

A purple microphone on a stand is the central focus of the image. The microphone has a silver mesh grille and a purple body. It is mounted on a black stand with a silver pole. The background is a blurred image of a large audience in a hall or theater. A large, stylized purple ribbon graphic curves across the left side of the image. The text is centered over the microphone.

Trabajos libres
-Presentaciones orales-

TLO01. Estudio comparativo entre metabolitos de aceites esenciales del efecto inhibitorio *in vitro* sobre el virus del dengue y la secreción de IL-8 por la célula infectada

María Camila Flechas*, Raquel E. Ocazionez*

Introducción. Se requiere descubrir compuestos con potencial farmacológico para el dengue, que eliminen el virus y disminuyan el nivel de citoquinas. Se desconoce el potencial de metabolitos del aceite esencial de plantas medicinales.

Objetivo general. Investigar *in vitro* el efecto antiviral e inhibitorio de IL-8 de metabolitos.

Metodología. Se incluyeron cuatro terpenos y un hidrocarburo aromático (Sigma Aldrich Co.). La concentración máxima no tóxica (CMNT) para célula humana (HEK-293) se determinó por MTT. La actividad antiviral e inhibitoria de IL-8 se evaluó en hepatocitos humanos (HepG2): VDEN-2 se adsorbió a las células y la replicación se llevó a cabo en presencia o no de compuesto a CMNT. El modo de acción antiviral se evaluó por tratamiento del cultivo infectado a las 8, 12, 24 y 48 h después de la adsorción. Se colectó el sobrenadante a las 72 h para cuantificar NS1 e IL-8 por ELISA.

Resultados. La CMNT fue desde 15.0 hasta 41.8 µg/mL. En cultivos infectados con 3.16 CCID₅₀ NS1 se redujo en 88.0, 92.8, 83.8 y 91.0% con tres terpenos (CV01, TM03, CT04) y el hidrocarburo (FT02). Cuando se usó 10 veces más virus (31.6 CCID₅₀), se mantuvo la actividad antiviral (reducción >50%) de tres de los cuatro compuestos. Se observó reducción de IL-8 desde 100 hasta 75% con los cinco compuestos analizados. Al incrementar la concentración de virus a 316 CCID₅₀ y disminuir cinco veces la concentración del compuesto (2.7 - 3.6 µg/mL) se observó reducción de IL-8 entre 50%-60%. El FT02 a CMNT inhibió NS1 en 90.2% por tratamiento en las primeras 12 h, mientras 64.5% después de este tiempo.

Conclusiones. Los metabolitos de aceites esenciales analizados, poseen potencial *in vitro* como droga para el dengue. La acción parece ser inhibiendo etapas tempranas del ciclo viral con inhibición sostenida de IL-8. Este trabajo hace parte del Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas, Colciencias, Contrato RC 0572-2012.

*Laboratorio de Arbovirus, Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Universidad Industrial de Santander. Parque Tecnológico Guatiguará, Universidad Industrial de Santander, Piedecuesta.

TLO02. Detección de variantes virales resistentes a Telaprevir y Boceprevir en individuos infectados por virus de hepatitis C sin tratamiento

Salvador Fonseca*, Alejandro Escobar*, Mayra Cruz*, Karina Ruiz*, Gilberto Vaughan*

Introducción. El uso de Telaprevir y Boceprevir, ambos inhibidores de proteasas (IP), como parte de la terapia triple para hepatitis C ha incrementado significativamente los porcentajes de respuesta virológica sostenida (RVS); sin embargo, se han identificado diversas mutaciones asociadas a la resistencia viral hacia ambos IPs. En ausencia de presión selectiva, los virus de la hepatitis C fármaco-resistentes están presentes en baja frecuencia, haciendo que el proceso de detección de las mutaciones se convierta en un reto.

Objetivo general. Implementar y evaluar un método de PCR "Mismatch Amplification Mutation Assay" (MAMA-PCR) para la detección específica de mutantes virales fármaco-resistentes.

Metodología. Se evaluaron cuatro pacientes con infección por HCV genotipo 1 sin tratamiento con IP's. Para el MAMA-PCR se diseñaron primers mutante-específicos para las regiones NS3 previamente reportadas *in vivo* con mayor frecuencia (V36A/M, T54A, R155K/T y A156V/T/S para Telaprevir; V55A, V170A, V36A/M, T54A/S, R155K/T y A156S para Boceprevir; se comparó la presencia de variante virales contra métodos de secuenciación directa (Sanger) y Pirosecuenciación masiva.

Resultados. MAMA-PCR logró identificar variantes virales resistentes a IP's, otros métodos convencionales (Sanger, dilución limitante y clonación), fueron menos sensibles. La frecuencia de las variantes virales resistentes fue menor al 1%. La secuenciación masiva de los amplicones permitió realizar un análisis detallado de la estructura de la población viral para la proteína NS3.

Conclusiones. Se identificó la presencia de variantes virales resistentes a los fármacos de nueva generación en pacientes sin tratamiento; esta información es importante para el manejo de adecuado de los pacientes.

*Laboratorio de Inmunobiología de Enfermedades Infecciosas, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Estado de México, México.

TLO03. Efecto inhibitorio de la curcumina en la infección por virus dengue en un modelo celular *in vitro*

Leonardo Padilla-S.*‡, Andrés Rodríguez*, María M. González*, Juan C. Gallego-G.‡, John C. Castaño*

Introducción. El dengue es una enfermedad febril, que puede afectar a más de 2.500 millones de personas en el mundo, no existe vacuna aprobada para aplicación en humanos y no hay tratamiento específico para la enfermedad, por lo tanto, la búsqueda de moléculas con posible potencial terapéutico frente a la infección, es una prioridad.

Objetivo general. Evaluar el efecto de la curcumina frente a un modelo de infección en dengue *in vitro*. Se observó un efecto reductor en la producción de viriones infectivos de dengue dosis dependiente, asociado a la alteración de diferentes sistemas celulares que incluyen: el citoesqueleto (actina, microtúbulos y filamentos intermedios), el sistema ubiquitina proteosoma, generación de estrés del retículo endoplasmático y activación de apoptosis.

Metodología. El recuento de PFU se realizó por la técnica de recuento en placa, la alteración de el citoesqueleto de Actina, microtubulos y filamentos intermedios, se evaluó, mediante IFI y se visualizó en el microscopio confocal de disco giratorio, la cuantificación de ubiquitina Ly48, Caspasa 3 activada, proteína viral y estrés del retículo endoplasmático (pPERK y ATF6 e IRE), se determinó por in cell western y mediante western blot se evidenció la presencia de ubiquitina Ly48.

Resultados. Se observó disminución en el recuento de las PFU dosis dependiente, alteración del citoesqueleto de actina, microtubulos y filamentos intermedios, aumento de las proteínas ubiquitinizadas Ly48, aumento de las Caspasa 3 activada y células con marcaje de anexina V, disminución de la proteína viral y de la proteína pPERK, ATF-6 e IRE; Estos efectos son más evidentes en las células infectadas y tratadas con curcumina.

Conclusiones. La curcumina afecta diferentes sistemas celulares, produciendo alteración del ciclo del virus dengue.

*Grupo: GYMOL. Universidad del Quindío, Colombia. ‡Grupo: Medicina molecular y de traslación. Universidad de Antioquia, Colombia. †Correspondencia: Calle 12N Universidad del Quindío, Facultad de ciencias de la salud, Armenia, Quindío, Colombia. ‡Contacto: leopadsa@yahoo.com

TLO04. Efectos inhibitorios de derivados del ferruginol durante la infección viral *in vitro* de herpesvirus y dengue

Vicky Roa*, Yaneth Miranda*, Liliana Betancur*, Juan Gallego‡, Miguel González‡

Introducción. El ferruginol, un fenol diterpenoide aislado a partir de plantas pertenecientes a la familia *Cypressaceae*, entre otras; algunos derivados exhiben bioactividad prometedor, lo cual ha promovido el estudio de su actividad antiviral. Los Herpesvirus Humanos tipo 1 y 2 (HHV-1 y HHV-2) y Dengue (DENV-2), son virus envueltos epidemiológicamente relevantes en nuestro entorno; y al tener genoma DNA y RNA respectivamente, son excelentes modelos para la búsqueda de nuevos antivirales.

Objetivo general. Evaluar la actividad antiviral *in vitro* de derivados del ferruginol, así como su efecto inhibitorio sobre virus envueltos con genoma DNA y RNA.

Metodología. La actividad anti-herpética y anti-dengue, se evaluó mediante la Técnica de Titulación de Punto Final e Inhibición del Efecto Citopático, respectivamente. La citotoxicidad se determinó mediante la técnica del MTT y se calculó el índice de selectividad. El sinergismo entre Aciclovir y los compuestos activos se evaluó mediante la técnica de tablero de ajedrez; así mismo, su mecanismo se evaluó mediante ensayos de inhibición pre y post-infección.

Resultados. Catorce compuestos fueron evaluados para determinar su actividad frente HHV-1, HHV-2 y DENV-2, siendo los derivados 56M y 57M los únicos activos frente a los dos modelos virales y no citotóxicos sobre células no infectadas. Disminución del número y tamaño de las placas virales en etapas post-infectivas se observó en los ensayos de inhibición, desatancándose el 57M por su buen índice de selectividad antiviral (IS>10). Se observó un efecto aditivo de estos compuestos en combinación con Aciclovir.

