

Factores determinantes de tuberculosis entre los indígenas Warao del Delta Venezolano: genética e inmunidad

Zaida Araujo-García¹

zaraujogarcia@yahoo.com

<https://orcid.org/0000-0001-6676-0449>

Aime Tillett^{1,2}

aimetillett@gmail.com

Jacobus H. De Waard¹

jacobusdeward@gmail.com

¹ Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit", Universidad Central de Venezuela.

² Escuela de Antropología, Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN

En Venezuela existen 724.592 habitantes de los 52 pueblos indígenas venezolanos; los indígenas Warao el segundo pueblo más importante del país, fueron conocidos en la literatura histórica y antropológica de los siglos XVI-XX como Guaraunos; no obstante, su auto denominación es la voz: Warao; su significado: "dueños de la canoa". El pueblo Warao habita principalmente en las islas y caños del delta del río Orinoco, estado Delta Amacuro. Su contacto con las infecciones ha sido reciente luego del acceso de tanto los Criollos como de los misioneros europeos que arribaron a sus comunidades luego de que permanecieron aislados por mucho tiempo. Trabajo sobre la cultura Warao deja saber desde 1980, que los Warao sufrían y morían en forma trágica de enfermedades tales como; la tuberculosis, el catarro, la viruela, el sarampión y los padecimientos gastrointestinales. La poca difusión y el marginamiento al que ha sido relegado el conocimiento del sufrimiento de las enfermedades de nuestras comunidades indígenas, es el motivo por el cual queremos hacerlas del conocimiento no solo a los especialistas sino a un numeroso público, que aún las desconoce. El objetivo de la presente información en salud alrededor del pueblo Warao, es darla a conocer a las autoridades sanitarias con la finalidad de que se implementen las medidas para el control de la tuberculosis. Los resultados presentados de manera resumida y derivados de las investigaciones científicas apoyadas por el Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit", nos han permitido avanzar en el conocimiento para entender que factores de riesgo como; genéticos, inmunológicos y ambientales están contribuyendo a que permanezca una alta prevalencia de tuberculosis entre los indígenas Warao.

Palabras clave: Indígenas Warao; Delta Amacuro; Tuberculosis; Respuesta inmune; Genética.

DETERMINANT FACTORS OF TUBERCULOSIS AMONG WARAO INDIGENOUS FROM THE VENEZUELAN DELTA: GENETIC AND IMMUNITY

ABSTRACT

In Venezuela there are 724,592 inhabitants from 52 indigenous groups of Venezuela;

Warao indigenous is the second most important ethnic of the country, they were known in the history and anthropological literature of the XVI-XX centuries like Guaraúnos; however, their autonomination is the voice: Warao, its means “dueños de la canoa”. They mainly live at the Venezuelan Orinoco delta. Historically, indigenous peoples suffered enormously after contact with western cultures. The Warao population remained largely isolated for millennia and largely unknown due to its their difficult swampland habitat, so it is possible to think that their contact with infections has been very limited until recently, when their contacts with individuals of European descent increased and when “Criollos”, members of the Venezuelan population, and missionaries have entered their habitat in sizable numbers. Previous reports in 1980 describe the existence of deaths derived from epidemics of smallpox, measles, plague, tuberculosis and gastrointestinal problems. The aim of studies was advancing in the knowledge of the risk factors such as; genetic, immune and environment, which are attributable to proximate determinants, given their prevalence and the epidemiological evidence linking them to tuberculosis among Warao from the Venezuelan Orinoco delta. As regards to health conditions among Warao indigenous has proven to be a growing challenge, the findings derived from scientific investigations, which had been supported by Dr. Jacinto Convit' Biomedicine Institute, could suggest that sanitary authorities to track the status of Warao indigenous health for implementing and improving tuberculosis surveillance.

Keywords: Warao indigenous; Tuberculosis; Delta Amacuro; Immune response; Genetic.

INTRODUCCIÓN

Gran parte de las sociedades nativas de América desaparecieron luego del contacto con las enfermedades del viejo mundo. Se estima que la población amerindia se redujo en 90% por efecto de epidemias contra las que no tenían inmunidad ni conocimientos para enfrentarlas. Los pueblos indígenas que lograron sobrevivir resultaron profundamente afectados y tuvieron que aislarse o migrar para alejarse de las zonas de conflicto con los europeos, experimentando una lenta recuperación. Sin embargo, desde mediados del siglo XX las poblaciones indígenas latinoamericanas y del Caribe

han experimentado un aumento poblacional de más del 70% y hoy se estiman en unos 48,4 millones de personas divididos en 400 grupos indígenas. Cinco países agrupan casi el 90% de la población indígena regional: Bolivia, Guatemala, Perú, Ecuador y México (Montenegro y Stephens, 2006).

En Venezuela, los pueblos indígenas han tenido un rápido crecimiento en las últimas décadas, debido en gran medida al acceso a servicios de salud, en especial a la vacunación. Este es, de hecho, uno de los principales estímulos para el acercamiento de sus comunidades a la sociedad nacional y uno de sus principales reclamos (Freire, 2007). Algunas enfermedades infecciosas endémicas constituyen un problema de salud pública en las zonas indígenas del país, entre estas la tuberculosis (TB). Los territorios inexpugnables del Delta no sólo impidieron que los colonizadores españoles alcanzaran a los indígenas Warao, también limitan actualmente el acceso a los servicios de salud y a servicios sanitarios básicos.

POBLACIÓN INDÍGENA WARAO: UBICACIÓN GEOGRÁFICA, HISTORIA Y DEMOGRAFÍA

De acuerdo con el Censo Nacional de Población del año 2011, los indígenas de Venezuela totalizaron 724.592 personas, pertenecientes a 52 pueblos indígenas que corresponden al 2,7% de la población nacional. El pueblo indígena con mayor población es el Wayúu (57% de la población indígena); y el segundo es el Warao, con 48.771 habitantes (6,7%) (INE 2015). La población Warao se distribuye principalmente en el estado Delta Amacuro, donde habitaban 40.280 personas (83% del total), estando también presentes en los estados Monagas, Bolívar y Sucre. En el estado Delta Amacuro se distribuyen principalmente en el municipio Antonio Díaz, donde residen el 59%; le siguen Túcupita (29%), Pedernales (11%) y Casacoima (1%), (INE, 2011). Los Warao están establecidos en, al menos, 459 comunidades, y la mayoría de los asentamientos están habitados por 50 a 250 individuos, aunque existen comunidades con más de 500 habitantes (Ayala y Wilbert, 2012; INE, 2018).

Su economía de subsistencia se basaba en la pesca y la recolección de productos selváticos. El idioma Warao es una lengua clasificada como aislada o

independiente, con tres variantes dialectales principales comprensibles entre sí (Ayala y Wilbert, 2012). Su territorio ancestral es el “propio delta”, una llanura de unos 22.500 km² demarcada por el caño Manamo en el oeste, el Río Grande al sur y el océano Atlántico, que bordea todas sus costas.

La expansión de la actividad petrolera y la contaminación ambiental provocada en el delta, tuvieron profundos impactos en la vida Warao. El cierre del caño Manamo en 1965, afectó a cientos de indígenas del Delta occidental y el estado Monagas, que se vieron obligados a emigrar hacia Túcupita y otros centros urbanos (Ayala y Wilbert, 2012).

La epidemia de cólera entre 1992 y 1993, cobró la vida de cerca de 500 Warao, forzando a cientos de personas a desplazarse en busca de atención (Briggs y Mantini, 2004). Otros se asentaron en las inmediaciones del basurero de Cambalache, cerca de Puerto Ordaz, para dedicarse a la recuperación de desechos; y también se han incorporado como mano de obra en las minas ilegales de oro del estado Bolívar.

Durante los últimos cinco años, la crisis económica, la creciente situación de inseguridad alimentaria y hambre, la falta de acceso a servicios de salud y medicinas, impulsaron a muchos Warao a emigrar, principalmente hacia Brasil, en busca de ayuda y refugio. Para el año 2018 se estimaba que más de 3.000 Warao se encontraban en ciudades del norte de Brasil como Pacaraima, Boa Vista, Manaos, Santarém y Belém de Pará (García-Castro, 2018).

