
RESÚMENES DE TESIS DE POSGRADO

Obtención de ADN a partir de estructura dentaria para identificación humana en casos forenses

Autora: Piedad Malaver C.

Director: Hugo Díez

El presente trabajo se llevó a cabo para determinar, si los diferentes tejidos dentales (pulpa, dentina y cemento) son fuente de ADN (ácido desoxirribonucleico) en muestras forenses. Se analizaron 20 dientes obtenidos de exhumaciones llevadas a cabo en el año 2000 de cadáveres no identificados (NN) inhumados en bóvedas en el cementerio central de Bogotá, en el año 1995. Mediante corte sagital se expuso la cavidad pulpar de cada estructura dental encontrándose tejido pulpar solamente en 5 de los 20 dientes analizados. La dentina y el cemento fueron retirados con pieza de mano de alta velocidad, utilizando fresas de carburo y refrigeración con agua estéril. Como control positivo de los tejidos dentales se utilizaron 3 dientes sanos extraídos en acto quirúrgico. El ADN se obtuvo de las muestras mediante extracción orgánica previa descalcificación con EDTA, cuantificado mediante la utilización de una sonda que reconoce una secuencia repetitiva en el ADN de primates superiores y humanos y posteriormente amplificado con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la región hipervariable II del ADN

mitocondrial. El producto de amplificación se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa, comparando la intensidad del fragmento amplificado de cada uno de los tejidos analizados. La señal de amplificación fue mayor en tejido pulpar seguido de dentina y cemento, lo que sugiere que los odontoblastos y cementoblastos que componen la dentina y cemento respectivamente se encuentran protegidos por tejidos mineralizados lo cual hace a las estructuras dentales y sus tejidos resistentes a los estados de putrefacción y factores ambientales que sufre el cuerpo inhumado, permitiendo obtener ADN para ser aplicado en identificación humana en casos forenses.

Detección del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (SRRP) y de la peste porcina clásica (PPC) en muestras de cerdos mediante la técnica RT-PCR anidada

Autora: Ángela María Lora Martínez

Director: José Darío Mogollón Galvis

El propósito de este trabajo de investigación fue detectar el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (SRRP) y el virus de la Peste Porcina Clásica (PPC) en muestras clínicas como: semen, suero y tejidos, de cerdos mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa anidada (RT-PCR). En este tra-

bajo se realizaron dos ensayos, uno experimental en el cual se estudió la respuesta serológica de lechones convencionales infectados experimentalmente con el virus del SRRP y al mismo tiempo se detectó mediante la técnica de RT-PCR, la presencia del genoma viral en los tejidos. Los resultados obtenidos a partir de este ensayo demuestran que el virus del SRRP hace viremia y se disemina a los órganos linfoides antes que el cerdo haya producido anticuerpos. La viremia fue detectada desde 7 días posinoculación y los anticuerpos hasta el día 9 posinoculación.

Por otro lado, se realizó un estudio tomando muestras al azar de semen y suero de reproductores, aparentemente sanos, en condiciones de campo de diferentes granjas del país. A estas muestras se les realizó estudio serológico, utilizando la prueba de ELISA para el SRRP y PPC, aislamiento viral para el SRRP en células MARC-145 y RT-PCR para el virus del SRRP y de la PPC. Los resultados de este ensayo demostraron que la presencia de anticuerpos contra el virus del SRRP, no necesariamente indican que el cerdo esté cursando o no con un proceso infeccioso; ya que se presentan valores S/P de ELISA variados. En cuanto al ELISA de PPC, los anticuerpos son altos en la mayoría de las muestras, debiéndose esto probablemente a la vacunación. No se logró aislar el virus del SRRP en las muestras de suero mediante el cultivo celular. El ARN viral del SRRP y del virus de la PPC se detectó en el semen de algunos reproductores; pero no se logró detectar en suero. Este resultado nos indica que el virus del SRRP y de la PPC, puede encontrarse persistentemente en el semen de cerdos reproductores, pudiendo actuar como portadores sanos, convirtiéndose en una fuente de infección para otros animales susceptibles.