Conclusiones. El estudio de estos derivados arroja resultados promisorios en la búsqueda de candidatos a fármacos para el tratamiento de infecciones causadas por virus envueltos con genoma DNA y RNA, ya que pueden afectar vías celulares comunes necesarias para su diseminación. Además, son potentes inhibidores de la infectividad de HHV-1, HHV-2 y DENV-2 en etapas post-infectivas, ya que reducen la diseminación célula a célula.

*Grupo de Investigación Dermatológica (GRID). Facultad de Medicina. Departamento de Medicina Interna Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; †Grupo de Medicina Molecular y de Traslación. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; ‡Departamento de Química Orgánica, Universidad de Valencia, E-46100 Burjassot, Valencia, España.

TLO05. Análisis multiplexado de citoquinas mediadoras de la inflamación en infecciones sincronizadas con virus dengue: identificación de potenciales biomarcadores de la infección y perspectiva funcional de la patogénesis del dengue

Diego A. Álvarez-Díaz*†, Elizabeth Orozco*†, Juan Carlos Gallego-Gómez*†

Introducción. El dengue es una enfermedad viral endémica de regiones tropicales y subtropicales, anualmente se presentan entre 50-100 millones de casos de Dengue No Grave (DNG) y entre 250.000-500.000 casos de Dengue Grave (DG) en todo el mundo. El DG es una manifestación clínica potencialmente letal, caracterizada por la extravasación del plasma al nivel microvascular. Diversos estudios han relacionado al DG con un desequilibrio en el perfil de citoquinas proinflamatorias y otros mediadores solubles, cuyos efectos sobre el endotelio dirigen la desestabilización de la de barrera endotelial. Tradicionalmente se ha estudiado la interacción DENV-células de sangre periférica, pero poca atención se ha prestado al sistema DENV-células endoteliales (ECs) microvasculares a pesar de que el endotelio es el órgano efector de la enfermedad.

Objetivo general. General. Identificar perfiles de expresión de citoquinas mediadoras de la inflamación asociadas a la infección por DENV en células endoteliales de microvasculatura humana. Específicos. 1). Determinar las etapas del ciclo de replicación del DENV en células HMEC-1. 2). Evaluar los niveles de expresión de citoquinas mediadoras de la inflamación durante las etapas de replicación del DENV en células HMEC-1.

Metodología. En este estudio se determinó la dinámica de crecimiento del Virus Dengue 2 (DENV2) en células endoteliales de microvasculatura humana (HMEC-1), mediante infecciones sincronizadas durante 48 horas, se colectaron sobrenadantes de cultivo a diferentes intervalos de tiempo para determinar las diferentes etapas del ciclo de infección viral, evaluación de perfiles de citoquinas mediadoras de la inflamación, ensayos de migración y LDH.

Resultados. Análisis de microscopía de fluorescencia de células HMEC-1 mostraron una infección sincronizada del ~82% del cultivo entre 12-24 horas pos infección (hpi) a una MOI de 15. Dicha sincronización nos permitió identificar las fases del ciclo replicativo del DENV caracterizado por una fase de eclipse entre 3-6 hpi, seguida de una rápida liberación de progenie viral entre 12-24 h.p.i con un descenso entre 36-48 h.p.i. Adicionalmente, ensayos de LDH no mostraron pérdida de viabilidad celular durante el curso de estos experimentos. Por otro lado, estudios conducidos por Orozco E., et al., 2013 (datos sin publicar) en células no infectadas estimuladas con sobrenadantes condicionados de diferentes h.p.i, de nuestras infecciones sincronizadas, mostraron un perfil bifásico de migración caracterizado por baja migración con sobrenadantes de 12-24 hpi y alta migración con sobrenadantes de 36-48 h.p.i. Finalmente, análisis multiplexados de la expresión de 27 citoquinas mediadoras de la inflamación en sobrenadantes de cultivo, nos permitieron diferenciar tres grupos: 1). Sin cambios detectables en los niveles de expresión respecto al control, 2). Citoquinas sub-reguladas de manera proporcional al tiempo y 3). Citoquinas sobre-expresadas en horas tardías de la infección (36-48 h.p.i), coincidiendo con las h.p.i donde se observó el mayor patrón de migración.

Conclusiones. A altas concentraciones de DENV2 (MOI-15) se generan infecciones sincronizadas productivas en células HMEC-1, en las cuales, desequilibrios en el perfil de citoquinas mediadoras de la inflamación, inducen patrones de migración en horas tardías de la infección los cuales pueden estar relacionados con la disfunción de la barrera endotelial observada en el DG.

*Grupo de Medicina Molecular y de Traslación. †Grupo de Neurociencias, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia. Colciencias 111554531621. Contacto: kensof@gmail.com

TLO06. Análisis de la presencia de cuerpos apoptóticos en vesículas de membrana liberadas por células epiteliales intestinales infectadas con rotavirus

Diana Bautista*, Luz-Stella Rodríguez†, Manuel Franco‡, Juana Angel‡, Alfonso Barreto*

Introducción. La infección de células epiteliales intestinales humanas (Caco-2) con rotavirus incrementa la liberación de vesículas de membrana (VM) concentradas a 100,000 xg con capacidad de inhibir la función de linfocitos T CD4+. En estas VM se encontraron dos poblaciones distintas, una con densidad de flotación en gradiente de sacarosa entre 1,10-1,18 g/mL (exosomas) y otra >1,24 g/mL (posibles cuerpos apoptóticos). Ambas han mostrado propiedades inmunomoduladoras. No se conoce el efecto de la muerte celular inducida por el virus sobre la heterogeneidad de las vesículas producidas.

Objetivo general. Determinar el efecto de la inhibición de apoptosis sobre la heterogeneidad de VM producidas durante la infección células Caco-2 con rotavirus.

Metodología. Células Caco-2 fueron tratadas con inhibidores de caspasas e infectadas con rotavirus. Se evaluó la heterogeneidad de las vesículas producidas concentradas por centrifugación diferencial a 4,000 xg (VM derivadas de células muertas), 10,000 xg (microvesículas) y 100,000 xg (exosomas/cuerpos apoptóticos pequeños) o por filtración/ultracentrifugación a 100,000 xg.

Resultados. En ausencia de inhibidores, la infección incrementó marcadores de exosomas (CD63, Hsc70, AchE) en todas las VM obtenidas por centrifugación diferencial, sin embargo, la histona 3 (marcador de apoptosis) aumentó únicamente en VM concentradas a 100,000 xg (tanto por centrifugación diferencial como filtración/ultracentrifugación). Los inhibidores de caspasas disminuyeron la apoptosis inducida por el virus, sin afectar la producción viral, ni la expresión y localización intracelular de la proteína CD63. Igualmente, estos inhibidores disminuyeron marcadores de exosomas en fracciones de 1,10-1,18 g/mL y >1,24 g/mL (previamente preparadas por filtración/ultracentrifugación); y disminuyeron Hsc70 y AchE en VM obtenidas por centrifugación diferencial solamente a 100,000 xg, pero no en VM obtenidas a 4,000 xg o 10,000 xg.

Conclusión. La muerte celular inducida durante la infección por rotavirus podría producir dos tipos de VM, una dependiente de caspasas obtenida a 100,000 xg y posiblemente, una independiente de caspasas concentrada a 4,000 xg.

*Grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia; †Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

TLO07. CD27 soluble está asociado con formas severas de dengue pediátrico y es en parte producido por linfocitos B

Diana M. Castañeda*, Doris M. Salgado*†, Carlos F. Narváez*

Introducción. Formas solubles de CD27 (Familia TNFa) y CD38 (ADP ribosa hidrolasa) han sido asociadas a la actividad y pronóstico de enfermedades neoplásicas e infecciosas y clásicamente su origen se atribuye a linfocitos T. Sin embargo, de todas las células inmunes, los linfocitos B (LB) expresan los más altos niveles de CD27 y CD38. Una masiva respuesta de LB circulantes ha sido descrita en la infección por Virus Dengue (VD).

Objetivo general. Determinar si la infección natural con VD en niños modifica los niveles plasmáticos de sCD27 y sCD38, si estos niveles están relacionados con la severidad clínica y si LB a demás de LT, pueden ser el origen de sCD27 y sCD38 en niños con dengue.

Metodología. 51 niños infectados con VD con diferentes grados de severidad clínica, además 10 niños sanos y 13 febriles sin dengue como controles, fueron analizados. La concentración de sCD27 y sCD38 fue determinada usando estuches comerciales de ELISA. Para determinar si LB de niños infectados naturalmente con dengue secretan estas dos moléculas, mononucleares de sangre periférica fueron marcados con anti-CD19 acoplado a esferas magnéticas y los LB purificados por selección positiva. La fracción de LB y la depleta de LB fueron cultivadas por 96h. Finalizado el cultivo, en los sobrenadantes fueron evaluados los niveles de sCD27 y sCD38. La pureza de las poblaciones y el porcentaje de subpoblaciones de LB se determinó por citometría de flujo.

Resultados. La infección por VD en niños induce un incremento significativo de sCD27 y sCD38 en plasma, que para sCD27 pero no para sCD38, correlacionó positivamente con la severidad de la enfermedad. LB activados naturalmente por la infección con VD produjeron detectables cantidades de sCD27 que correlacionaron con la frecuencia de plasmablastos en los cultivos.

Conclusiones. LB inducidos por la infección natural con VD en niños en parte producen sCD27 y este a su vez está asociado con la severidad clínica.

*Programa de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Sarcolumbiana, Neiva, Colombia. †Departamento de Pediatría, Hospital Universitario de Neiva, Colombia.