CONDICIONES DE VIDA Y SITUACIÓN GENERAL DE SALUD DEL PUEBLO WARAO

Los datos del Censo del 2011, demuestran las grandes brechas e inequidades en las condiciones de vida de las comunidades Warao del estado Delta Amacuro, respecto a la población Criolla de la misma entidad, y a los indicadores promedio a nivel nacional. Se observa que las condiciones de vida del pueblo Warao se caracterizan por el mayor promedio de personas por hogar a nivel nacional (5,4), una elevada proporción de hogares presentando hacinamiento (51%), déficit de servicios de saneamiento básico (69%), falta de acceso al agua potable (86%), carencia de sistemas de aguas servidas (85%), y manejo de

desechos (96%), las mayores tasas de población analfabeta (58%), de hogares con niños que no asisten a la escuela (20%), los más altos niveles de pobreza (28%) y pobreza extrema (55%) del país (INE, 2011).

La principal dificultad para conocer la situación de salud del pueblo Warao es la falta de acceso a la información epidemiológica oficial, la cual se encuentra censurada por el Estado venezolano. Antecedentes tempranos relacionados con la salud de los indígenas Warao refieren que dentro de las comunidades Warao se observaba al indígena postrado por el hambre y las enfermedades provocadas mayormente por la TB, el catarro, la viruela, el sarampión y los padecimientos gastrointestinales (Barreto *et al.*, 1980).

Las causas de morbilidad registradas en pacientes Warao que acudieron al hospital “Luis Razetti” de Túcupita entre 2015 y 2017 fueron: síndrome diarreico (34% de los casos), deshidratación (13%), infección respiratoria (10%), neumonía (10%) y desnutrición (9%). Las siguientes causas en orden de importancia fueron: síndrome emético, anemia, síndrome doloroso abdominal, síndrome febril, síndrome coqueluchoides, TB, VIH, intolerancia oral, bronquiolitis, paludismo, bronconeumonía y emponzoñamiento ofídico (MPPS, 2015-2017).

Uno de los más graves problemas de salud en la actualidad es el VIH-Sida, que se identificó por primera vez entre los indígenas Warao en el año 2007; la epidemia tuvo una evolución explosiva, duplicando el número de infectados cada 10 meses y en aproximadamente una década el 9,55% de la población había sido infectada (Villalba *et al.* 2013). Estas cifras representan una prevalencia dramáticamente elevada, aproximadamente 10 veces mayor a la mundial, lo cual puede ser devastador para este pueblo indígena (de Waard *et al.*, 2017).

Las causas de mortalidad en indígenas del estado Delta Amacuro, en el año 2013 fueron: diarrea, gastroenteritis y otras enfermedades infecciosas intestinales (24%), infecciones respiratorias agudas y otras enfermedades respiratorias (12,2%), enfermedades del corazón (9,2%) y enfermedad por VIH (7,7%). Otras causas en orden de importancia fueron

cáncer, causas externas, enfermedades del sistema digestivo, desnutrición y ciertas afecciones originadas en el período perinatal. También se notificaron muertes por TB respiratoria, complicaciones del embarazo, parto y puerperio y tos ferina (MPPS, 2015b).

Delta Amacuro presenta las mayores tasas de morbilidad ($65,6 \times 100.000$) y mortalidad ($6,1 \times 100.000$) por TB a nivel nacional (MPPS 2015a, MPPS 2015b), pero la mayoría de los casos notificados en la entidad corresponden a indígenas Warao (82%). La población Warao de Delta Amacuro presenta las tasas de TB más altas registradas en el país, con una prevalencia alarmantemente elevada en menores de 15 años (Fernández de Larrea *et al.*, 2002).

ESTUDIOS DE LOS FACTORES DETERMINANTES DE TUBERCULOSIS EN LOS INDÍGENAS WARAO

Condiciones y susceptibilidad a la tuberculosis

Para 1999 Venezuela reportó una tasa de prevalencia de $26,1/100.000$ habitantes. A diferencia de otros estados del territorio nacional, en Delta Amacuro hay un alto número de habitantes indígenas, los indígenas Warao, por lo tanto, podría decirse que las altas tasas obtenidas en este estado se deben esencialmente a su estructura poblacional indígena (MSAS, 1999). El estado Delta Amacuro, para el año 1998, tenía la tasa de prevalencia más alta de TB en Venezuela, con $54,6/100.000$ habitantes, incrementándose a $93,2/100.000$ habitantes en el año 1999, con 124 casos registrados. (MSAS, 1999).

El incremento de esta tasa fue debido al diagnóstico y registro de los casos de TB por las campañas de pesquisa realizadas durante ese período en dicha población por el Laboratorio de Tuberculosis del Instituto de Biomedicina, liderizado por el Dr. Jacobus H. de Waard, en conjunto con el Programa Regional de Control de la TB del estado Delta Amacuro. Aún así, se piensa que la tasa debe ser más alta, debido al subregistro que suele ocurrir en estos tipos de poblaciones. Aunado al aporte del Laboratorio de Tuberculosis, estuvo el interés del equipo del Laboratorio de Inmunología de Enfermedades Infecciosas, liderizado por la Dra. Zaida Araujo; para conocer las condiciones inherentes al ser humano, en

este caso de los indígenas Warao, que podrían estar asociadas a diferencias genéticas, específicamente a nivel del sistema inmunitario de esta población indígena en comparación con la Criolla, esto basado en los hallazgos derivados de los estudios inmunogenéticos realizados en los indígenas Warao y la población Criolla, que fueron llevados a cabo por la Dra. Zulay Layrisse en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), y publicados en los años 1988 y 1997, los cuales mostraron que existen diferencias inmunogenéticas entre ambas poblaciones; herencia y segregación de DW, un antígeno clase II, de los Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA o Human Leukocyte Antigens), actualmente conocido como Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), haplotipos del HLA, definidos en desequilibrio de ligamiento, solamente con células homocigotas de origen Warao y asociaciones DR/DQ no vistas o descritas previamente en otras poblaciones humanas (Layrisse *et al.*, 1988; Makhatadze *et al.*, 1997). Esta condición encontrada en los indígenas Warao podría predisponer a la susceptibilidad a las infecciones, entre ellas a la debida por *Mycobacterium tuberculosis*, lo cual habría que demostrarlo y este fue el reto que asumió nuestro equipo junto con el Laboratorio de Tuberculosis.

PREVALENCIA DE INFECCIÓN ACTIVA POR M. TUBERCULOSIS

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), para el 2006 Venezuela poseía una tasa estimada de incidencia y de prevalencia de TB que hacía que ocupara la cuarta posición en Suramérica. En agosto de ese mismo año, el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS), publicó el Anuario de Mortalidad 2005, en el cual se refleja a la TB como la decimoctava causa de muerte a nivel nacional (MSDS, 2006); además, según datos del Instituto Nacional de Estadísticas (INE), y la Coordinación del Programa de Control Regional de Tuberculosis del estado Delta Amacuro; desde el año 1999, el estado Delta Amacuro lideriza con las prevalencias de TB más altas del país, siendo el Municipio Antonio Díaz el más afectado; esto debido a la contribución de los resultados obtenidos de proyectos de investigación llevados a cabo por el

Laboratorio de Tuberculosis, los cuales permitieron conocer la muy alta prevalencia de TB que presentaba el estado Delta Amacuro para el año 2000, especialmente en comunidades del Municipio Antonio Díaz (INE, 2007; MPPS, 2007).

La poca difusión y el marginamiento a que ha sido relegado el conocimiento del padecimiento de las enfermedades de nuestras comunidades indígenas; fue el motivo por el cual quisimos comenzar las primeras investigaciones, las cuales estuvieron dirigidas a conocer la prevalencia de la TB entre la población Warao infantil de las comunidades del Municipio Antonio Díaz. En vista de que en Venezuela no existía publicado antes del año 2000, un sistema de puntuación para el diagnóstico de TB infantil en zonas rurales con infraestructuras inadecuadas, y menos aún, un sistema validado, apto para ser implementado en las comunidades indígenas Warao o rurales con alta prevalencia de TB en adultos. El equipo de trabajo desarrolló a partir del año 1999 una metodología sencilla para diagnosticar TB infantil en la población Warao, aplicando parámetros epidemiológicos y criterios clínicos en una población total de 502 niños Warao provenientes de San Francisco de Guayo y comunidades vecinas; a partir de los 502 niños evaluados, se seleccionaron 27 niños menores de 15 años con una clínica compatible con pacientes con TB. Los resultados obtenidos, cuando se utilizaron métodos clínicos, microbiológicos e inmunológicos de tipo humoral, mostraron que entre los niños con radiología patológica, 7 (43%) tenían una o más confirmaciones adicionales: 3 (42%) pacientes fueron positivos por BK/cultivo y 5 (71%) por serología, estos resultados permitieron establecer que la prevalencia de TB infantil en niños de 0 a 15 años era de 3,2%; equivalente a una altísima tasa de 3190/100.000 niños (Fernández de Larrea *et al.*, 2002). En conclusión, la metodología simple desarrollada para detectar TB en niños demostró su utilidad; se recomendó que la misma debe ser aplicada en toda la población infantil Warao, y que debe hacerse el seguimiento de los casos y la investigación de contactos de cada uno de los pacientes adultos diagnosticados en la búsqueda activa y continua de esta enfermedad.

