

## REVISIÓN DE REVISTAS

### **PERSISTENCIA BACTERIANA DENTRO DE ERITROCITOS: UNA ESTRATEGIA PATOGENICA ÚNICA DE *Bartonella* sp.**

**Bacterial persistence within erythrocytes: a unique pathogenic strategy of *Bartonella* sp.**  
Seubert A, Schulein R, Dehio C.  
*Int J Med Microbiol* 2002; 291: 555-60.

El género *Bartonella* típicamente invade eritrocitos en sus reservorios mamíferos. El avance de estudios de modelos de infección *in vivo* e *in vitro* y el desarrollo de herramientas para la manipulación genética de *Bartonella* ha permitido abordar el estudio de la patogenicidad de la bartonelosis.

*Bartonella* presenta un estilo de vida hemotrópico que se caracteriza por un prolongado periodo de parasitismo intra-eritrocitario. Uno de los mejores modelos para el estudio de este parasitismo es la infección de ratas con *Bartonella tribocorum*. En este modelo de infección, después de la inoculación de *B. tribocorum* se observa una rápida disminución de la bacteremia del torrente sanguíneo, reapareciendo después de 4 o 5 días de la inoculación. Se piensa que la *Bartonella* infecta un nicho primario el cual no se conoce, desde donde luego ingresa en oleadas al torrente sanguíneo cada 5 días. La bacteria en el torrente sanguíneo se adhiere e invade eritrocitos maduros, dentro de estos eritrocitos la *Bartonella* experimenta un corto periodo de multiplicación intracelular y que subsiste por ocho a diez semanas. Similares observaciones son descritas en el modelo murino de *B. grahamsii*.

Poco se conoce acerca de las bases moleculares que expliquen la capacidad de invasión a eritrocitos. Recientemente se ha descrito al locus *virB* en *B. henselae* y *B. tribocorum*; este locus es similar al sistema *VirB* de *Agrobacterium tumefaciens* el cual consiste de 11 proteínas que construyen un complejo poro que atraviesa la membrana externa e interna bacteriana y posiblemente la membrana celular del hospedero, permitiendo la translocación de proteínas directamente desde el citoplasma bacteriano al citoplasma del hospedero. También se ha descrito el gen *iba* de *B. henselae* que codifica una proteína autotransportadora; este gen es activado durante la etapa temprana de la invasión de los eritrocitos, pero rápidamente es reprimida después de la invasión; posiblemente la función de este gen es establecer la infección hemotrópica.

Estas observaciones dan nuevas luces de la patogenia de la bartonelosis. No se puede descartar que mecanismos homólogos puedan estar involucrados durante la infección de *B. bacilliformis* al hombre.

Revisado por Blgo. Carlos P. Padilla Rojas  
División de Biología Molecular  
Centro Nacional de Salud Pública  
Instituto Nacional de Salud

### **UN FACTOR DE VIRULENCIA NECESARIO PARA LA DISEMINACIÓN EXTRAPULMONAR DE *Mycobacterium tuberculosis*.**

**The heparin-binding haemagglutinin of *Mycobacterium tuberculosis* is required for extrapulmonary dissemination.**  
Pethe K, Alonso S, Biet F, Delogu G, Brennan MJ, Locht C, Menozzi FD.  
*Nature* 2001; 412(6843): 190-4.

Uno de los factores que hace que la tuberculosis sea tan difícil de tratar es la forma como *M. tuberculosis* se disemina desde los pulmones hacia otras partes del cuerpo. A pesar de la publicación de su genoma, el rol de la infección extrapulmonar en la reactivación de la enfermedad y los factores bacterianos implicados en ello continúan siendo desconocidos campos de estudio.

Recientemente, Kevin Pethe, del Instituto Pasteur, y sus colaboradores publicaron en *Nature* (Jul 12;412(6843):190-4) un artículo en el cual demuestran que el proceso de diseminación extrapulmonar desde el tejido pulmonar depende de la interacción entre una adhesina (HBHA) y células epiteliales del hospedero. Para ello, Pethe y col. generaron mutantes de *M. tuberculosis* y *M. bovis-BCG* con el locus *hbhA* (gen que codifica HBHA) anulado, con los cuáles realizaron ensayos de citoadherencia e invasión en cultivo de células tipo macrófagos y células epiteliales (neumocitos). Ensayaron también en ratones BALB/c, infectándolos intranasalmente y midiendo la recuperación de bacterias desde pulmones y bazo en varios tiempos. Finalmente, infectaron ratones con bacterias silvestres, con y sin anticuerpos monoclonales anti-HBHA (Ab-anti HBHA), y midieron la recuperación de bacterias desde pulmones y bazo.