TLO08. Disminución en la expresión de TLR y producción de citoquinas pro-inflamatorias en individuos expuestos al VIH-1, que permanecen seronegativos

Juan Hernández*, Diana Giraldo†, Lanie Ruiz‡, Silvio Urcuqui-Inchima†

Introducción. Dado que los individuos expuestos al VIH-1 que permanecen seronegativos (HESN), presentan resistencia a la infección por el VIH-1, podrían ofrecer pistas importantes para identificar los mecanismos inmunológicos asociados con dicha protección. Se ha descrito que los HESN presentan activación inmunológica, pero existen pocos estudios orientados a determinar la importancia de la inmunidad innata, en particular, los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que reconocen los patógenos y promueven la liberación de citoquinas pro-inflamatorias.

Objetivo general. Evaluar la expresión y función de los PRR en células de la inmunidad innata (monocitos, células dendríticas y células NK) de individuos HESN, pacientes infectados con VIH-1 y controles sanos.

Metodología. Se incluyeron 11 individuos HESN, 31 pacientes infectados con VIH-1 y 13 controles sanos. La expresión de los PRR *ex vivo*, fue cuantificada por citometría de flujo y qPCR; y la concentración de citoquinas en plasma fue determinada por ELISA.

Resultados. Las células dendríticas mieloides y plasmacitoides de HESN expresan mayor cantidad de TLR2, comparado con los pacientes infectados con VIH-1. Sin embargo, la cantidad de mRNA de TLR4, TLR8, NOD2 y RIG-I fue menor en los HESN comparados con los pacientes infectados con VIH-1. Igualmente se encontró diferencias significativas en el mRNA de IL-1 β , IL-18 y TNF- α y a nivel de proteína, la concentración plasmática de IL-1 β , IL-6 e IL-10 fue significativamente menor en HESN, comparada con los pacientes infectados con VIH-1.

Conclusiones. Los resultados sugieren que los HESN presentan una disminución en los componentes de la respuesta pro-inflamatoria, lo cual podría disminuir no solo estado de activación inmunológica, sino también contribuir con la resistencia natural a la infección por el VIH-1. Sin embargo, es importante determinar la naturaleza causal de dicha resistencia y definir las sub-poblaciones celulares implicadas.

*INFETTARE, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín – Colombia. †Grupo Inmunología, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia.

TLO09. Expresión inducible de la proteína NS5A del GBV-C para evaluar el efecto en la replicación del VIH-1 en células HeLa

Johanna C. Arroyave*†, María-Cristina Navas†, Flor Pujol‡, Fabián Cortés-Mancera*†

Introducción. El virus GB tipo-C (GBV-C) pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Pegivirus*, y es considerado no patogénico en humanos. Recientemente, se ha planteado un efecto benéfico en la coinfección GBV-C y VIH-1 (Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1); en parte debido a que la proteína NS5A del GBV-C tiene la capacidad de inhibir la replicación del VIH-1 *in vitro* mediante la inducción de quimioquinas como SDF-1 y RANTES, sin embargo otros posibles mecanismos de inhibición mediados por NS5A aún no han sido explorados.

Objetivo general. Desarrollar un modelo *in vitro* para la expresión inducible de la proteína NS5A del GBV-C y evaluar el efecto de NS5A en la replicación del VIH-1.

Metodología. Para desarrollar el sistema inducible, células HeLa fueron transfectadas de manera estable con el plásmido pTetOff, y se evaluó el silenciamiento del sistema en presencia doxaciolina. Posteriormente, células HeLa-TetOff (3×10^5 células/pozo) fueron cotransfectadas de manera transitoria con el plásmido pNL4-3 Δ EnvGFP (clon VIH-1) y el constructo pTRE-Tight_NS5A (NS5A del GBV-C). A diferentes tiempos postransfección (24-96h) se cuantificó la expresión relativa de los transcritos Gag-Pol (9Kb) y NS5A mediante qRT-PCR.

Resultados. De un total de 22 clones HeLa-TetOff seleccionados con G418, tres mostraron una alta inducción respecto al control (Dox+), de la expresión de luciferasa y DsRed. Mediante cuantificación del mRNA de NS5A se confirmó la expresión inducible con 220 veces más en las células Dox- vs Dox+, sin embargo no se encontraron diferencias significativas en los niveles relativos del mRNA Gag-pol entre las células comparadas con el control (Dox+), en los tiempos evaluados (24 h - 96 h).

Conclusiones. Se logró establecer un sistema de expresión inducible de la proteína NS5A del GBV-C en la línea celular estable HeLa-TetOff. Los resultados obtenidos no permiten concluir un efecto de la proteína NS5A en la replicación del VIH-1 en este modelo de expresión transitoria inducible.

*Grupo de Investigación e Innovación Biomédica GI2B, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia. †Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

TLO10. Riesgo de transmisión transfusional de HTLV I–II, Colombia, 2001- 2012

María Isabel Bermúdez F.*, Mauricio Beltrán D.*, Maritza Berrio P.*

Introducción. El HTLV I-II es un retrovirus, el tipo I endémico en Japón, Caribe, África y América; el tipo II es prevalente en EE.UU y Europa asociado principalmente en usuarios de drogas intravenosas; dado que entre los dos tipos comparten 65% de las secuencias, el tamizaje se hace en simultaneo para HTLV I y II. Por vía transfusional es asociado a componentes celulares, se ha descrito un riesgo de seroconversión de 44% a 82%, dependiendo de la endemidad de la zona. El HTLV-I se relaciona principalmente a patologías como leucemia T del adulto, con un período de incubación entre 30-40 años, mielopatía, y paraparesia espástica tropical, cuyo período de incubación es de 3 a 5 años.

Objetivo general. Describir el riesgo de transmisión transfusional de HTLV I-II en Colombia, de 2001 a 2012, acorde con los datos epidemiológicos de la Red Nacional de Bancos de Sangre.

Metodología. Se realizó un análisis descriptivo retrospectivo de la información reunida por los bancos de sangre de Colombia y consolidada en el INS, de 2001 a 2012 sobre tamizaje, reactividad y positividad para HTLV I-II.

Resultados. En Colombia de 2001 a 2012, se tamizó 54,8% de la sangre captada para HTLV I-II, con una reactividad acumulada de 0,32%. El tamizaje en 2012, alcanzó 70% con una concordancia positiva cercana a 50%, lo cual representa una tasa de 14 donantes infectados por cada diez mil aceptados. Si en este periodo la totalidad la sangre captada se hubiera tamizado para este marcador, se habrían logrado evitar cerca de 1.987 personas infectadas, considerando la reactividad nacional y el riesgo de seroconversión en los receptores que pudieron recibir unidades infectas.

Conclusiones. Los resultados obtenidos sugieren que la prevalencia de HTLV I-II puede estar distribuida en diferentes zonas del país que no eran catalogadas como endémicas. Dada la importancia de este virus, y sus mecanismos de transmisión, se hace relevante realizar las pruebas tamiz al 100% de la sangre captada para minimizar el riesgo de ITT de HTLV I-II y disminuir el impacto de este evento en la salud pública.

*Grupo Red Nacional Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión, Instituto Nacional de Salud.

TLO11. El VIH-1 modula la expresión y función de TLR de neutrófilos *in vitro*

Diana M. Giraldo*, Juan C. Hernández†, Silvio Urcuqui-Inchima*

Introducción. Los neutrófilos son una población clave en la inmunidad innata, ya que son los primeros en llegar al sitio de infección e inducir una respuesta inflamatoria. Aunque estos han sido principalmente descritos en infecciones bacterianas, su capacidad funcional y la expresión de receptores tipo Toll (TLR) que reconocen componentes virales, indican un papel importante en infecciones virales. En la infección por VIH-1 se han evidenciado alteraciones funcionales de los neutrófilos, pero aún no se ha establecido una relación entre los TLR y el curso de la infección.

Objetivo general. Evaluar la modulación de la expresión y función de TLR-2-4-7-8, midiendo la expresión de CD62L y CD11b, producción de IL-6, TNF- α y de especies reactivas de oxígeno, bajo el estímulo con RNA de VIH-1.

Metodología. Neutrófilos purificados fueron estimulados con RNA de VIH-1. Se cuantificó la expresión de los TLR por PCR en tiempo real, la expresión de CD62L y CD11b y producción de ROS, por citometría de flujo y la producción de IL-6 y TNF- α , por ELISA. Neutrófilos también fueron estimulados con agonistas de cada TLR y el RNA viral simultáneamente, para evaluar el efecto en la funcionalidad de los TLR, midiendo los mismos parámetros anteriores.

Resultados. El RNA de VIH-1 moduló la expresión de TLR-2-7-8, indujo un incremento en la producción de IL-6 y TNF- α , moduló la expresión de CD62L, e incremento la producción de ROS en neutrófilos. Además el RNA de VIH-1 moduló el efecto producido por los agonistas de los TLR.

Conclusiones. Se demostró que el VIH-1 activa funcionalmente los neutrófilos a través de TLR-2-4-7-8, induciendo la producción de citoquinas proinflamatorias y la producción de ROS. Teniendo en cuenta que los neutrófilos pueden contribuir en el curso de la infección por VIH-1, estos podrían ser un nuevo blanco terapéutico para el control de la infección.

*Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, UdeA; [calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia]. †Grupo Infettare, Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

TLO12. Identificación de casos de hepatitis B oculta en donantes de bancos de sangre de Santander, Colombia.