VALORES HEMATOLÓGICO Y COMPLEMENTO

En vista de que existen diferencias inmunogenéticas entre la población Warao y la Criolla; quisimos evaluar los valores de los parámetros hematológicos de dos poblaciones diferentes con TB; la población de los indígenas Warao e individuos Criollos. Se estudiaron pacientes y controles Warao y Criollos adultos, y niños controles Warao. Ambos grupos de Warao; pacientes y controles presentaron valores significativamente bajos tanto de concentración de hemoglobina corpuscular media como de la hemoglobina, la cual se correlacionó con una hipocromía eritrocitaria, en comparación con los dos grupos de Criollos.

A diferencia de los Criollos, los niños Warao al igual que los adultos Warao, aún en ausencia de enfermedad presentaron una fórmula leucocitaria caracterizada por monocitosis, aumento del porcentaje de linfocitos y disminución del porcentaje de neutrófilos (Araujo *et al.*, 2003). El encuentro de que esté presente el mismo perfil de contejo de glóbulos blancos entre niños y adultos Warao con una fórmula leucocitaria caracterizada por monocitosis, aumento del porcentaje de linfocitos y disminución del porcentaje de neutrófilos pudiera ser el resultado de factores genéticos, malnutrición, o infecciones por virus, bacterias o parásitos, estos últimos altamente prevalentes entre las comunidades indígenas Warao. Estos hallazgos nos indujeron a comenzar el estudio de la respuesta inmunitaria; inmunidad humoral, celular y algunos aspectos de la inmunidad innata, en los niños de estas comunidades con el objeto de establecer si son especialmente sensibles a padecer la infección por *M. tuberculosis*. Los resultados muestran que en ambos grupos de niños Warao; pacientes y controles, se observa un perfil inmunológico caracterizado por un aumento en los niveles de los componentes C3 y C4 del complemento (González *et al.*, 2003).

El papel importante que tiene el complemento en el humano durante la TB ha sido puesto en evidencia a través del aumento significativo de los componentes C3 y C3d, los cuales se han encontrado correlacionado con el aumento de complejos inmunes en pacientes

con TB no tratados, sugiriéndose que la activación del complemento por estos complejos previene que la TB conlleve a una patología mediada por complejos inmunes como es conocido que ocurre en diferentes patologías (May *et al.*, 1983). El estudio del papel que tiene el complemento durante la TB fue estudiado también en indígenas Warao y en Criollos adultos, tomando en cuenta la positividad o negatividad de la reactividad a la prueba de la tuberculina o TST (también prueba del PPD).

Los resultados mostraron que con la excepción de los grupos controles Warao y Criollos negativos a la TST, se encontró un significante aumento del porcentaje de individuos con niveles disminuidos del componente C3 del complemento; así como también para el componente C4, en comparación con ambos grupos pacientes; Warao y Criollos (Araujo *et al.* 2006). El papel de protección que pudiera tener el complemento en los niños Warao debido a los altos niveles de C3 y C4, tengan o no TB, podría ser atribuido a una adaptación protectora de esta población indígena frente a las malas condiciones de salubridad que existen en sus comunidades, pero que se pierde en el adulto condicionado por los altos niveles de infecciones a diferentes agentes patógenos que se adquieren desde temprana edad.

TUBERCULOSIS Y RESPUESTA INMUNE

La TB es principalmente una enfermedad del sistema respiratorio, y se transmite al toser y estornudar. Las altas prevalencias de TB son debido al hecho de que por un lado no se detectan los pacientes a tiempo, y por otro, al retardo que existe en impedir la transmisión de la infección de una persona a otra, lo cual es debido en parte a la baja sensibilidad que tiene la técnica de tinción o baciloscopía (40%-60%), el método de oro, altamente sensible, el cultivo de *M. tuberculosis* es retardo, debido a lo lento que crece la bacteria; aunado está el hecho de que el 75% de los pacientes con TB extrapulmonar, y el 95% de los niños tienen baciloscopía negativa; por lo que se hace necesario encontrar una herramienta adicional de diagnóstico de TB que sea rápida como la serología, que permita detectar los casos a tiempo e interrumpir la transmisión y mejorar el control de TB en la

población indígena Warao e inclusive en la población Criolla. La mayoría de los casos de TB ocurre en países poco desarrollados con recursos económicos limitados en los que el diagnóstico depende principalmente del examen clínico, los hallazgos radiográficos y la confirmación con frotis y cultivo (Rivas *et al.*, 2005).

Otra posibilidad diagnóstica interesante es la detección de material genético de la micobacteria, mediante técnicas moleculares de amplificación genética basadas en el uso de la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Como es de esperarse, la utilidad de estas pruebas es mayor cuando la baciloscopía es positiva, circunstancia en la cual la especificidad y sensibilidad son superiores a 95%. Sin embargo, cuando la baciloscopía es negativa, la sensibilidad se reduce entre 40% y 70%. Si bien el valor diagnóstico de las pruebas genéticas rápidas es indiscutible, su aplicabilidad en la práctica clínica diaria depende del valor pronosticador que posean.

La reciprocidad que se establece entre *M. tuberculosis* y la respuesta inmunitaria desarrollada por el hospedador determina el control o no de la infección. Se conoce que una minoría de las personas que son infectadas por *M. tuberculosis* es capaz de progresar a enfermedad clínica. Se puede decir, en términos generales, que el 90% de las personas tendrán controlados los bacilos en estado latente para toda la vida, por medio de su sistema inmunológico; un 5% presentará TB primaria progresiva y el otro 5% presentará la enfermedad en estados tardíos de la vida, lo que se denomina TB de reactivación o post-primaria (Rivas *et al.*, 2005).

En los individuos resistentes, el control de la infección o de los bacilos tuberculosos que se encuentran en la región alveolar requiere principalmente del desarrollo de una respuesta de inmunidad celular del tipo Th1. Este tipo de respuesta incluye la participación de los macrófagos alveolares, los linfocitos T CD4+ y CD8+, principalmente los linfocitos T $\gamma\delta$ y la producción de citocinas como: IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-18 y TNF- α . Aunado están las quimiocinas como RANTES, MCP-1, MIP-1 α e IL-8 que juegan un papel muy importante en la migración de las diferentes subpoblaciones celulares al sitio de

infección para la formación del granuloma. Además, es primordial el papel de las células “natural killer” (NK), y de las células epiteliales como parte de la respuesta de inmunidad innata (Rivas *et al.*, 2005).

Teniendo en cuenta el papel preponderante y esencial que tiene la respuesta inmunitaria tanto innata como específica tanto humoral como celular, nuestro equipo comenzó con el estudio de dicha respuesta.

SEROLOGÍA EN NIÑOS: POLICLONALIDAD

Los resultados del estudio de la respuesta humoral no específica muestran que, tanto en niños Warao pacientes como en controles, se observa hiper gamma globulinemia con producción de los isotipos IgG, IgM, IgE e IgAs. El isotipo IgA solo se detectó en el grupo de los pacientes, lo cual sugiere que este isotipo podría ser un marcador de enfermedad activa. La respuesta humoral de la policlonalidad o niveles totales de inmunoglobulina E (IgE) mostraron un prominente aumento en el 100% de los niños Warao (González *et al.*, 2003).

La policlonalidad observada es independiente de la reactividad al PPD y de la vacunación con BCG. En niños menores de 7 años, la reactividad al PPD es similar y también independiente de la vacunación con BCG. Se encontró que entre los niños negativos a la tuberculina o PPD, un 80% también presentaron estados de anergia o falta de reactividad celular al antígeno de *Candida* (González *et al.*, 2003). Estos hallazgos y el hecho de saber que la respuesta inmunitaria desde una temprana edad en estos niños está dirigida a defenderlos de múltiples gérmenes, pueden conducir a que esta respuesta sea anérgica o no sea simplemente la adecuada para defenderlos contra *M. tuberculosis*.