Expresión de moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) en pacientes con periodontitis agresiva y periodontitis crónica

Autor: Ricardo Ernesto Dueñas Villamil

Directora: Adriana Rodríguez Ciódaro

La enfermedad periodontal es una patología multifactorial, de carácter infeccioso, donde la interacción de los mecanismos de defensa del huésped con el *biofilm* bacteriano es responsable de la destrucción de los tejidos de soporte del diente; su patogénesis aún no ha sido esclarecida. Para que las células de defensa lleguen al sitio donde son necesitadas requieren de la expresión en el endotelio vascular, tejido conectivo y epitelio de unión de proteínas de adhesión intercelular, como el ICAM-1. No es claro aún la inmunolocalización de la expresión de estas moléculas en el tejido gingival. El propósito de este estudio fue describir la ubicación de ICAM-1 en biopsias gingivales de 10 pacientes con periodontitis agresiva, 8 pacientes con periodontitis crónica y 8 individuos sanos, mediante la técnica de inmunohistoquímica y análisis morfométrico utilizando un programa de análisis de imágenes por computador.

Se encontró alto infiltrado inflamatorio en el conectivo subyacente al epitelio de unión y en el conectivo profundo de los pacientes con periodontitis agresiva y crónica y menos cantidad de infiltrado en los individuos sanos. La inmunolocalización del ICAM-1 se observó en epitelio de unión, conectivo subyacente y conectivo profundo en los tres grupos. El ICAM-1 se inmunolocaliza en mayor cantidad en conectivo profundo tanto de pacientes con periodontitis agresiva, periodontitis crónica como en individuos sanos periodontalmente, sin existir diferencias

estadísticamente significativas. La más alta diferencia de expresión de ICAM-1 está en epitelio de unión de las tres patologías, con mayor expresión en los individuos sanos. Existe gran variabilidad biológica en la expresión de estas moléculas dentro de los pacientes en los diferentes grupos y no se observa un patrón claro de expresión.

Detección de glucosiltransferasa B en cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de pacientes sanos

Autora: Silvia Barrientos S.

Directora: Adriana Rodríguez Ciódaró

Desde la determinación del *Streptococcus mutans* como el agente infeccioso etiológico de la caries dental han sido estudiados en profundidad dos de sus factores de virulencia: la proteína PAC y la GTF B, buscando en ellas los antígenos que permitan la obtención de una vacuna contra la enfermedad. Las glucosiltransferasas son tres enzimas GTF B, GTF C y GTF D producidas por el microorganismo que desdoblan la sacarosa, sintetizando glucanos insolubles que sirven para dar soporte la placa bacteriana y glucanos solubles que son fuente nutricional para los microorganismos que allí se encuentran. Estudios anteriores han demostrado como estreptococos genéticamente manipulados para evitar la producción de GTF B pierden su capacidad de adhesión y agregación en la placa. A cada individuo se le tomó una muestra de placa bacteriana para aislar *S. mutans*. Las proteínas fueron obtenidas por precipitación con sulfato de amonio para las extracelulares y extracción con urea para las proteínas asociadas a membrana y separadas por SDS-PAGE. La presencia de GTF B fue determinada por Western Blot y la producción de polisacáridos por separación electroforética incubación con sacarosa y coloración de Schiff. Los resultados muestran como en estos individuos en su gran mayoría los *Streptococcus mutans* expresan la enzima y

producen polisacáridos aunque existen cepas no productoras de GTFB con capacidad de sintetizar glucanos probablemente gracias a la GTF C. Esto evidencia cómo estos factores de virulencia son de alguna manera controlados por la producción de dextranasas, proteínas inhibitorias de la actividad enzimática o a la actividad de la inmunoglobulina A del huésped. La existencia de cepas no productoras indica que hay condiciones en la boca que favorecen cambios genéticos tales como mutaciones en la bacteria y que a pesar de éstas, la cepa puede sobrevivir en el medio oral sin ser altamente patógeno. Se abren así perspectivas con respecto al estudio de otras proteínas como la GTF C como blanco de una vacuna contra la caries teniendo en cuenta que esta enzima, también secretada por el microorganismo tiene una doble función en la adhesión y mantenimiento de la placa bacteriana por su capacidad de producir glucanos tanto solubles como insolubles.