Yeny Castellanos*, Vianney Portilla†, Leonor Chacón†, Gladymar Díaz*, Gina Miranda*, Ana Farfán*, Henry Bautista*

Introducción. La transmisión del virus de la hepatitis B (VHB) a través de componentes de sangre negativos para el antígeno s (HBsAg) ha sido previamente descrita. Por lo anterior, muchos países han implementado el marcador anti-HBc junto al HBsAg en el tamizaje de unidades de bancos de sangre para prevenir la transmisión del VHB. En Colombia, no existen estudios que avalen la implementación de una prueba adicional para descartar unidades de sangre potencialmente infectadas con el virus.

Objetivo general. Identificar casos de hepatitis B oculta (HBo) en sueros de donantes de bancos de Santander, mediante ensayos moleculares.

Metodología. Se realizó un estudio de corte transversal en muestras de suero procedentes de donantes de sangre de Santander entre 2012 y 2013. Del total de muestras con perfil HBsAg(-)/Anti-HBc(+), se seleccionó una submuestra de 160 con perfil serológico anti-HBc total (+)/HBsAg (-) que fueron analizadas mediante PCR anidado para detectar un fragmento de 581 nucleótidos del gen HBs del VHB. Como controles se usaron 44 sueros positivos para el HBsAg y 50 sueros negativos para todos los marcadores serológicos analizados. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados. La prevalencia de hepatitis B en donantes de sangre durante el período del estudio y evaluada por el marcador HBsAg fue del 0,72%. De las 160 muestras analizadas perfil serológico anti-HBc total (+)/HBsAg (-), 127 (79,4%) correspondieron al sexo masculino. La edad promedio de los sujetos fue de 39,98 años (rango 18-64 \pm 12,55). En 14 sueros (8,75%) se confirmó la presencia de ADN viral.

Conclusiones. Se determinó una prevalencia de HBo de 8,75% en la muestra analizada. Los análisis de secuenciación del virus permitirán identificar genotipos y subtipos circulantes en la región. Estos resultados sugieren incluir la prueba anti-HBc en el tamizaje de unidades de sangre en Santander.

*Universidad de Santander–UDES. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación en Manejo Clínico–CliniUDES. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas–LIBB, Bucaramanga, Colombia. †Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander. Bucaramanga, Colombia.

TLO13. Detección de segmentos génicos del Virus de la Leucosis Bovina en tejido mamario humano de mujeres con y sin cáncer de seno

Giovanna Meza*, JC. Ulloa*, AM. Uribe*, María Gutiérrez*

Introducción. Se cree que aproximadamente 15% de todos los cánceres pueden estar asociados con infecciones virales. Recientemente el VLB se ha vinculado con el cáncer de seno luego de haber encontrado anticuerpos contra el VLB en el 74% de los sueros humanos estudiados y de tener evidencia sobre la presencia de la gp51 del virus en cortes de tejidos mamaros de pacientes con cáncer canalicular de seno. Siendo el VLB un retrovirus que se relaciona con la leucemia de células B en los bovinos, es importante confirmar si este virus puede reconocer células humanas, insertarse en su genoma, realizar ciclos infecciosos en ella y si al hacerlo suscita transformación celular.

Objetivo general. Detectar un fragmento del gen *gag* del VLB en mujeres con cáncer de seno.

Metodología. Se evaluaron 53 cortes de tejido mamario de mujeres con cáncer de seno en 53 cortes de mujeres sin cáncer de seno.

Resultados. Se encontró el fragmento viral en el 35,8% y 45,2% de las muestras de mujeres con y sin cáncer de seno respectivamente. Los análisis bioinformáticos y filogenéticos de las secuencias obtenidas de los segmentos génicos, confirmaron que se trata del VLB, sugiriendo que un virus de origen animal puede reconocer células de tejido mamario humano e insertarse en su genoma.

Conclusiones. Estos resultados preliminares, junto con otros estudios reportados en la literatura mundial, generan la necesidad de conocer si el VLB realmente puede asociarse con esta patología en el humano.

*Grupo de Ciencias Biológicas y Bioquímicas Aplicadas. Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales - U.D.C.A. Bogotá- Colombia. Grupo de Enfermedades Infecciosas- Virología. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá- Colombia.

TLO14. Variabilidad genética del virus de la hepatitis B en Uruguay

Lilia López*, Laura García*, Juan Cristina*

Introducción. El Virus de la Hepatitis B (VHB) (Familia *Hepadnaviridae*) posee un genoma de ADN circular, parcialmente de doble cadena, que se replica mediante un intermediario ARN. Su variabilidad genética es 100 veces mayor que la de otros virus DNA. HBV se clasifica en 8 genotipos (A-H) que tienen incidencia fundamentalmente en la respuesta antiviral. La distribución mundial de los genotipos varía según la región, siendo el genotipo F el que se asocia a los Amerindios.

Objetivo general. Determinar los genotipos de HBV circulantes en Uruguay y detectar cepas recombinantes.

Metodología. Se realizó la amplificación por PCR de 7 genomas completos y 17 parciales de HBV de muestras de 11 donantes de sangre asintomáticos del Servicio Nacional de Sangre y 13 pacientes sintomáticos derivados al CHPR para su estudio. Los primers utilizados fueron proporcionados por el Dr. Rodolfo Campos (UBA). Las secuencias se alinearon utilizando el programa CLUSTAL Omega y se construyeron árboles filogenéticos de máxima verosimilitud utilizando el modelo de Kimura-dos parámetros mediante el uso de software del programa MEGA 5. La detección de posibles eventos de recombinación se realizó utilizando el programa SimPlot. Se analizaron 4 regiones del genoma comprendidas entre los nucleótidos 560-770 (Región A), 1861-2030 (Región B), 2520-2777 (Región C) y 2939-3169 (Región D).

Resultados. El análisis filogenético mostró la predominancia del genotipo F (12/24), seguido por A (6/24), D (3/24) y E (1/24). Se encontraron dos secuencias recombinantes (F/A y F/C). El genotipo F de origen amerindio se presentó en una proporción mayor a la de la población mestiza (mezcla de europeos e indígenas) que es del 9%. La prevalencia de ADN mitocondrial indígena en nuestra población varía del 2% en Montevideo al 68% en Tacuarembó. La presencia del genotipo F en la prevalencia encontrada reafirma los hallazgos genéticos.

Conclusiones. El genotipo F de HBV es el más prevalente (50%). Un 25% de los pacientes infectados (genotipo A) se beneficiarían de la terapia con interferón.

*Laboratorio de Virología Molecular. CIN. Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

TLO15. Relación entre el genotipo de IL-28B y el éxito del tratamiento en pacientes mexicanos con hepatitis C

Ali Posada*, Karina Ruiz*, Gilberto Vaughan*, Alejandro Escobar*, Salvador Fonseca*

Introducción. La hepatitis C es una enfermedad de curso crónico producida por el virus del mismo nombre (HCV); se ha reportado la existencia de dos polimorfismos de nucleótido único (SNP) presentes en regiones cercanas a los genes de IL-28B, asociados al éxito del tratamiento antiviral estándar (rs12979860C y rs8099917T) y, por lo tanto, con el desarrollo de respuesta virológica sostenida (SVR), los cuales presenten diferente expresión de acuerdo a la etnia.

Objetivo general. Determinar la asociación entre los SNPs presentes en IL-28B y el éxito del tratamiento con IFN y ribavirina en pacientes infectados con hepatitis C de origen mexicano.

Metodología. El DNA de pacientes (n= 93) y donadores sin HCV (n= 429), se purificó de sangre completa mediante columnas de afinidad; los SNP fueron identificados por genotipificación con sondas TaqMan por PCR en tiempo real. El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa GraphPad Prism 5.

Resultados. En población infectada el porcentaje de SVR fue 45.2%, siendo el genotipo 1 el más reportado; para el SNP rs8099917 los genotipos TT, TG y GG se presentaron en un 26, 52 y 22%, respectivamente; se encontró una asociación entre el genotipo TT y SVR: ($p=0.0033$), OR 0.234 (95%CI= 0.0853-0.6411), y para rs12979860CC y SVR: ($p=0.005$), OR 0.08 (95%CI= 0.0172-0.3858), con una distribución genotípica CC, CT y TT de 17, 57 y 26%, respectivamente.

Conclusiones. Los SNP rs8099917 y rs12979860 demostraron ser un factor predictivo de respuesta a la terapia estándar contra HCV en pacientes de origen mexicano.

*Laboratorio de Inmunobiología de Enfermedades Infecciosas, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

TLO16. Variación genética del herpesvirus de los Ostreidos 1 (*Malacoherpesviridae*) en muestras de moluscos bivalvos colectadas en Baja California Sur, México

Ayin Alvarado*, Valérie Barbosa†, Tristan Renault†, Ricardo Vázquez*

Introducción. Los herpesvirus pertenecen al orden *Herpesvirales*, que están divididos en: 1. *Herpesviridae* (mamíferos, aves y reptiles). 2. *Alloherpesviridae* (peces y anfibios). 3. *Malacoherpesviridae* (moluscos bivalvos). Este último contiene al Herpesvirus de los Ostreidos (OsHV-1), cuya detección es principalmente en cultivos de *Crassostrea gigas*, pero también se ha reportado en otras especies, y además se ha demostrado la transmisión intraespecie e infección horizontal. La secuenciación del genoma de OsHV-1 ha permitido identificar regiones con alto grado de variabilidad, útiles para la identificación de variantes del virus.