Las cepas mutantes no disminuyeron en su capacidad para adherirse e invadir células tipo macrófago; sin embargo, la adherencia y la invasión en células neumocitos disminuyeron en 60% y 80%, respectivamente. Asimismo, los ensayos '*in vivo*' mostraron similares perfiles de colonización en los pulmones de las cepas mutantes y silvestres, mientras que en bazo, la cepa mutante presentó una reducida capacidad de persistencia. Por último, no existió diferencia significativa en la colonización pulmonar entre bacterias con y sin Ab-anti HBHA, aunque se observó una reducción de la colonización en el bazo de bacterias con Ab-anti HBHA.

Los resultados sugieren que la adhesina HBHA es requerida para la diseminación extrapulmonar y que su interacción con células no fagocíticas es importante en la patogénesis de la tuberculosis. Estos hallazgos deben ser el punto de partida para futuros experimentos con el fin de elucidar el mecanismo molecular por el cual el bacilo sale del tejido pulmonar y establece la invasión hacia otros tejidos extrapulmonares. Además, la presencia de la adhesina en otras micobacterias, tal como *M. leprae*, sugiere que ellos podrían compartir una misma vía de diseminación sistémica a partir de superficies mucosas, siendo un potencial blanco para el desarrollo de nuevas vacunas y drogas.

Revisado por Blgo. Christian Baldeviano Vidalón  
División de Biología Molecular  
Centro Nacional de Salud Pública  
Instituto Nacional de Salud

### **ABSORCIÓN APARENTE DE COBRE DE UNA DIETA VEGETARIANA**

**Apparent copper absorption from a vegetarian diet**  
Hunt JR, Vanderpool RA.  
*Am J Clin Nutr* 2001; 74(6):803-7.

Las dietas vegetarianas contienen frecuentemente más cobre que las dietas no vegetarianas, pero observaciones en la

disminución del cobre plasmático asociado a dietas vegetarianas sugieren que estas tienen más baja biodisponibilidad de cobre que las dietas no vegetarianas. Por tanto, el objetivo fue determinar la absorción aparente de cobre de dietas controladas lactoovovegetarianas (LOV) y dietas no vegetarianas (NV).

El estudio se efectuó en 18 mujeres de 20-43 años de edad que consumieron durante dos períodos de cuatro semanas cada uno, dietas LOV y NV, pesadas con anterioridad y asignadas al azar. Las dietas LOV y NV proporcionaron 1,45 mg y 0,94 mg de cobre, 38 g y 16 g de fibra dietaria, y 1584 mg y 518 mg de ácido fólico, respectivamente, por 9,2 MJ (2200 kcal). Después que las mujeres consumieron cada dieta por 4 semanas, se determinó la absorción aparente de cobre por medición en la excreción fecal del isótopo estable Cu<sup>65</sup>, extrínsecamente adicionado al menú como CuCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O.

La ceruloplasmina y el cobre plasmático no fueron afectados por la dieta. La eficiencia de absorción aparente de cobre de la dieta LOV fue menor (33%) que de la dieta NV (42%) (DS del pool: 9%; p < 0,05), sin embargo, como la dieta LOV contenía aproximadamente 50% más cobre, la absorción aparente total de la dieta LOV (0,48 mg/d) fue mayor que de la dieta NV (0,40 mg/d) (DS del pool: 0,09 mg; p < 0,05).

El trabajo concluye que el cobre fue menos eficientemente absorbido de una dieta vegetariana que de una dieta no vegetariana, siendo la absorción aparente total de cobre mayor en la dieta vegetariana por tener un contenido más grande de cobre.

Se demuestra claramente la influencia de la fibra dietaria y de los fitatos, como factores negativos para la absorción de micronutrientes minerales, específicamente cationes divalentes como el cobre.

*Revisado por Lic. Nutr. Iván Gómez-Sánchez Prieto  
División de Evaluación Sensorial y Transformación de Alimentos  
Centro Nacional de Alimentación y Nutrición  
Instituto Nacional de Salud*

## GUÍAS GENERALES DE MÉTODOS DE VALIDACIÓN PARA MUESTRAS FARMACÉUTICAS

### General method validation guidelines for pharmaceutical samples

Inman EL, Frischmann JK, Jimenez PJ, Dwinkel G, Persinger M, Rutherford B.