En los últimos años, un alto número de investigaciones han orientado sus esfuerzos a diseñar nuevas pruebas diagnósticas y a mejorar el rendimiento de los métodos serológicos.

Los anticuerpos de las tres clases de Inmunoglobulinas; IgA, IgG e IgM son los componentes de la respuesta humoral madura, siendo los anticuerpos de las clases IgG los más importantes

de la respuesta inmune adaptativa en la mayoría de las infecciones.

Se ha sugerido que la presencia de niveles elevados de IgM está asociada a infección reciente por *Mycobacterium* en contactos, pero la IgG al estado de enfermedad activa, ésta última se encuentra aumentada aún después del tratamiento, sin embargo, la IgA se ha reportado sin variación durante la enfermedad de TB (Weldingh *et al.*, 2005).

INMUNIDAD HUMORAL ESPECÍFICA

Los métodos serológicos para el diagnóstico de TB se han venido realizando con el fin de lograr un máximo en la sensibilidad y especificidad para la detección de pacientes infectados con el bacilo de la TB, tanto en niños como en adultos (Araujo *et al.* 2004). La principal ventaja de éstos es que permite obtener resultados en un corto período de tiempo, lo cual permite la aplicación de un tratamiento lo más pronto posible. La principal desventaja que presentan las pruebas serológicas, es la variabilidad de respuesta de los anticuerpos frente a un antígeno, que puede darse en la población mundial. Esto representa un reto para conseguir las combinaciones adecuadas de antígenos y/o isotipos que demuestren una sensibilidad suficientemente alta para la detección de pacientes con infecciones tuberculosas que evite los falsos negativos, y/o una alta especificidad para evitar los falsos positivos, lo cual permitiría no administrar un tratamiento inoportuno que puede inducir resistencia. En este sentido el equipo de trabajo comenzó el estudio la respuesta inmune humoral específica contra antígenos de *M. tuberculosis* con la finalidad de conseguir un método que adicional a los métodos clínico y epidemiológico ayude al diagnóstico precoz de la TB.

INMUNIDAD HUMORAL ESPECÍFICA EN NIÑOS

El estudio de la respuesta humoral específica de los isotipos; IgA, IgG, IgE e IgA secretora (IgAs) contra 3 antígenos de *M. tuberculosis*; PPD, HSP60, 38kDa, se realizó en niños menores de 15 años. Los hallazgos mostraron que la combinación de 3 isotipos: IgG anti-PPD, IgE anti-PPD, e IgAs anti-38kDa llevó al aumento de la sensibilidad a 64,7%, en comparación a

los métodos que utilizaban un solo isotipo, así como también con los métodos comerciales tales como Myco G and Complex Plus (the Omega diagnostics commercial kits). La especificidad de la combinación fue de 81,8%; mientras que los kits comerciales mostraron ser altamente específicos (100%) (Araujo *et al.*, 2004).

Se han reportado la caracterización y disponibilidad de varios antígenos específicos de *M. tuberculosis* en el diagnóstico serológico, los cuales detectan por arriba del 85% de los casos de TB positivos por frotis pero la sensibilidad disminuye en los casos de TB con frotis negativo además de que la mayoría de los antígenos caracterizados tienen sensibilidad y especificidad más bajas en pacientes coinfetados con HIV (Weldingh *et al.*, 2005). Otros antígenos que han sido estudiados en pruebas serológicas son α cristalin (Hsp X) MTB 48, *Mtb*81 y por último ESAT 6 y CFP 10, 38 Kda y 16 Kda; muchos de estos antígenos han demostrado buena sensibilidad y especificidad para identificar pacientes con TB pulmonar. En lo que respecta a isotipos de inmunoglobulinas la sensibilidad es mayor en las pruebas donde se mide IgG y es baja con IgA e IgM (Chan *et al.*, 2000).

En base a estudios recientes en relación a otros métodos de diagnóstico como son la utilización de la saliva para medir la IgA secretora contra antígenos de *M. tuberculosis*, y los hallazgos previos que obtuvimos del aumento de la sensibilidad con la combinación de 3 isotipos, incluyendo la IgAs anti-38kDa, se llevó a cabo el estudio de la reactividad de este isotipo responsable de la inmunidad en mucosas contra dos antígenos; PPD y 38kDa. El ensayo de ELISA utilizando IgAs anti-38kDa a diferencia de la IgAs anti-PPD, mostró alta reactividad en niños pacientes, fueran estos positivos o negativos a la prueba de la tuberculina o PPD, en comparación con los niños controles. Los resultados sugieren que estos 2 antígenos están asociados de manera diferentes con el desarrollo de la inmunidad de mucosas, la cual es mediada por IgAs (Fernández de Larrea *et al.*, 2006). Al igual que una prueba serológica, la utilización de IgAs a partir de la saliva sería un método diagnóstico ideal también porque es fácil y rápido de realizar y puede ser

implementado en áreas aisladas como sería el caso de las comunidades indígenas, donde el acceso a hospitales por estas personas se dificulta, esto después de que se realicen estudios con suficiente número de individuos que puedan validar las sensibilidades y especificidades de los métodos.

INMUNIDAD HUMORAL ESPECÍFICA EN ADULTOS

En el contexto de encontrar un método de diagnóstico serológico ideal, fácil y rápido de realizar, se continuó con la búsqueda de un método a partir de suero de indígenas Warao y Criollos adultos. Se estudió en individuos con y sin infección por *M. tuberculosis*, la respuesta humorla específica de los isotipos; IgM, IgE, IgAs, IgG y las subclases de IgG: IgG1, IgG2 e IgG3 contra el antígeno PPD. Los resultados mostraron que entre los indígenas Warao, la combinación de los isotipos IgG e IgE anti-PPD alcanzó una sensibilidad de 92%. Entre los Criollos, la combinación de los isotipos IgG1 e IgG2 anti-PPD mostró una sensibilidad de 90%; mientras que simples métodos fueron capaces de mostrar altas especificidades; IgG3 anti-PPD fue altamente específico (100%) entre los indígenas Warao e IgM anti-PPD alcanzó la especificidad de 97,4% entre los Criollos; los hallazgos muestran que métodos simples con un solo isotipo alcanzaron altas especificidades, mientras que métodos con la combinación de varios isotipos lograron aumentar la sensibilidad, lo cual podría ser una herramienta útil en el diagnóstico de TB (Araujo *et al.*, 2008).

INMUNIDAD CELULAR ESPECÍFICA: VACUNACIÓN

Se ha estimado que el riesgo de desarrollar enfermedad después de la infección por *M. tuberculosis* es de 5-10% en adultos, 15% en adolescentes, 24% en niños entre 1 a 5 años y 43% en niños menores de 1 año (WHO, 2015). Estos estimados aunados a los primeros resultados que permitieron establecer que la prevalencia de TB infantil en niños Warao de 0 a 15 años era de 3,2%; equivalente a una altísima tasa de 3.190/100.000 niños (Fernández de Larrea *et al.*, 2002), nos llevó a pensar que se esperaría encontrar también casos de TB extrapulmonar; sin embargo, no fue lo que encontramos, los casos de TB

extrapulmonar no son frecuentes, lo cual pudiera estar relacionado con el hecho de que se ha reportado, que la vacunación con BCG protege contra estas formas de TB extrapulmonar. Esto nos llevó a plantearnos evaluar la respuesta inmunitaria celular; estudiamos el efecto de la vacuna BCG sobre la reactividad a la prueba de la tuberculina o PPD en niños indígenas Warao de comunidades con alta, media y baja prevalencia de TB; esto con la finalidad de establecer, si la vacunación afecta de manera importante la respuesta de inmunidad celular a la prueba de la tuberculina, pudiendo dar una respuesta de falso positivo a la infección por *M. tuberculosis* como ha sido publicado en la literatura.

En un total de 998 niños se estudió el valor diagnóstico de la infección latente mediante la prueba de la tuberculina o PPD, en niños indígenas vacunados no enfermos y no vacunados con BCG de comunidades que tienen una muy alta prevalencia de TB en adultos. Los resultados mostraron, que la vacunación con BCG no fue una importante causa de falsos positivos a la prueba de la tuberculina o PPD, excepto en comunidades con una baja prevalencia de infección activa o TB. Los resultados sugirieron que una historia de vacunación con BCG sobre la respuesta positiva al PPD después de 10 años de vacunación fue estadísticamente insignificante; y que en aquellas comunidades con una alta prevalencia de TB, una respuesta PPD positiva a una edad temprana refleja más probablemente el grado de exposición a casos de TB más que a la vacunación con BCG (Araujo *et al.*, 2008).