Actividad de fosfatasa alcalina como marcador de osteogénesis en cultivos de fibroblastos estimulados con campo eléctrico

Autor: Arturo Rey

Director: Leonardo Lareo

Se ha demostrado que la presencia de fosfatasa alcalina (FA) en la matriz extracelular del hueso es indispensable para su formación y desarrollo. Tradicionalmente se ha atribuido este papel al osteoblasto, sin embargo, en publicaciones recientes se ha evidenciado que los fibroblastos pueden llegar a sintetizar FA. En el presente estudio se tomaron cultivos de fibroblastos y se estimularon durante cuatro días con cuatro tipos diferentes de campo eléctrico, corriente alterna (AC) y corriente directa (DC); 10 mV y 20 mV con variación en el tiempo diario aplicación del estímulo (3, 6 y 12 horas/día). La aplicación del campo se inició en estado de monocapa y se midieron las siguientes variables: actividad de FA, prolife-

ración celular, viabilidad celular, morfología celular. Se observó la mayor actividad de FA con el campo de 10 mV AC durante 6 horas, la mayor proliferación se observó con el campo de 20 mV AC 12 horas. No se encontraron efectos secundarios indeseables en las células estimuladas.

Estimación de la frecuencia de hemoglobinopatías en niños de ambos sexos de uno a diez años de edad que consultan a los hospitales: Pediátrico y General de Barranquilla

Autor: Jaime Ayala Oviedo

Director: Carlos Corredor P.

Se realizó un estudio destinado a determinar la frecuencia de hemoglobinopatías en 400 niños de la ciudad de Barranquilla. La frecuencia encontrada fue del 5,5% en los niños estudiados. La Hb AS se identificó en 4,2%; Hb AD en 0,2%; Hb AC en 0,2; portador de alfa-talasemia en 0,5% y portador de beta-talasemia en 0,2%. Los resultados indican que las hemoglobinopatías representan un problema de salud pública en esa región de Colombia.

Baculoviruses as biological insecticides

Autora: Zaida Zarely Ojeda P.

Directores: Pedro J. Rocha S. & Hugo Calvache

Los baculovirus son una familia de virus de ADN de doble cadena que infectan específicamente insectos y algunos crustáceos. Dentro de los patógenos utilizados para controlar plagas en los cultivos, los baculovirus han sido usados ampliamente porque tienen la capacidad de controlar la especie plaga sin generar patogenicidad cruzada a otras especies no blanco, las cuales pueden actuar como enemigos naturales de las mismas plagas. En esta revisión se presentan las características generales de los baculovirus

y su uso como bioinsecticidas. Asimismo, algunos de los resultados obtenidos en investigaciones realizadas por Cenipalma relacionadas con la multiplicación *in vitro* de baculovirus. Finalmente se mencionan algunas consideraciones generales que se pueden tener en cuenta para continuar utilizándolo como bioplaguicida potencial para el control de plagas en los cultivos, especialmente en el de la palma de aceite.

Obtención de un biopreparado a partir de cepas nativas de levaduras para ser utilizado en animales monogástricos

Autor: Andrea Aguirre

Director: Raúl Poutou

Las levaduras del género *Saccharomyces* han sido utilizadas para el tratamiento y prevención de desórdenes intestinales en animales y humanos. Entre los microorganismos capaces de causar importantes patologías en aves de corral se encuentran *E. coli*, *Salmonella sp.* y *Shigella sp.* El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad probiótica de dos cepas nativas de levaduras (Cepa A y Cepa C) y un producto comercial (Cepa B). Las cepas fueron conservadas en glicerol 30% p/v a -70°C mediante la elaboración de un Banco de Células Primario (BCP). Las levaduras fueron evaluadas de acuerdo a la tolerancia a pH, temperatura de crecimiento y concentraciones de sales biliares. Se realizaron pruebas *in vitro* de antagonismo y adherencia frente a patógenos. Adicionalmente con cada cepa se realizaron cinéticas de crecimiento en 100 ml, 30°C 250 r.p.m. a diferentes pH (5.0, 6.0 y 7.0 +/-0.2) y diferentes concentraciones de glucosa (10, 20 y 30 g/L) con el fin de establecer parámetros cinéticos ajustados a modelos matemáticos para determinar (μ , μ_{max} , KS, Td y I.Dop/s) que permitieran escoger la mejor cepa y las condiciones de crecimiento. Los mejores datos de capacidad probiótica así como los valores de rendimiento en biomasa fue el obtenido por la cepa A a pH 5.0 2g/L de

glucosa, 30°C, 250 r.p.m. Bajo estas condiciones se hicieron dos réplicas escala de laboratorio (1L) en fermentador, obteniendo valores reproducibles. La biomasa obtenida fue secada a 2 temperaturas estableciendo que las células permanecen puras y viables en un proceso de secado a 37°. Finalmente se evaluó el contenido proteico de la biomasa obtenida húmeda y seca obteniendo valores inferiores al 40%.