J Chromatographic Science 1987; 25: 252-6.

En este artículo los autores ponen en relevancia que la validación es parte fundamental en el desarrollo de un método analítico y que las guías sobre validación constituyen una importante ayuda para sistematizar el desarrollo de un método. Estas guías están organizadas sobre la base de la concentración del analito, la matriz y siete parámetros de validación: linealidad, precisión, recuperación especificidad, estabilidad de las soluciones a medir, límite de detección y efecto de la matriz, presentados en tres tablas interesantes que ayudan al diseño de un esquema de validación; asimismo, para cada parámetro de validación se presenta dos o tres procedimientos al escoger según la concentración del analito y su matriz.

Aquí hay dos parámetros importantes que resaltar: Primero, el efecto de la matriz que se refiere a las propiedades físico-químicas de un fármaco en relación con las sustancias químicas empleadas en su síntesis y, en general, a todos aquellos factores inmersos en el desarrollo mismo de un nuevo fármaco; y segundo, la estabilidad de las solu-

ciones para precisar el periodo dentro del cual se realizará la evaluación, sin que se perjudique la exactitud.

Sería importante considerar, además de los parámetros señalados en este artículo, el límite de cuantificación, indicado por la Farmacopea de los Estados Unidos.

Se concluye que la validación es única para cada método y debe ser consistente con el propósito del método, del analito y su matriz.

*Q.F. Luis Moreno Exebio  
Q.F. María Antonieta Niño de Guzmán  
Centro Nacional de Control de Calidad  
Instituto Nacional de Salud*

## INMUNODIFUSIÓN EN GEL AGAR CON POLISACÁRIDO DE MEMBRANA DE *Brucella abortus* CEPA 1119-3 PARA EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS BOVINA

Membrane polysaccharides of *Brucella abortus* 1119-3 in agar gel immunodiffusion test in diagnosis of bovine brucellosis.

Megid J, Ribeiro MG, Agottani JVB, Marcos G.

Arq Bras Med Vet Zootec 1999; 51(5): 433-7.

El estudio es una comparación del resultado del test de inmunodifusión en gel agar (IDGA) con los métodos convencionales de seroaglutinación rápida (SAR), seroaglutinación lenta en tubos (SAT), antígeno tamponado rosa de bengala (ATA), y 2 Mercaptoetanol (2-ME) para el diagnóstico de brucelosis.

La investigación se basa en los ensayos de extracción del lipopolisacárido POLI O obtenido de la membrana de *Brucella abortus* cepa 1119-3 y su aplicación en la técnica de diagnóstico de la brucelosis en hatos bovinos vacunados con *Brucella abortus* cepa 19 y bovinos infectados naturalmente.

Los resultados demuestran una alta especificidad, pero baja sensibilidad. La especificidad se verificó en la correlación de los resultados negativos del IDGA en sueros de animales vacunados que no presentaron infección. La sensibilidad de la prueba IDGA se correlacionó con un 75% en sueros de animales infectados con títulos mayores o iguales a 1/200 en relación con las pruebas de seroaglutinación de uso convencional. La sensibilidad se incrementó con sueros de títulos mayores a 1/200. Animales infectados con bajo título de anticuerpos no presentaron precipitación a la prueba IDGA.

Las reacciones de precipitación en la prueba IDGA fueron predominantes en sueros de títulos iguales o mayores a 1/200 con una correspondencia del 88,2% con el SAR, 60% con el SAT, y 68% con el 2-ME. Sólo en sueros de títulos mayores a 1/200 la correlación de las pruebas SAR, SAT, y 2ME fue del 90%. La correlación con el ATA fue del 58,9%.

Las dificultades en diferenciar las reacciones propias de una infección frente a reacciones post-vacunación se deben principalmente a la persistencia de las inmunoglobulinas en animales vacunados con la cepa 19, lo que representa un serio problema en el control y erradicación de la brucelosis en los países que utilizan las vacunas atenuadas aglutinogénicas.

Es por ello que resulta una buena opción la utilización de diferentes protocolos de extracción de antígenos de la membrana de *Brucella* sp para la prueba IDGA como un método alternativo para el control y diagnóstico de la brucelosis en hatos bovinos vacunados.

*Revisado por M.V. Marlene Cárdenas Canales  
Centro Nacional de Producción de Biológicos  
Instituto Nacional de Salud*