INMUNIDAD E INFECCIONES PARASITARIAS

Humanos y parásitos han coevolucionado, y continúan coexistiendo. El entendimiento de las asociaciones huésped-parásito es esencial si queremos entender el impacto de los patógenos y enfermedades en la dinámica estabilidad de los indígenas Warao del delta venezolano.

En esta región, infecciones gastrointestinales representan una de las principales causas de morbilidad entre los indígenas, ellos tienen infecciones parasitarias recurrentes o abrumadoras,

especialmente por helmintos, donde la TB es también endémica.

El Instituto Nacional de Estadística (INE) en el año 2007, reportó el municipio Antonio Díaz, con el mayor número de casos de helmintiasis (52,3%) y amibirosis o infecciones por protozoarios (45,5%) (INE, 2007). Los parásitos, principalmente los helmintos, inducen el desarrollo de la respuesta de inmunidad celular del tipo Th2, la cual contrarresta el desarrollo óptimo de la respuesta del tipo Th1, esta última asociada a la resistencia de las infecciones por patógenos intracelulares, como *M. tuberculosis*, causante de la TB. El reporte publicado por INE en el año 2007, nos condujo a desarrollar un estudio preliminar en relación con la prevalencia parasitológica presente en los indígenas Warao. Los resultados parasitológicos mostraron que, las helmintiasis estuvieron presentes en un 45,7% de los indígenas, seguidos de las parasitosis mixtas por helmintos y protozoarios en un 40%, y los protozoarios en un 5%; mientras que en un 7,5% de los individuos no se observaron parásitos. Entre los parásitos intestinales se observaron: *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*; estos fueron los más frecuentes entre los helmintos, y *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Balantidium coli* entre los protozoarios (González *et al.*, 2003).

Los resultados en su conjunto muestran la existencia de una alta prevalencia de tanto infecciones por helmintos como de coinfecciones mixtas por helmintos y protozoarios, lo cual nos llevó a pensar que podría existir un perfil de expresión de citocinas tanto del tipo Th2 como Th1; pero con predominancia de Th2; lo cual se estableció en trabajos posteriores.

Infecciones debidas principalmente a parásitos helmintos están relacionadas con la respuesta humorar del isotipo IgE, la cual está asociada a la de inmunidad celular del tipo Th2. En un estudio exhaustivo, se evaluó la policlonalidad o IgE total así como las IgE e IgG4 específicas contra *M. tuberculosis* en indígenas Warao adultos y en Criollos adultos sin y con infección por *M. tuberculosis* (Araujo *et al.*, 2012).

Los resultados mostraron niveles significativos de IgE total presentes tanto en los pacientes como en los indígenas Warao controles en comparación con los pacientes y controles Criollos. La respuesta IgE específica mostró que; las reactividades IgE anti-PPD y anti-H37Rv fueron significativamente altas en los pacientes y controles indígenas Warao en comparación con los pacientes y controles Criollos. La reactividad de IgG4 anti-PPD y anti-H37Rv no mostró significancia entre los grupos; pero su reactividad se vio influenciada por el tratamiento anti tuberculoso. Los hallazgos comparativos de estas dos respuestas entre los individuos Warao y Criollos mostraron, que entre los indígenas Warao hay una intrínseca propensión a producir altos niveles de IgE total e IgE específica asociada a la de inmunidad celular del tipo Th2 en comparación con los individuos Criollos (Araujo *et al.*, 2012).

CITOQUÍNA E INMUNIDAD CELULAR

En un estudio exhaustivo se evaluó la producción de citocinas; TNF- α , IL-12 (IL-12p40), IFN- γ (tipo Th1) e IL-4 y también IL-5 (tipo Th2) en experimentos *ex vivo* realizados con células mononucleares de sangre periférica cultivadas de pacientes con TB y controles sanos de tanto indígenas Warao como de individuos Criollos, las cuales se estimularon con el antígeno purificado de cultivo o PPD de *M. tuberculosis* (Giampietro *et al.*, 2010). La detección de citocina se realizó a partir de los sobrenadantes de cultivo utilizando el ensayo de ELISA tipo sándwich. Los resultados mostraron que la producción de citocinas determinadas en sobrenadantes de cultivo a las 24 y 48 horas inducidas por el antígeno, podía dividirse en dos grupos; un grupo, el de los pacientes Criollos que producían preferencialmente y de manera significativa, la citocina pro inflamatoria, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y las citocinas de tipo Th1; interleucina 12 (IL-12) e interferón gamma (IFN- γ) tanto para las 24 como a las 48 horas de cultivo, y el otro grupo, el de los pacientes Warao que con preferencia producían citocinas del tipo Th2; la interleucina 4 (IL-4), pero de manera significativa la interleucina 5 (IL-5) tanto para las 24 como a las 48 horas de cultivo. Los hallazgos nos llevan a pensar

que el desarrollo de una respuesta del tipo Th2 mediada por la IL-4 e IL-5 puede poner en minusvalía el desarrollo de la respuesta protectora contra *M. tuberculosis* del tipo Th1, lo cual conllevaría a poner en desventaja a los indígenas Warao para defenderse de la TB (Giampietro *et al.*, 2010).

FACTORES AMBIENTALES Y ANTROPOZOONÓSIS

Los indígenas de las comunidades Warao del Delta venezolano desde muy temprana edad presentan altas tasas de infecciones parasitarias; por lo que el desarrollo de una respuesta principalmente del tipo Th2 desde la infancia pudiera ser un factor que favorece la susceptibilidad a la infección activa por *M. tuberculosis*. Existen además factores ambientales de riesgo que podrían predisponer a la contaminación con parásitos intestinales a través de las excretas de los animales que cohabitan con ellos, conduciendo esto al establecimiento de condiciones antropozoonóticas. Esto puede ser explicado debido a que los individuos utilizan el río Orinoco como fuente de agua para sus necesidades básicas; cuando el nivel freático del Orinoco desciende a causa de la marea, los cerdos y perros bajan a alimentarse de los restos orgánicos presentes en el suelo. Al subir la marea, los pobladores de la comunidad utilizan esta misma fuente de agua, lo que podría traer como consecuencia la contaminación accidental por huevos o quistes de parásitos intestinales, tales como: *Toxocara canis* y *Ascaris suum*, parásitos de perros y cerdos, respectivamente (Araujo *et al.*, 2015).

Se determinó por serología la seropositividad de infección por *Ascaris suum* y *Toxocara canis*, utilizando antígenos de excreción/secreción (E/S) de *Ascaris suum* (AES) y *Toxocara canis* (TES), tanto en indígenas Warao; adultos como niños pertenecientes a la comunidad de Murako, la cual tiene la peculiar característica de que los indígenas de esta comunidad conviven muy de cerca con perros, pero más especialmente con cerdos, los cuales son criados para venderlos. Los resultados mostraron que entre los adultos, 44,1% fueron seropositivos para ambos parásitos (*Ascaris suum* y *Toxocara canis*); mientras que los niños sólo mostraron seropositividad a uno u otro de los helmintos. Adicionalmente a partir de

células mononucleares de sangre periférica y utilizando la técnica de la PCR, se evaluó la respuesta inmune celular a través del estudio de la expresión de citocinas: IFN- γ , IL-2, IL-6, TGF- β , TNF- α , IL-10 e IL-4. La cuantificación de la expresión de las citocinas mostró que hubo un significante incremento de una respuesta inmunitaria celular tipo Th2, la cual estuvo mediada por el aumento de la expresión de IL-4 entre los indígenas con seropositividad para los antígenos TES provenientes de *Toxocara canis* (Araujo *et al.* 2015). Estos hallazgos podrían sugerir que la alta incidencia de zoonosis de parasitosis intestinales podría ser un factor condicionante que favorezca la susceptibilidad a desarrollar TB activa en los individuos que habitan en estas comunidades.

GENÉTICA E INMUNIDAD

No fue sino hasta después de 1930 que rigurosos estudios de gemelos proporcionaron fuerte evidencia de la contribución de la genética humana al estudio de la TB. La susceptibilidad Mendeliana a las enfermedades por micobacterias (SSEM) fue descrita por primera vez en 1951 por Mimouni y caracterizada desde 1996 (Ramírez, 2007). Los pacientes con SSEM son altamente susceptibles a micobacterias poco virulentas, pero son aparentemente resistentes a muchos otros agentes infecciosos, con excepción de *Salmonela*. Con el desarrollo de marcadores genéticos altamente polimórficos a partir de 1990, el concepto de genes principales fue aplicado a loci en los estudios de ligamiento de todo el genoma (Ramírez, 2007).