Objetivo general. Describir la variación genética de OsHV-1 en moluscos bivalvos colectados en Baja California Sur (BCS), México.

Metodología. En cultivos de *C. gigas* y *N. subnodosus* se buscó OsHV-1 mediante qPCR con blanco para el ORF 100 (región conservada). Posteriormente se realizó la caracterización del virus, con la amplificación y secuenciación parcial del ORF4, ORF35-38 y ORF41-43; mismas que fueron comparados con los genotipos de OsHV-1 disponibles en Genbank.

Resultados. Se obtuvieron 18 muestras positivas; donde el ORF41-43 presentó 100% de homología con el OsHV-1 (AY509253) de referencia. En el ORF35-38 el producto amplificado fue 384 pb y la identidad fue de 99% para el OsHV-1 de Nueva Zelanda (JN800251.1); mientras que para el ORF 4, solo en 5 muestras se pudo amplificar esta región, 4 mostraron 100% de identidad con el aislado de OsHV-1 La Cruz, Sonora México y una 97% con OsHV-1 μ var (HQ842610).

Conclusiones. El OsHV-1 presente en muestras de *C. gigas* y *N. subnodosus* colectadas en BCS, México, presenta relación filogenética con el OsHV-1 La Cruz, Sonora (JF894308) y con OsHV-1 μ var (HQ842610) en el ORF4, pero en algunas muestras no se logra amplificar esta región. Mientras que en el ORF35-38 se relaciona con OsHV-1 μ var (HQ842610) y para el ORF41-42 con el genotipo de referencia OsHV-1 (AY509253).

*Sanidad de moluscos, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México. †Patología y Genética de moluscos, Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Francia.

TLO17. Desarrollo de un sistema modelo para estudiar la replicación del virus de la hepatitis B, genotipo F, en células en cultivo

Rodrigo A. Villanueva*, Gustavo Jiménez*, Cristian Prieto*, Francisca Muñoz†, Valentina Alarcón†, Sergio Hernández*, Alejandra Loyola†

Introducción. El virus de la hepatitis B es un virus de DNA circular, que establece en el 10% de los casos una infección persistente crónica, pudiendo provocar cirrosis, y carcinoma hepático. Estudios previos de nuestro grupo han mostrado que el genotipo viral prevalente en Chile es el genotipo F (84%), y análisis filogenéticos de secuencias completas amplificadas desde suero de pacientes crónicos corresponden al subgenotipo F1b.

Objetivo general. Establecer un sistema para estudiar la replicación del VHB.

Metodología. Se basó en células hepáticas en cultivo, y muestras clínicas, amplificadas virales completos fueron clonados, y clones únicos con el genoma viral completo fueron secuenciadas bidireccionalmente. Resultados de secuenciación indicaron que un único clon (Clon 4.5) podría ser viable. El genoma viral completo fue liberado desde el vector de clonamiento por digestión enzimática, cuyos extremos cohesivos promueven la circularización del DNA genómico viral. Genomas virales purificados fueron transfectados en células de hepatoma humano en cultivo.

Resultados. Sobrenadantes de cultivo fueron analizados post-transfección tanto para la presencia de HBsAg, y HBeAg, como para la presencia de genoma viral, resultando positivos para la secreción de ambos antígenos virales, y también para DNA viral asociado a partículas virales. Consistentemente, el análisis de extractos celulares transfectados con el aislado 4.5 por medio de Southern blot, Northern blot, PCR convencional, y PCR en tiempo-real reveló la presencia de intermediarios de replicación de DNA viral, tanto citoplasmicos como nucleares, similares a los descritos en células infectadas por VHB. Adicionalmente, análisis de células transfectadas con el Clon 4.5 por medio de microscopía electrónica y tinción negativa permitió identificar partículas virales intracitoplásmicas sólo en células transfectadas con el genoma viral del Clon 4.5, y no en células control.

Conclusiones. El desarrollo de este sistema funcional de replicación viral del genotipo F basado en células en cultivo permitirá estudiar la regulación epigenética de la replicación viral, la patogénesis, y la interacción de células infectadas con nuevas sustancias con potencial antiviral.

*Laboratorio de Virus Hepatitis (LVH), Departamento de Cs. Biológicas, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago 8370146, Chile; †Laboratorio de Cromatina y Epigenética, Fundación Ciencia para la Vida, Santiago 7780272, Chile.

TLO18. Potenciación de la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) mediante la coinfección con granulovirus

Paola Cuartas*, Laura Villamizar*

Introducción. *S. frugiperda* es una plaga polífaga de amplia distribución geográfica, que ataca cultivos de importancia alimentaria como el maíz, donde ocasiona pérdidas hasta del 70% de la producción. Su control se hace principalmente con insecticidas químicos que pueden generar erradicación de fauna benéfica y resistencia de la plaga. Como alternativa para su control se han desarrollado estrategias biológicas mediante el uso de virus entomopatógenos de la familia Baculoviridae, principalmente alfabaculovirus (NPV) obteniendo porcentajes de control de hasta el 90%, pero cuyos costos y tiempos de acción son altos. En este sentido, otros virus como los betabaculovirus (GV) pueden actuar como sinergistas potenciando la actividad insecticida de los NPVs, lo que podría llevar a un manejo más eficiente de la plaga.

Objetivo general. Seleccionar la mezcla viral de NPV y GV que presente la mayor actividad insecticida contra larvas de *S. frugiperda*.

Metodología. Con el aislamiento SfGV008 y los aislamientos NPV003 y NPV003-A se realizaron mezclas separadas en diferentes proporciones y se determinó la concentración letal media (CL_{50}) y el tiempo medio de mortalidad (TMM) mediante un bioensayo en laboratorio en larvas de segundo ínstar de *S. frugiperda*.

Resultados. La mayoría de mezclas presentaron una mayor actividad biológica en comparación con cada uno de los aislamientos de manera separada, presentando mayor actividad las coinfecciones realizadas entre SfGV008 y NPV003. La mezcla correspondiente a 2,5% de GV y 97,5% de NPV, presentó la mayor potenciación de la actividad biológica del NPV con una disminución de 9,92 veces de la CL_{50} y de 4 días (96 horas) en el TMM.

Conclusiones. La mezcla de virus seleccionada en este trabajo puede servir como principio activo para el desarrollo de un nuevo bioplaguicida a base de los dos virus, que aproveche la estrategia de coinfección para un manejo más eficiente de la plaga en campo.

*Investigadores. Laboratorio de Control Biológico. Centro de Biotecnología y Bioindustria. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Mosquera, Colombia.

TLO19. Evolución de parvovirus canino en Uruguay

Rubén Pérez* †, Yanina Panzera*, Lucía Calleros*, Lourdes Francia*, Gregorio Iraola*, Sofía Greco*, Ana Marandino*, Gonzalo Tomás*, Lucía Carrau*, Martín Sosa*, Katia Hernández*

El Parvovirus Canino (CPV) es un virus autónomo de DNA simple hebra de 5.2 Kb. Desde su aparición en la década de 1970, CPV-2 constituye uno de los agentes infecciosos más importantes en cachorros. La variante inicial de CPV (CPV-2) fue rápidamente reemplazada por una nueva, denominada CPV-2a. Posteriormente surgieron dos variantes genéticas y antigénicas, 2b y 2c, que difieren en el aminoácido 426 de la proteína VP2 de la cápside. En Uruguay han ocurrido dos invasiones sucesivas por cepas de distinto origen. A principio del 2000, cepas 2c de Europa invadieron y reemplazaron las cepas preexistentes (2a y 2b). En el 2010 ocurrió una invasión de cepas 2a de origen Asiático que comenzaron a reemplazar las cepas 2c. Durante los años 2010-2011, ambas variantes han coexistido, brindándonos la oportunidad de analizar su interacción y dinámica. En este trabajo se analiza el genoma completo de cepas de CPV uruguayas de tipo 2c y 2a para determinar: 1) la divergencia genómica entre ambas cepas, 2) la existencia de eventos de co-infección y 3) la ocurrencia de recombinación. Las secuencias completas del genoma se obtuvieron por PCR en 40 cepas (2a y 2c) colectadas durante 2010-2011 en Uruguay. Los eventos de coinfección se analizaron con primers específicos para las variantes 2a y 2c. Se utilizaron los programas SplitsTree y RDP para analizar la divergencia y la recombinación. Las cepas 2a y 2c que existen en la población uruguaya constituyen dos grupos discretos y altamente divergentes en todo el genoma. Se detectaron varios casos de co-infección y se identificaron cepas recombinantes. Nuestros hallazgos cambian el paradigma de evolución de parvovirus canino, ya que indican que la invasión de cepas, la co-infección y la recombinación tienen una relevancia mayor que la sugerida previamente.

*Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias – Universidad de la República (Uruguay). †Contacto: rperez@fci.uba.edu.uy

TLO20. Vigilancia de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres presentes en explotaciones avícolas

Diego Soler-Tovar* || **, Laura Vargas-Castillo† ||, Andrés Santander‡ ||, Diana Álvarez§ ||, Arlen Gómez* ||

Introducción. Se ha reportado en Colombia la presencia de cepas vacunales de la enfermedad de Newcastle (Paramyxoviridae, *Avulavirus*) en aves de corral, lo cual ha generado preocupación en la industria avícola y ha abierto un espacio para evaluar las estrategias de prevención y control y de vigilancia epidemiológica activa en las zonas de alta concentración de aves de corral en relación a la presencia de aves silvestres dentro de las instalaciones y a la posible transmisión de esta enfermedad entre estas especies.

