pacientes con tuberculosis (TB) y controles sanos (Informe Preliminar).**

M.C. Ruiz, M. Rojas, L. F. García.  
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** el TLR-2 (Receptor tipo Toll 2) pertenece a la familia de proteínas Toll, o Receptores de Patrones de Reconocimiento (PRRs) que reconocen estructuras moleculares compartidas por diferentes microorganismos o Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs), determinantes fundamentales de la respuesta innata. El TLR-2 se expresa principalmente en monocitos y reconoce glicolípidos y lipoproteínas, como lipoarabinoman manosilado (ManLAM) y lipoproteína 19KDa de *M. tuberculosis*. Este reconocimiento lleva a la producción de citoquinas, control de la micobacteria y apoptosis. El estudio de la inmunidad innata y de los TLRs es necesario para la comprensión de la patogénesis de la TB. **Objetivo:** comparar la expresión del TLR2 en monocitos (CD14+) en pacientes con Tuberculosis (n=10) y controles sanos (n=20). **Metodología:** se determinó la expresión de TLR2 y CD14 en células circulantes por citometría de flujo utilizando anti-TLR2 y anti-IgG-FITC murina y anti-CD14-PE. Según la distribución citofluorométrica por granularidad y tamaño se definió la región de los monocitos y en esta se analizaron porcentaje, número total de células e intensidad de fluorescencia de las células CD14+/TLR2+. **Resultados:** todos los monocitos CD14+ fueron TLR2+. No se observaron diferencias entre pacientes y controles en intensidad de fluorescencia y porcentaje, pero sí en el número total de células CD14+/TLR2+ (Controles: 290 $\pm$ 112 células/ $\mu$ L vs. Pacientes: 486 $\pm$ 301 células/ $\mu$ L) (p=0.03). **Discusión:** aunque el número de pacientes es todavía reducido, el aumento significativo en el número de monocitos CD14+/TLR2+ circulantes en pacientes con TB puede estar relacionado con una mayor actividad de estas células durante la enfermedad activa.

**A-19. Modulación de la expresión de receptores "scavenger" (SR) en células fagocíticas mononucleares humanas durante la respuesta a antígenos micobacterianos.**

L.G. León, L. F. García, M. Rojas.  
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

**Introducción:** los SR median la resolución de la inflamación mediante el reconocimiento de cuerpos apoptóticos. Su expresión está relacionada con el ambiente de mediadores como citoquinas y cobra capital importancia en el entendimiento de la patogénesis de enfermedades asociadas con acumulación de lípidos modificados. Se ha observado que la infección con *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) induce apoptosis en los macrófagos, pero se desconoce la suerte de los cuerpos apoptóticos infectados y como se modulan los SR durante la infección micobacteriana. **Metodología:** mediante citometría de flujo se comparó la expresión del CD36 y CD163 en monocitos CD14+ de pacientes con tuberculosis (TB) pulmonar y controles sanos tuberculino positivos (PPD+). Se evaluó *in vitro* la modulación de estos receptores en monocitos infectados con *Mtb* o estimulados con antígenos micobacterianos y la participación de otros receptores SR, de TNF $\alpha$  e IL-10 mediante ensayos de bloqueo. **Resultados:** aunque los pacientes y los controles tuvieron igual proporción de monocitos CD14+, en pacientes hubo menor expresión del CD36 y del CD163. La expresión de CD36, CD163 y otros SR, disminuyó durante la infección con *Mtb* y la estimulación con PPD, pero no después del tratamiento con *Mtb* inactivada por calor y ManLAM, el cual previno su regulación negativa durante la infección. Se observó que durante la infección micobacteriana, la expresión de los SR dependió de la producción de TNF $\alpha$  e IL-10. **Discusión:** estos hallazgos confirman la importancia de los SR durante la resolución de lesiones inflamatorias y evidencian su papel durante infecciones micobacterianas. *Financiado por la Fundación para la Investigación y la Tecnología.*