Los primeros resultados sobre factores genéticos que son determinantes importantes de la susceptibilidad a la TB fueron obtenidos con los antígenos del HLA clase II y la proteína de macrófagos asociada a la resistencia natural, NRAMP1 (SLC11A1), (Delgado *et al.* 2002). El estudio de la asociación de los polimorfismos genéticos que inciden en los niveles de expresión de las citocinas reguladoras o no reguladoras, permite concluir que diferentes alelos inciden de manera específica en el desarrollo de la susceptibilidad genética a la enfermedad; se ha reportado que la frecuencia de estos polimorfismos

varía en diferentes pueblos indígenas (Delgado *et al.*, 2002).

Se comenzó el estudio para la puesta en evidencia o no de la existencia de variaciones génicas o polimorfismos de citocinas asociadas a la resistencia o no a la infección por *M. tuberculosis*, conocimientos estos que permitirán con un mayor énfasis demostrar que los indígenas Warao, son una población sensible de padecer TB. Se estudió el Interferon-gamma (IFN- γ), el cual es una citocina importante para la resistencia a la infección por *M. tuberculosis*; por lo que las variantes génicas o polimorfismo del gen de IFN- γ podrían estar asociadas con la susceptibilidad de los indígenas Warao a padecer TB. Se evaluaron las variantes o frecuencias genotípicas del polimorfismo del gen de IFN- γ (IFN- γ +874) en 24 pacientes indígenas Warao con infección activa (TBA) por *M. tuberculosis* y 111 controles indígenas Warao (CTRL). Los resultados mostraron una significativa alta frecuencia del alelo A entre ambos grupos indígenas estudiados (homocigoto A/A mutante); TBA (95,8%) y CTRL (97,3%). Los indígenas portadores del genotipo homocigoto A/A mutante mostraron un incremento significativo de riesgo relativo de 3,59. La frecuencia genotípica de heterocigoto A/T fue de 4,16% para el grupo TBA y de 0,9% para el grupo CTRL. La frecuencia genotípica para T/T o silvestre también estuvo decrecida para el grupo CTRL (1,8%); esta frecuencia no se observó para el grupo TBA (Araujo *et al.* 2017). Adicionalmente se comparó las frecuencias genotípicas del polimorfismo IFN- γ +874 de indígenas Warao controles con individuos controles caucásicos o mestizos americanos, los hallazgos en relación con los indígenas Warao homocigoto A/A mutante, mostraron una significativa alta frecuencia génica o genotípica A/A (97%) en comparación con los caucásicos (27%); mientras que entre los indígenas Warao se observó una disminución de las frecuencias genotípicas A/T(1,4%) y T/T (1,4%), en comparación con los Caucásicos; 53% y 20%, respectivamente (Araujo *et al.*, 2017). Hubo concordancia entre la alta frecuencia genotípica A/A mutante del polimorfismo IFN- γ +874, la cual está asociada a la baja producción de IFN- γ y la baja expresión de IFN- γ cuantificada por

PCR tiempo real o qPCR (Araujo *et al.*, 2019). Se ha reportado que la identificación de polimorfismos en las regiones promotoras o de codificación de los genes de muchas citocinas y la demostración de que estos polimorfismos se asocian con los niveles de producción de las mismas con diferentes enfermedades, deben tomar en cuenta la heterogeneidad genética, la epistaxis, la estratificación de la muestra, la selección de casos y controles o las variaciones étnicas. Los polimorfismos en las regiones de regulación de los genes de citocinas pueden influenciar los niveles de transcripción del gen y han sido asociados con la susceptibilidad, y/o severidad de muchas enfermedades (Larcombe *et al.*, 2005).

Se ha postulado que la evolución del perfil de citocinas único pudiera estar asociada a la adaptación de los aborígenes a la presión selectiva relacionada con el ambiente en el cual predominaron las infecciones por hongos, parasíticas por protozoarios y helmínticas. Estudios sobre enfermedades infecciosas entre las poblaciones indígenas han sido enfocados en relación con factores socioeconómicos, contribuyendo estos a susceptibilidad o resistencia a las enfermedades, ejemplo de esto; el excesivo abuso del consumo de alcohol, la desnutrición, la pobreza, la cual es un marcador de TB. En la mayoría de estos estudios, las diferencias genéticas entre las poblaciones son anunciadas como factores contribuyentes en la susceptibilidad o resistencia a las enfermedades; sin embargo, las bases de esta disparidad o diferencias genéticas permanecen inexploradas (Larcombe *et al.*, 2005; Tollefson *et al.*, 2013; Praça Longhi *et al.*, 2013; Cormier *et al.*, 2019; Basta *et al.*, 2019). Razones estas, por la que seguimos investigando en este campo de la variación génica o polimorfismo de citocina y/o receptor que pudieran estar asociados a la alta susceptibilidad a la infección por *M. tuberculosis* entre los indígenas Warao.

BIOMARCADORES Y DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS

Los hallazgos previos en relación con optimizar el diagnóstico de la TB, nos convencieron de que debíamos continuar en el estudio de la respuesta inmunitaria humorar con la finalidad de desarrollar

métodos más económicos que ayudaran a mejorar la precisión diagnóstica de la TB en la población indígena Warao; tanto en adultos y niños con métodos con altas sensibilidades y especificidades de manera de poder realizar un diagnóstico serológico rápido de TB, especialmente en aquellos casos que son baciloscopía negativos.

El equipo de la Unidad de Investigación Médica de Zacatecas en México con la que tenemos una cooperación científica, en hallazgos previos con humanos del análisis del Transcriptoma mediante el uso de la plataforma GeneSpring ® (Agilent®, USA), mostraron la selección de 108 genes relacionados con la respuesta inmune innata que discriminan entre individuos con infección latente, con respecto a individuos con TB activa, usando individuos sanos como grupo control (Lopez *et al.*, 2018); sin embargo, se seleccionaron 10 genes por su capacidad de expresarse a nivel de proteínas en suero mostraron altos niveles de sensibilidad y especificidad en ensayos de reacción en cadena de la polimerasa o PCR tiempo real o qPCR, y en particular, cuatro de ellos; uPAR, sCD14, MMP-9 y CXCL9/MIG, mediante ensayos de ELISA, fueron capaces de diferenciar las muestras de suero de enfermos, de las de sujetos sanos, demostrando que estas moléculas son buenos candidatos a biomarcadores para diagnosticar TB activa en suero de humanos o por poner en evidencia la expresión génica de estos genes (Lopez *et al.*, 2018).

Se llevó a cabo un estudio que con la finalidad de encontrar herramientas rápidas y útiles para el diagnóstico de TB, y utilizando la técnica de la Reacción en Cadena de Polimerasa o PCR en tiempo real (qPCR), se evaluó la expresión relativa de biomarcadores de la respuesta de inmunidad innata como; Interferon gamma (IFN- γ), Receptor para endotoxina (lipopolisacárido) soluble (CD14s), Metaloproteinasa de matriz o gelatinasa B (MMP-9), Receptor CC5, el cual reconoce quimiocinas CXC tales como MIP-1 α , RANTES y MIP-1 β (CCR5), Eotaxin, quimiocina CC involucrada en la señalización a través del receptor CCR3 (CCL11), Monocina humana inducida por IFN- γ (CXCL9/MIG) y Receptor activador del plasminógeno tipo urokinasa (uPAR/PLAUR).

A partir de células de sangre periférica de indígenas Warao en condiciones de estimulación (E) con una mezcla antígenos de *M. tuberculosis* (ESAT-6, CFP10, y TB7.7), y en condiciones sin estimulación (NE), con la finalidad de determinar el poder discriminatorio de estos biomarcadores entre los grupos de: Casos de indígenas Warao con infección activa por *M. tuberculosis* (TBA), indígenas con infección latente (TBL) e indígenas controles no infectados (CTRL). Los resultados de las medianas e Inter Quartile Ranges (IQR) de la expresión génica relativa de los biomarcadores mostraron, niveles significativamente altos de MMP9 entre los grupos TBL-NE y TBL-E en comparación con los grupos CTRL-NE y CTRL-E; mientras que niveles significativamente bajos de CCR5 fueron encontrados en el grupo TBL-E en comparación con ambos grupos controles; CTRL-NE y CTRL-E. Se observaron niveles significativamente bajos CCL11 en el grupo TBL-E en comparación con el grupo CTRL-NE. Los hallazgos mostraron que el biomarcador MMP9 tiene poder discriminatorio de diagnóstico entre los indígenas TBL y los CTRL; mientras que CCR5, CCL11, CD14 e IFN- γ no diferencian los indígenas Warao con infección activa por *M. tuberculosis* (TBA) o latente (TBL) de los indígenas no infectados (CTRL).