Objetivo general. Desarrollar capacidades para la vigilancia de la enfermedad de Newcastle en aves silvestres presentes en explotaciones avícolas de Fómeque (Cundinamarca).

Metodología. Se priorizó la presencia de aves silvestres dentro y en los alrededores de las granjas mediante observación y registro fotográfico; posteriormente se efectuó la captura de individuos mediante redes de niebla para la obtención de muestras para la realización de pruebas serológicas; la toma de las muestras de sangre se realizó mediante el corte de uña del tercer dedo del miembro inferior y se colectaron en capilares para su posterior análisis mediante la técnica de ELISA.

Resultados. Se identificaron 6 órdenes y 22 especies para un total de 394 aves, en nueve producciones. El número de aves capturadas fue de hasta siete por explotación, dependiendo de la variación climática y el grado de deforestación de las producciones, para un total de 48 individuos. Se observaron títulos positivos para la enfermedad de Newcastle en el pool de sueros de dos de las nueve granjas.

Conclusiones. Se evidencia la presencia de anticuerpos en estas poblaciones de aves dentro de explotaciones avícolas comerciales, lo que sugiere un posible contacto con cepas circulantes de Newcastle entre estas especies. Este acercamiento proyecta futuros estudios que permitan la identificación del virus recirculante en campo y su grado de virulencia.

*Docente Investigador. Programa de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias. †Estudiante Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias. ‡Estudiante Programa de Maestría en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias. §Investigador. Facultad de Ciencias Agropecuarias. || Grupo de Investigación Epidemiología y Salud Pública. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. **Contacto: diegosoler@unisalle.edu.co

TLO21. Primero reporte de la circulación natural de *Enterovirus* humanos, en Maputo-Mozambique

Diocreciano Matias Bero* ‡, Fernanda Marcicano Burlandy†, Nilsa de Deus*, Eliane Viega da Costa da Costa†, Ilesh Vandrai Jani*, Edson Elias da Silva†

Introducción. Los Enterovirus Humanos (HEV) pertenecen al género *Enterovirus*, familia *Picornaviridae*. Al HEV divididos en cuatro especies, del HEV A al D. Estos patógenos, infectan todos los años, millones de personas en el mundo, lo que resulta en una gran variedad de signos clínicos: desde infecciones inaparentes y enfermedades graves. Los niños son los más propensos a la infección. La transmisión ocurre por la vía entérica y por la vía respiratoria. El virus puede ser eliminado en las heces durante varias semanas.

Objetivo general. Este estudio, tenía como objetivo aislar e identificar los serotipos de HEV circulantes en muestras de heces de niños menores de 15 años de edad, que presentaban señales clínicos compatibles con una infección causada por enterovirus, en el Hospital Geral de Mavalane, en Maputo-Mozambique.

Metodología. En este trabajo, 178 muestras de heces fueron obtenidas entre noviembre de 2011 y febrero de 2012. Las muestras fueron inoculadas en cultivos celulares para el aislamiento de *Enterovirus*. Las muestras que presentaron efecto citopático fueron testeados mediante métodos moleculares. Además, las muestras negativas al *Enterovirus* fueron analizadas para el *Adenovirus* mediante métodos moleculares.

Resultados. De las 45 muestras positivas en los cultivos celulares, 26 muestras (14.6%) fueron *Enterovirus* positivas. El aislamiento de *Enterovirus* disminuía con el incremento de la edad de los participantes del estudio. El secuenciamiento del genoma ha mostrado una gran diversidad de *Enterovirus* humanos. De entre los 26 *Enterovirus* aislados, el *Echovirus* 29 fue el patógeno más frecuente con 19.2%, seguido por el HEV 99 en 11.5%. Además fueron identificados el *Coxsackievirus*; *Echovirus*; HEV C y *Poliovirus* vacunal. Los *Adenovirus* fueron aislados en 20 muestras lo que representa 11.2% del total de muestras.

Conclusiones. Los resultados de este trabajo muestran una gran diversidad de enterovirus que circulan de forma natural en Maputo, siendo los *Echovirus* los más frecuentes pero también fueron encontrados Adenovirus.

*National Institute of Health of Mozambique, Ministry of Health, Maputo - Mozambique. †Enterovirus Laboratory, Oswaldo Cruz Institute/Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil. País de Origen: Mozambique. ‡Contacto: dberoo@gmail.com - Teléfono: 00258 82 54 77380.

TLO22. Las proteínas Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 interactúan con rotavirus WTEW durante la infección a las líneas tumorales U-937 y Reh

Juan Hernández*, Carlos Guerrero*, Orlando Acosta*

Introducción. Actualmente se buscan alternativas al tratamiento del cáncer distintas a la quimioterapia o radioterapia, sin los efectos secundarios que éstos presentan, por ejemplo, los virus oncolíticos que aprovechan su capacidad de infectar y destruir células tumorales, sin afectar las células normales. Nuestro laboratorio obtuvo cinco aislamientos rotavirales que infectan células tumorales y deseamos determinar si utilizan las proteínas de choque térmico (HSPs) para ingresar a la célula.

Objetivo general. Evaluar la interacción del rotavirus seleccionado (WTEW) con Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 durante la infección a las líneas tumorales U-937 y Reh.

Metodología. Se evaluó la expresión de las HSPs en la superficie celular mediante citometría de flujo. Se analizó la interacción de WTEW con las HSPs de células integra, fracciones enriquecidas de membranas citoplasmáticas o HSPs solubles. Se evaluó la capacidad de bloqueo de las HSPs solubles o péptidos sintéticos derivados de HSPs, luego de incubarlos con rotavirus y adicionar el complejo a las células. Se bloqueo la infección incubando anticuerpos específicos anti-HSPs con la célula e infectando con rotavirus.

Resultados. Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 están presentes en la membrana citoplasmática de las líneas celulares U-937 y Reh. WTEW interactúa con Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 de células integra, fracciones enriquecidas de membranas citoplasmáticas o HSPs solubles. Las HSPs solubles o péptidos sintéticos derivados de HSPs, disminuyeron la infección luego de incubarlos con el rotavirus. Igualmente, los anticuerpos específicos anti-HSPs redujeron diferencialmente la infección.

Conclusiones. Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 se unen a rotavirus WTEW durante el proceso de entrada a las líneas celulares U-937 y Reh.

*Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

TLO23. Evaluación de la capacidad inhibitoria de moléculas obtenidas a partir de bacterias probióticas frente a la infección *in vitro* por Astrovirus

Jazmín López*, Juan Ulloa*, María Gutiérrez*

Introducción. La gastroenteritis causada por agentes virales tiene un gran impacto a nivel social y económico en países en desarrollo y subdesarrollados. En la comunidad, los astrovirus (AstV) son responsables entre un 4% y un 10% de los casos de gastroenteritis (Wilhelmi I; Román E; Sánchez-Fauquier A., 2003). Teniendo en cuenta que no existe una vacuna y aceptando las bondades de los probióticos para disminuir la sintomatología de la diarrea de etiología viral, con este proyecto se buscó evaluar si alguna de estas bacterias presenta capacidad antiviral y si esta capacidad es dada por la bacteria completa, por sus proteínas de superficie o por los metabolitos producidos durante su crecimiento en medio líquido. El modelo de estudio fue dirigido a bloquear la adhesión viral a células epiteliales en cultivo. (Botic el al., 2007; Seo et al., 2010).

Objetivo general. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad antiviral de cinco cepas bacterianas pertenecientes al género *Lactobacillus* spp., y cinco cepas pertenecientes al género *Bifidobacterium* spp., las cuales se pusieron en contacto con la línea celular Caco2 originaria de cáncer de colon.

Metodología. Inicialmente se determinó el efecto no tóxico de las bacterias sobre las células y luego se evaluó la reducción de la infección con el Ast cepa YUC-8. La infección viral fue cuantificada por la presencia de antígeno viral intracelular mediante citometría de flujo.

Resultados. Se observó que todas las cepas evaluadas reducían entre un 10%-40% la infección, sin embargo como el *Bifidobacterium lactis*, mostró la máxima inhibición de la infección viral (40%), a esta cepa se le extrajeron las proteínas de membrana y se concentraron los metabolitos proteicos, buscando cual de ellos ejercía el efecto buscado.

Conclusiones. Este estudio mostró que *Bifidobacterium lactis* ejerce función antiviral *in vitro*, co-incubando la bacteria completa, sus proteínas de membrana y los metabolitos proteicos.

*Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Departamento de Microbiología, Grupo de enfermedades infecciosas, Bogotá, Colombia

TLO24. Dinámica de circulación de virus causantes de enfermedad diarreica aguda en menores de 5 años, a partir muestras fecales recibidas para control de calidad de resultados de rotavirus. Colombia 2009-2013

Dioselina Peláez*, Johanna Rodríguez*, Mario Ardila*, Lady Contreras†, Jairo Méndez*, Karol Cotes†

Introducción. La diarrea es una importante causa de morbi-mortalidad en países en desarrollo. Aquella causada por rotavirus ha significado un desafío en salud pública, tanto que la mayoría de los países de las Américas ha introducido vacuna en los últimos cinco años. En 2008 Colombia implementó la vigilancia centinela de rotavirus en menores de cinco años pero poco se sabe sobre la carga de la enfermedad por otros virus causantes de diarrea.