Contribución al estudio del potencial antibacteriano de *Lepechinia schiedeana* frente a diversos microorganismos grampositivos asociados a flora oral potencial antibacteriano de *Lepechinia schiedeana*

Autor: Juan Carlos Pulido Caballero

Director: Rubén Torrenegra

A partir de especímenes de *Lepechinia schiedeana* y por medio de técnicas de extracción por reflujo, se obtuvo un extracto metanólico, al que se aplicó la técnica de fraccionamiento líquido - líquido de polaridad ascendente para obtener fracciones diclorometano, éter de petróleo y acetato de etilo. Tanto el extracto como las fracciones fueron sometidos a pruebas biológicas, con el fin de evaluar su acción antibacteriana frente a diversos microorganismos Grampositivos como *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Lactobacillus sp.*, *Bacillus subtilis*, *S. pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*. La fracción diclorometano en rangos de concentración de 125 - 5.2 mg/ml diluidos en dimetil sulfoxido (DMSO) mostró actividad inhibitoria ante todos los microorganismos Grampositivos evaluados. La fracción acetato de etilo a una concentración de 125 mg/ml también mostró actividad inhibitoria frente a todos los microorganismos Grampositivos usados en la prueba. La fracción éter de petróleo a la misma concentración sólo tuvo acción contra *S. mutans*. El extracto total metanólico a una concentración

de 125 mg/ml presentó actividad inhibitoria sólo frente a *S. mutans* y *S. pyogenes*.

Se tomaron como grupo control diversos microorganismos Gramnegativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis*, y como microorganismo Grampositivo *Listeria monocytogenes*, sobre los cuales no hubo efecto del extracto total ni de las fracciones a una concentración de 125 mg/ml. La fracción diclorometano tuvo una actividad moderada contra *Listeria monocytogenes*.

Se realizó una prueba comparativa de sensibilidad con la crema dental Parodontax®, dos enjuagatorios orales (clorhexidina digluconato y bencidamina clorhidrato) y un antiséptico de uso tópico (yodo-povidona) a una concentración de 125 mg/ml diluidos en DMSO. De este grupo la bencidamina no mostró ninguna actividad antibacteriana, la crema dental Parodontax® tuvo una actividad moderada, mientras que la Yodo-povidona y la Clorhexidina tuvieron una mayor actividad, aunque en menor proporción a la fracción diclorometano de la planta.

Relación clonal de cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de cavidad oral de niños predentales y sus madres

Autor: María Cecilia Martínez

Director: Adriana Rodríguez

Los estreptococos del grupo *viridans* son los microorganismos más implicados en la etiología de la caries dental, siendo *S. mutans* y *S. sobrinus* las especies más asociadas y estudiadas.

Existe evidencia de que una de las rutas más comunes de contagio es el paso por contacto directo de la madre al hijo durante el tiempo en el que aparece el primer diente en boca. Por otro lado, también existe evidencia sobre la aparición de estos microorganismos antes

de que el primer diente erupcione y de que puede ser adquirido de fuentes diferentes a la madre, ya que los genotipos de *S. mutans* presentes en los niños no siempre coinciden con los de sus madres.

Teniendo en cuenta que la identificación tanto de la edad como de las fuentes de contagio puede permitir una aplicación más acertada de diferentes métodos preventivos, se llevó a cabo un estudio descriptivo observacional, en el que fueron analizadas 120 muestras, 60 procedentes de la cavidad oral de neonatos predentales y 60 procedentes de las madres de los neonatos.

De las muestras maternas 86.6% presentaron el microorganismo y de las muestras de los

bebés el 20%. Los aislamientos procedentes de los niños portadores del microorganismo y sus madres fueron sometidos a análisis del ADN cromosomal por fingerprinting (RFLPs) usando la enzima HaeIII. Por medio de este análisis se determinó que 8 bebés presentaron clones relacionados genéticamente con los de sus madres, mientras que 3 bebés presentaron clones no relacionados con los maternos.

Estos resultados permiten un acercamiento inicial al comportamiento de este microorganismo en la población colombiana y lleva a la necesidad de seguir determinando su conducta, iniciando esta búsqueda en la etapa pre dental debido a los indicios positivos de su presencia en esta población.

FE DE ERRATA

Volumen 8 No. 1 - 2003

Resúmenes de trabajos de grado meritorios

Embriogénesis somática y regeneración de plantas en cuatro selecciones colombianas de *Carica papaya* L.

Autora: ANDREA PINZÓN REYES

Directora: LILIAN DUPLAT BERMUDEZ