El MMP9 como un potencial biomarcador de la detección de casos de infección latente puede ser útil para detectar los casos nuevos de infección en las comunidades endémicas Warao con alto riesgo de desarrollar TB (Araujo *et al.*, 2019). La identificación de biomarcadores y la demostración de que estos se asocian con los niveles de producción de los mismos en diferentes enfermedades deben tomar en cuenta la heterogeneidad genética, la cual existe entre los pueblos indígenas. En este contexto, entre los hallazgos encontrados en la población mexicana, en comparación con los indígenas Warao, se evidenció diferencias en los resultados; el biomarcador MMP9 mostró tener poder discriminatorio de diagnóstico entre los indígenas Warao TBL y los CTRL; mientras que para la población mexicana, este biomarcador junto con uPAR, sCD14, y CXCL9/MIG fueron capaces

de diferenciar enfermos con TB, de un grupo infectados por *M. tuberculosis* con infección latente o de sujetos sanos (Araujo *et al.*, 2019).

Seguimos en la búsqueda de encontrar métodos serológicos con alta precisión diagnóstica de TB entre los indígenas Warao; con ese fin, estamos desarrollando con el Dr. Manuel Alfonso Patarroyo de la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia en Bogotá (FIDIC), métodos serológicos utilizando péptidos sintéticos de dos antígenos del bacilo *M. tuberculosis*; 5 péptidos del antígeno ESAT-6 y 17 péptidos del componente A del antígeno 85 (Ag85A).

CONCLUSIONES

De manera resumida se muestran los resultados obtenidos que nos han permitido avanzar, entender y conocer que existen factores determinantes de riesgo tanto inmunogenéticos como ambientales que están contribuyendo a que permanezca una alta prevalencia de TB entre los indígenas del pueblo Warao. El interés de establecer y dar a conocer estos factores determinantes de riesgo, está en el hecho de que las autoridades de salud central y local se sientan motivadas a tomar las medidas necesarias para mejorar el control de la TB entre estas comunidades indígenas. Estas investigaciones pueden ayudar a mejorar la calidad de vida de los indígenas Warao, si se toman medidas preventivas como la educación comunitaria en salud; e intervenciones necesarias, como son las de realizar pesquisas activas de casos con los métodos tradicionales, microbiológico, clínico y epidemiológico; pero también con métodos adicionales, suficientemente sensibles y específicos, así como rápidos, que puedan garantizar el corte de la transmisión de la infección. La obtención de financiamiento para investigación en salud del pueblo Warao, redunda en mejorar los niveles de salud y calidad de vida, que les permita impulsar libremente su destino social y político, para garantizar la supervivencia de las actuales y futuras generaciones.

Finalmente, como recomienda la Organización Mundial de la Salud en estrategias para terminar con la TB. Para el control de los factores determinantes de

la TB, es necesario considerar no solamente las políticas establecidas y los sistemas de protección, sino también tomar acciones sobre la protección en salud y la reducción de la pobreza. Esta combinación puede incidir en la disminución de inequidades en salud y la carga de TB entre los indígenas del mundo (WHO, 2015).

REFERENCIAS

- ARAUJO Z., FERNÁNDEZ DE LARREA C., LÓPEZ D., FANDIÑO C., CHIRINOS M., CONVIT J., DEBORA I., DE WAARD J., (2003). "Hematologic values among Warao Indians with tuberculosis from the Orinoco delta of Venezuela". *Acta Científica Venezolana* 54(4): 204-210.
- ARAUJO Z., DE WAARD J.H., FERNÁNDEZ DE LARREA C., LÓPEZ D., SINGH M., OTTENHOFF T.H.M., AREND S.M., CONVIT J. (2004). "Study of the Antibody Response against *M. tuberculosis* Antigens in Warao Amerindian Children in Venezuela". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99(5): 517-524.
- ARAUJO Z., GONZÁLEZ N., DE CUBEDDU L., ZIEGLER R.C., DE WAARD J.H., PUJOL F.H., CARRASCO DE SERRANO N., GARCÍA DE SABOIN A. (2006). "Levels of Complement C3 and C4 Components in Amerindians living in an Area with High Prevalence of Tuberculosis". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 01(4): 359-364.
- ARAUJO Z., DE WAARD J.H., FERNÁNDEZ DE LARREA C., BORGES R., CONVIT J. (2008). "The effect of Bacille Calmette-Guérin vaccine on tuberculin reactivity in indigenous children from communities with high prevalence of tuberculosis". *Vaccine* 26(44): 5575-5581.
- ARAUJO Z., GIAMPIETRO F., CASTELLANO CANÇADO L., SINGH M., WIDE A. (2008). "Comparison of serological responses in two different populations with pulmonary tuberculosis". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103(7): 661-667.
- ARAUJO Z., GIAMPIETRO F., RIVAS-SANTIAGO B., LUNA J., WIDE A., CLARK W., DE WAARD J.H. (2012). "Patients exposed to *M. tuberculosis* infection with a prominent IgE response". *Archives of Medical Research* 43: 225-232.
- ARAUJO Z., BRANDES S., PINELLI E., BOCHICHO M.A., PALACIOS A., WIDE A., RIVAS SANTIAGO B., JIMÉNEZ JC. (2015). "Seropositivity for ascariosis and toxocariasis and cytokine expression among the indigenous people in the Venezuelan Delta region". *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 57(1): 47-55.
- ARAUJO Z., PALACIOS A., BIOMÓN R., RIVAS SANTIAGO B., WIDE A., JIMÉNEZ J.C., FERNÁNDEZ DE LARREA C., ENCISO MORENO J.A. (2017). "Concordance between interferon- γ gene +874A/T polymorphism and interferon- γ expression in a TB-endemic indigenous setting". *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 50(2): 199-207.
- ARAUJO Z., PALACIOS A., ENCISO MORENO L., LOPEZ RAMOS J.E., WIDE A., DE WAARD J.H., ENCISO MORENO J.A. (2019). "Evaluation of the transcriptional immune biomarkers in peripheral blood from Warao indigenous associate with the infection by *M. tuberculosis*". *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 52: e20180516.
- AYALA C., WILBERT W. (2012). "Gente de la curiara: Los Warao un pueblo indígena de caños y humedales. Fundación La Salle de Ciencias Naturales", Instituto Caribe de Antropología y Sociología, Vol. 2, Caracas.
- BARRETO D., MOSONYI E.E. (1980). "Literatura Warao". Fuente: http://www.gobiernoenlinea.ve/venezuela/perfil_historia6_1.html.
- BASTA P.C., DE SOUSA VIANA P.V. (2019). "Determinants of tuberculosis in Indigenous people worldwide". *The Lancet* 7: e6-7.
- BRIGGS C., MANTINI BRIGGS C. (2004). "Las historias en los tiempos del cólera". Editorial Nueva Sociedad, Caracas.
- CHAN E.D., HEIFETS L., ISEMAN M.D. (2000). "Immunologic diagnosis of tuberculosis: A review". *Tubercle Lung Diseases* 80: 131-40.
- CORMIER M., SCHWARTZMAN K., N'DIAYE D.S., BOONE C.E., DOS SANTOS A.M., GASPAR J., CAZABON D., GHIASI M., KAHN R., UPPAL A., MORRIS M., OXLADE O., (2019). "Proximate determinants of tuberculosis in indigenous people worldwide: a systematic review". *Lancet Global Health* 7: e68-80.
- DE WAARD J., DEL NOGAL B., CHANG S., HURTADO J.L., INOJOSA H.G., (2017). "Factores de riesgo para infección por VIH en indígenas de la etnia Warao del Municipio Antonio Díaz, Estado Delta Amacuro, Venezuela. Octubre – diciembre 2015". *Boletín Venezolano de Infectología* 28(1): 55-65.
- DELGADO J., BAENA A., THIM S., GOLDFELD A., (2002). "Ethnic specific genetic associations with pulmonary tuberculosis". *Journal Infection Diseases* 186: 1463-8.
- FERNÁNDEZ DE LARREA C., DE WAARD J.H., GIAMPIETRO F., ARAUJO Z., (2006). "The secretory immunoglobulin A response to *M. tuberculosis* in a childhood population". *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39(5): 456-461.