Objetivo general. Determinar la positividad de virus causantes de diarrea en muestras fecales de menores de cinco años, recibidas para evaluación del diagnóstico de rotavirus, periodo 2009 a 2012.

Metodología. Los laboratorios de salud pública de los municipios participantes en el centinela remitieron al INS todas las muestras positivas y 20% de las negativas para rotavirus, sobre las cuales se diagnosticó adenovirus, norovirus y astrovirus por ELISA tipo sándwich. Se genotipificó rotavirus por RT-PCR semianidada según protocolos metodológicos del Centre for Prevention and Control Diseases - CDC - de Atlanta.

Resultados. En 1534 muestras la positividad viral fue 59%, 39,6% para rotavirus, 11% para norovirus, 7% para adenovirus y 1,7% para astrovirus. La positividad para rotavirus bajó desde 58% en 2009 hasta 25% en 2012. La positividad para Norovirus subió desde 5,4% en 2009 hasta 19,3% en 2012: G2 P[4]: fue el genotipo de rotavirus predominante en 2011 con 85%. En 2012 G2 P[4]: con 32%; G9 P[8]: 20%; G9 P[4]: 14% y G9 P[6]: 4,0%.

Conclusiones. La positividad a rotavirus disminuyó desde 2009 probablemente como consecuencia de la introducción de la vacuna. El genotipo G1[P8] no ha sido detectado desde 2010. Norovirus se comporta como un agente emergente en Colombia.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. - Colombia. †Programa de Salud Pública, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. - Colombia.

TLO25. Alteración *in vitro* de la barrera hematoencefálica ocasionada por la infección con el virus del dengue

M. Angélica Calderón*, Jaime E. Castellanos*, Myriam L. Velandia*

Introducción. El aumento en la permeabilidad cerebrovascular es un signo de alteración de la barrera hematoencefálica (BHE), que ocurre tras la infección con varios virus. Esta alteración podría favorecer el ingreso del Virus Dengue (DENV) al tejido nervioso, por lo tanto es necesario evaluar si el daño de la BHE es uno de los mecanismos que utiliza este virus para ingresar y dispersarse hacia el sistema nervioso.

Objetivo general. Establecer y evaluar en un modelo *in vitro* de BHE las alteraciones del endotelio cerebrovascular inducidas durante la infección con DENV.

Metodología. Se obtuvieron cultivos primarios de células endoteliales y astrocitos de ratón lactante, caracterizados por inmunofluorescencia y se evaluó la susceptibilidad a la infección utilizando DENV-4 y una cepa neuroadaptada (D4MB-6). Se establecieron dos modelos de BHE (Monocapa y Co-cultivo) evaluando los daños en la integridad de la barrera asociados a la infección (TEER y ensayos de permeabilidad). Adicionalmente se evaluó la expresión de moléculas de adhesión y la trans migración de macrófagos J774.

Resultados. Los cultivos primarios, presentaron pureza mayor al 95% y solamente las células endoteliales fueron susceptibles a la infección con ambos virus. En los modelos de BHE se evidenció la expresión de proteínas de unión estrecha, moléculas de adhesión y citoquinas. A las 10 h.p.i., con ambos virus, se observó una disminución en la TEER correlacionada con un aumento en la permeabilidad de la barrera y a las 24 h.p.i., se evidenció trans migración de macrófagos.

Conclusiones. Se estandarizó un modelo *in vitro* de BHE de ratones lactantes, con las características morfológicas, estructurales y funcionales típicas de modelos previamente reportados. Se evidenció la infección con ambos DENV en células endoteliales, la cual parece tener efecto sobre la integridad del modelo, reflejado en la disminución de la TEER, el aumento en la permeabilidad y el paso de células inmunes en el modelo.

*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

TLO26. Papel del microRNA celular hsa-miR-133a en la replicación del virus dengue

Jorge Andrés Castillo*, Juan Camilo Castrillón*, Mayra Dios-Toro*, Jolanda Smit†, Silvio Urcuqui-Inchima*

Introducción. Los microRNA (miRNA) son RNA no codificantes de 21nt de longitud, responsables de regular la expresión génica en la mayoría de los organismos eucariotas, inhibiendo la traducción o degradando RNA mensajeros. Se ha demostrado que los miRNA pueden regular el ciclo de replicación de algunos virus, incluidos VIH-1, VHS y VHC, convirtiéndose en un excelente mecanismo de respuesta antiviral. Sin embargo, el papel de los miRNA en la replicación del virus dengue (DENV) ha sido poco estudiado, a pesar de que es un virus altamente epidémico y su infección es un problema de salud pública mundial.

Objetivo general. Evaluar el efecto del miR-133a en la replicación del DENV *in vitro*.

Metodología. Se transfectaron células Vero con el miR-133a maduro y 24 horas después se infectaron con DENV-2 con un MOI de 2. La infección viral se evaluó por citometría de flujo, PCR en tiempo real y titulación viral. Igualmente se transfectaron células Vero con constructos que contienen la 3'UTR de DENV-1,-2,-4 fusionada a GFP y se determinó su efecto en la expresión del miR-133a, DROSHA, DICER y TRBP por PCR en tiempo real.

Resultados. Se encontró una disminución de la infección por DENV-2 a las 48 y 72 horas en las células transfectadas con miR-133a. Sin embargo, también encontramos que la infección por DENV1-4 regula negativamente la expresión del miR-133a, al igual que la transfección de las 3'UTR de DENV-1,-2,-4. La transfección con las 3'UTR de DENV-1,-2,-4 también disminuyeron la expresión de DROSHA, DICER y TRBP.

Conclusiones. Nuestros resultados evidencian que el miR-133a regula negativamente la replicación del DENV; pero a la vez, el DENV regula negativamente la expresión de miR-133a, y componentes de la biogénesis de los miRNA. Nuestros resultados sugieren que los microRNA podrían constituir una alternativa terapéutica en la lucha contra el DENV.

*Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, UdeA; [calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia]. †Sección de Virología Molecular, Universidad de Groningen, Holanda.

TLO27. Arbovirus asociados a mosquitos en San Bernardo del Viento (Córdoba): factores ecológicos y emergencia

Richard Hoyos-López*†, Juan Suaza†, Diego Arias‡, Sergio Solari‡, Sandra Uribe†, Juan-Carlos Gallego-Gómez*

Introducción. La emergencia y/o re-emergencia de arbovirus es favorecida por la presencia de mosquitos competentes, reservorios naturales y las condiciones ecológicas que favorecen el contacto humano-vector, originando brotes epidémicos en poblaciones humanas rurales, aledañas a ecosistemas silvestres. Por esta razón, es de especial interés determinar los arbovirus circulantes en áreas silvestres, la comunidad de reservorios vertebrados (aves migratorias/residentes, mamíferos, reptiles) y mosquitos que puedan favorecer la emergencia de patógenos virales.

Objetivo general. Identificar arbovirus circulantes y las comunidades de mosquitos y reservorios asociados en San Bernardo del Viento.

Metodología. Se realizaron colectas de mosquitos con CDC, CDC-CO2 y EVS-CO2 en San Bernardo del Viento (Córdoba), municipio con presencia de aves migratorias, ecosistemas silvestres y explotación agropecuaria. Los mosquitos colectados fueron separados por morfo-especie en mesa fría y almacenados en crioviales para su transporte y conservación en nitrógeno líquido. Las morfo-especies fueron posteriormente identificadas mediante claves dicotómicas y DNA Barcode. Los pools fueron evaluados mediante extracción de ARN total mediante el kit RNeasy, RT-PCR's genéricas y anidadas para los generosa *Flavivirus*, *Alphavirus*, *Phlebovirus* y grupo *Bunyamvera* (*Orthobunyavirus*). Se realizó una recopilación de literatura sobre la avifauna y pequeños mamíferos presentes en la zona de estudio, para identificar posibles interacciones con los mosquitos presentes y arbovirus detectados.

Resultados. Se colectaron 25854 mosquitos pertenecientes a 17 especies de culícidos identificadas mediante caracteres morfológicos y 135 secuencias de DNA Barcode. 1385 pools correspondientes a 18520 individuos han sido evaluados, identificándose 16 pools positivos para *Alphavirus* (Encefalitis Equina Venezolana) y *Flavivirus* (Dengue y Fiebre Amarilla) en las especies *Culex erraticus*, *Deinocerites atlanticus*, *Haemagogus lucifer*, *Psorophora confinnis*, *Mansonia titillans*, *Aedes scapularis* y *Aedes aegypti*. El área de estudio presenta especies de aves y pequeños mamíferos que se han registrado como reservorios silvestres para arbovirus de los géneros *Flavivirus* y *Alphavirus* principalmente.

Conclusiones. La identificación de arbovirus, mosquitos competentes y reservorios vertebrados, son factores ecológicos que favorecen la circulación natural y la emergencia de patógenos virales en comunidades aledañas a ecosistemas silvestres, especialmente la diseminación de arbovirus re-emergentes y emergentes (WNV-ESLV).

*Grupo de Medicina Molecular y Traducción, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Grupo de Investigación en Sistemática Molecular, Escuela de Biociencias, Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín, Medellín, Colombia. ‡Grupo de Mastozoología, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

TLO28. Relación entre la secuencia de la región NS1 viral y la detección de la proteína por ELISA en casos de dengue

Jerusalén Islas*, Karina Ruiz*, Pilar Rivera*, Alejandro Escobar*,
José Zarrabal*, Teresa Martínez*, Gilberto Vaughan*, Salvador Fonseca*

Introducción. El dengue es una enfermedad febril, ocasionalmente hemorrágica, que es producida por los virus del dengue (DENV-1 a -4). El algoritmo de diagnóstico se basa en la detección del antígeno NS1 viral por ELISA en suero durante los primeros 5 días desde la aparición de los síntomas. El equipo comercial más empleado presenta especificidad del 100% y sensibilidad del 91%, promoviendo la subestimación de casos.