- FERNÁNDEZ DE LARREA C., FANDIÑO C., LÓPEZ D., DEL NOGAL B., RODRÍGUEZ N., CONVIT J., ARAUJO Z., DE WAARD J., (2002). "Tuberculosis en menores de 15 años en la población Warao de Venezuela". *Investigación Clínica* 43: 35-48.
- FREIRE, G., (2007). "Introducción, en Salud Indígena en Venezuela. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Dirección del Salud Indígena", Caracas. Vol. 1: 11-17.
- GARCIA-CASTRO A., (2018). "Los Warao en Brasil son refugiados, no inmigrantes. Cuestiones etnográficas y etnohistóricas". *Périplos* 2(2): 32-58.
- GIAMPIETRO F., DE WAARD J.H., RIVAS SANTIAGO B., ENCISO MORENO J.A., SALGADO A., ARAUJO Z., (2010). "In vitro levels of cytokines in response to purified protein derivative (PPD) antigen in a population with high prevalence of pulmonary tuberculosis". *Human Immunology* 71(11): 1099-1104.
- GONZÁLEZ N., DE CUBEDDUL L., DE WAARD J.H., PUJOL F.H., CASTÉS M., ARAUJO Z., (2003). "Study of the immune response in Warao children from an area with high prevalence of tuberculosis". *Investigación Clínica* 44(4): 303-318.
- INE., (2007). "Población Indígena por Entidad Federal. Tasa bruta de mortalidad corregida, según entidad federal, 2002-2007". Instituto Nacional de Estadística. <http://www.ine.gov.ve>.
- INE., (2011). "Informe Final – Censo Nacional 2011". Instituto Nacional de Estadística. Caracas. <http://www.ine.gov.ve>.
- INE., (2015). "Censo Nacional de Población y Vivienda 2011". Empadronamiento de la Población Indígena. República Bolivariana de Venezuela, Ministerio del Poder Popular de Planificación, Instituto Nacional de Estadística, Caracas.
- INE., (2018). "Venezuela - Estados Bolívar, Delta Amacuro, Monagas, Sucre. Censo 2011". Lista de centros poblados con población declarada warao. Documento inédito (libro en formato Excel), Instituto Nacional de Estadística, Caracas.
- LARCOMBE L., REMPEL J.D., DEMBINSKI I.J., TINCKAM K., RIGATTO C., NICKERSON P., (2005). "Differential cytokine genotype frequencies among Canadian Aboriginal and Caucasian populations". *Genes Immunity* 6(2): 140-4.
- LAYRISSE Z., HEINEN H.D., BALBAS O., GARCÍA E., STOIKOW Z., (1988). "Unique HLA-DR/DQ associations revealed by family studies in Warao Amerindians. Haplotype and homozygosity frequencies". *Human Immunology* 23: 45-57.
- LOPEZ RAMOS J.E., MACIAS SEGURA N., CUEVAS CORDOBA B., ARAUJO GARCIA Z., BASTIAN Y., SALINAS E., ENCISO MORENO J.A., (2018). "Improvement in the diagnosis of tuberculosis combining *M. tuberculosis* immunodominant peptides and serum host biomarkers". *Archives of Medical Research* doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.07.003.
- MAKHATADZE N.J., FRANCO M.T., LAYRISSE Z., (1997). "HLA class I and class II allele and haplotype distribution in the Venezuelan population". *Human Immunology* 55: 53-58.
- MAY J.J., KATILUS J., HENSON P.M., DREISIN R.B., (1983). "The purification and identification of circulating immune complexes in tuberculosis". *American Review of Respiratory Diseases* 128: 920-925.
- MONTEMNEGRO, R.A., STEPHENS, C., (2006). "Indigenous Health part 2: Indigenous health in Latin America and the Caribbean". *Lancet* 367: 1859-1869.
- MPPS., (2007). "Evaluación del programa nacional de control de la tuberculosis año 2007". Ministerio del Poder Popular para la Salud, Caracas-Venezuela.
- MPPS., (2015-2017). "Servicio de Atención y Orientación al Indígena (SAOI). Pacientes atendidos por el Servicio de Atención y Orientación al Indígena". Ministerio del Poder Popular para la Salud, Túcupita.
- MPPS., (2015a, 2005b). "Anuario de morbilidad y mortalidad año 2013". Ministerio del Poder Popular para la Salud, Dirección General de Epidemiología, Dirección de Vigilancia Epidemiológica, Caracas.
- MPPS., (2018). "Programa Nacional Integrado de Control de la TB. Tuberculosis en población indígena Warao. Venezuela 2012 – 2017". Dirección General de Programas de Salud. Ministerio del Poder Popular para la Salud, Caracas.
- MSAS., (1999). "Seminario Técnico-Administrativo. Programa Integrado de Control de la Tuberculosis". Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Caracas-Venezuela.
- MSDS., (2006). "Evaluación del programa nacional de control de la tuberculosis año 2006". Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Caracas-Venezuela.
- PRAÇA LONGHI M.R., MARQUES ZEMBRZUSKI V., BASTA P.C., CRODA J., (2013). "Genetic Polymorphism and immune response to tuberculosis in indigenous populations: a brief review". *Brazilian Journal of Infection Diseases* 17: 363-368.
- RAMÍREZ M.C.D., (2007). "Bases genéticas de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas humanas". *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 38: 1-16.

- RIVAS-SANTIAGO B., VIEYRA-REYES P., ARAUJO Z., (2005). *“Respuesta de inmunidad celular en la tuberculosis pulmonar”*. *Investigación Clínica* 46(4): 391-412.
- TOLLEFSON D., BLOSS E., FANNING A., REDD J.T., BARKER K., MCCRAY E., (2013). *“Burden of tuberculosis in indigenous peoples globally: a systematic review”*. *International Journal Tubercle Lung Diseases* 17(9): 1139-1150.
- VILLALBA J.A., BELLO G., MAES M., SULBARAN Y.F., GARZARO D., LOUREIRO C.L., RANGEL H.R., De WAARD J.H., PUJOL F.H., (2013). *“HIV-1 epidemic in Warao Amerindians from Venezuela: spatial phylogenetics and epidemiological patterns”*. *AIDS* 27(11): 1783-1791.
- WELDINGH K., ROSENKRANDS I., MENG OKKELS L., DOHERTY T.M., ANDERSEN P., (2005). *“Assessing the serodiagnostic potential of 35 M. tuberculosis proteins and identification of four novel serological antigens”*. *Journal Clinical Microbiology* 43: 57-65.
- WHO., (2015). *“Global tuberculosis report”*. *World Health Organization, Geneva*. ISBN 978 924 156505 9.

AGRADECIMIENTOS

Para llevar a cabo las investigaciones necesitábamos de fuentes de financiamiento, las cuales fueron obtenidas de diferentes entidades gubernamentales y no gubernamentales, nacionales e internacionales, como son: Banco Mundial, Ministerio de Ciencia y Tecnología/Banco Interamericano de Desarrollo (FONACIT/BID), Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV), Instituto de Biomedicina “Dr. Jacinto Convit”, Banco PARIBAS de Francia, Erickson, C.A y BIOCHROM, C.A. El agradecimiento se extiende a los funcionarios de salud del Programa de Control Regional de Tuberculosis de Delta Amacuro, el Hospital “Dr. Luis Razetti” de Túcupita, estado Delta Amacuro, Gobernación del estado Delta Amacuro, Alcaldías de los Municipios visitados, enfermeros y enfermeras de los ambulatorios existentes en ciertas comunidades. A los no funcionarios como: estudiantes de la Cátedra de Salud Pública, Escuela de Medicina “José María Vargas” de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, colaboradores científicos de Instituciones Nacionales e Internacionales, y muy especialmente a los indígenas Warao participantes y no participantes

de los estudios, a los traductores de la lengua Warao/ español, a todos ellos por su calidez humana y por habernos aceptado en sus comunidades.

El reto continúa y para llevar a cabo las investigaciones en curso, seguiremos necesitando de recursos financieros y de voluntades políticas que nos garanticen la continuidad de las mismas.