Objetivo general. Comparar la secuencia de la proteína NS1 de los virus responsables de casos de dengue con resultado positivo y negativo a ELISA.

Metodología. Se seleccionaron sueros de pacientes con sintomatología de dengue, positivos (NS1+, n= 20) o negativos (NS1-, n= 117) a la detección de NS1 por ELISA y sin anticuerpos IgM o IgG anti-DENV. A partir de estas, se amplificó la región C-prM viral para detectar el genoma y solo en aquellas muestras que presentaron el producto, se amplificó y secuenció la región NS1 serotipo-específica para realizar el análisis bioinformático pertinente.

Resultados. Se detectó la presencia de genoma viral en todas las muestras NS1+ (DENV-1 y -2) y en el 5% de las NS1- (DENV-2). En el análisis de la región NS1 viral, se observaron cambios de base que, exclusivamente en las muestras NS1-, dieron lugar a 2 sustituciones de aminoácido en las posiciones 112 (Lys→Arg) y 217 (Phe→Leu).

Conclusiones. La sensibilidad del equipo comercial de ELISA para detectar la proteína NS1 el DENV, se ve afectada, aparentemente, por la diversidad genética del serotipo 2.

*Laboratorio de Inmunobiología de Enfermedades Infecciosas, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

TLO29. Detección de los subgrupos A y B de Virus Sincitial Respiratorio en muestras de vigilancia epidemiológica positivas por inmunofluorescencia, Colombia 2000-2009

Viviana Avila*‡, Eliana Calvo*‡, Juliana Barbosa‡, Gloria Rey-Benito*‡, Jairo A. Mendez‡, Jaime E. Castellanos*‡

Introducción. El Virus Sincitial Respiratorio (VSR) es el patógeno viral más importante implicado en infecciones respiratorias agudas (IRA) y es una de las principales causas de hospitalización en unidades pediátricas. Produce desde síntomas leves hasta cuadros severos y fatales. En la mayoría de los casos no se hace diagnóstico etiológico y se requiere información adicional sobre las verdaderas cifras de pacientes infectados.

Objetivo general. Comparar la sensibilidad y especificidad de diferentes pruebas diagnósticas para detectar VSR y definir los subtipos de VSR (A y B) circulantes en Colombia en el periodo 2000-2009.

Metodología. De las 7388 muestras recolectadas en el periodo, 1092 fueron positivas para VSR por inmunofluorescencia y de este grupo se seleccionó un subgrupo representativo según frecuencia y procedencia geográfica (n= 227), para ser evaluadas mediante dos sistemas de diagnóstico adicionales: inoculación en células Hep-2 y amplificación por RT-PCR (usando dos protocolos Coiras/2003 y Parveen/2006), para obtener datos de frecuencia de los subtipos A y B del VSR.

Resultados. Solamente en el 67% de las muestras se evidenció efecto citopático después del aislamiento viral, probablemente debido al largo periodo de congelación de las muestras. El protocolo de RT-PCR de Coiras/2003 tuvo mayor sensibilidad, pues detectó RNA viral en 178 de las 227 muestras (78,4%), distribuidas en 61 muestras con VSR-A, 96 con ambos virus VSR-A+B y 21 muestras con VSR-B. Con el método de Parveen/2006, se detectó RNA viral en 91 muestras (52 muestras VSR-A, 5 VSR-A+B, 34 VSR-B).

Conclusiones. El virus más prevalente durante el periodo de estudio en las muestras evaluadas fue el VSR-A y el año en el que mas se presentaron casos fue 2007. El protocolo reportado por Coiras/2003 fue más sensible para detectar y subtipificar el virus. La inmunofluorescencia presenta grandes dificultades en su sensibilidad y especificidad y requiere ser evaluada en conjunto con otras técnicas.

*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. †Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. ‡Grupo de Patogénesis Infecciosa, Universidad Nacional de Colombia.

TLO30. Circulación anual del virus de influenza tipo A y B en Colombia, periodo 2009 - 2013

Juliana Barbosa R,* Jairo Méndez*

Introducción. Los virus de Influenza tipo A pueden infectar humanos y algunas especies de animales. Estos virus RNA mutan frecuentemente y por ello son causantes de epidemias y pandemias. Existen tres tipos de gripe estacional: A, B y C. Los casos de gripe C son mucho menos frecuentes que los de gripe A o B y es por ello que en las vacunas contra la gripe estacional sólo se incluyen virus de los tipos A y B.

Objetivo general. Caracterizar el comportamiento anual del virus de influenza tipo A y B, en Colombia abril 2009 - 2013.

Metodología. Se procesaron muestras del tracto respiratorio (hisopado, aspirado y/o tejido) de casos de hospitalización o muerte por infección respiratoria aguda grave procedentes de diferentes departamentos de Colombia y remitidas al Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud para diagnóstico y vigilancia. El ARN viral fue extraído utilizando QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen), posteriormente, fue utilizado el protocolo de RT-PCR en tiempo real del CDC para la detección y caracterización de los subtipos de Influenza A e Influenza B.

Resultados. El porcentaje de positividad para el subtipo A(H1N1)pdm09 fue: 53,4% para 2010, 33,3% para 2011 y 10% para 2012. En contraste para el subtipo H3 el porcentaje de positividad varió del 14,1%, 24,3% y 23,5% para los años 2010, 2011 y 2012 respectivamente. Hasta la semana 21 del año 2013 el porcentaje de positividad para AH1N1 era del 24,3% y para el subtipo A/H3 del 0,7%.

Conclusiones. Desde la introducción del virus A (H1N1)pdm09 en abril de 2009, la mayor proporción de positividad de los subtipos de Influenza A corresponde a este agente. Pese a lo anterior la positividad de A(H1N1)pdm09 ha ido disminuyendo, al tiempo que la positividad del subtipo de influenza A/H3 estacional se ha incrementado durante el tiempo de este estudio.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. – Colombia.

TLO31. Virus respiratorios diferentes a influenza tipo A asociados a casos de mortalidad en Colombia

Daniela Morales*, Jairo Méndez*, Juliana Barbosa*

Introducción. En países en vías de desarrollo las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) constituyen la mayor causa de muerte en menores de 5 años. De estas, aproximadamente el 85% son causadas por virus. Durante los últimos años, en Colombia el reporte de casos fatales por IRA se ha incrementado, haciéndose necesario el desarrollo de nuevas técnicas que aumenten la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico y vigilancia.

Objetivo general. Identificar virus respiratorios diferentes a influenza tipo A asociados a mortalidad en Colombia entre abril 2009 y mayo 2013.

Metodología. Se procesaron muestras del tracto respiratorio de casos fatales por IRA grave procedentes de diferentes departamentos del Colombia y remitidas al Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud. El ARN viral fue extraído utilizando QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen), posteriormente fue utilizado el protocolo de RT-PCR en tiempo real del CDC para la detección y caracterización de los virus Influenza tipo A. Las muestras que resultaron negativas fueron procesadas por una RT-PCR múltiple para detectar Adenovirus, Virus Sincitial Respiratorio (VSR) tipo A y B, Parainfluenza tipos 1, 2, 3 y 4, metapneumovirus humano (hMPV), bocavirus (BoV), coronavirus humano (hCoV), rinovirus (RV) y enterovirus EV.

Resultados. El 14% de las muestras analizadas (110/735) correspondieron a casos fatales confirmados por laboratorio con IRA viral. El virus más frecuente fue VSR seguido de hMPV y RV. Se hallaron (7,2%) co-infecciones (no queda claro este 7,2% sobre que se está calculando) especialmente entre BoV, VSR, hMPV y RV, siendo los mayores de 60 años y los menores de 2 años los grupos de edad más afectados.

Conclusiones. Virus respiratorios diferentes a influenza están asociados a mortalidad por IRA en Colombia, por lo que se convierten en nuevos agentes etiológicos de interés en salud pública y nuevos blancos de los sistemas de vigilancia epidemiológica.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. – Colombia.

TLO32. Detección del Virus del Papiloma Humano en placenta y sangre de cordón umbilical

Alejandra Arbeláez*, Stephania Góngora*, Diana Zambrano*, Fabian Fernández*, Cecilia Aguilar de Plata*, Andrés Castillo*

*Grupo de Nutrición, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

Introducción. Numerosos estudios han reportado la presencia del ADN del Virus del Papiloma Humano (VPH), en tejidos materno-fetales, sugiriendo una vía de transmisión vertical de este virus, a la cual se le ha atribuido efectos adversos sobre la gestación incluyendo parto pre-término y abortos espontáneos. En Colombia y especialmente en la ciudad de Cali, pese a la alta prevalencia de la infección cervical por el VPH no ha sido realizado un estudio que evalúe esta problemática en nuestra población.

Objetivo general. Determinar la presencia del ADN del VPH en 289 muestras de placentas y 105 muestras de sangre de cordón umbilical de mujeres primigestantes aparentemente sanas, procedentes de la ciudad de Cali entre el año 2010 y 2011.

Metodología. El ADN de tejido placentario y sangre, fue extraído y verificado por amplificación del gen β -Globina utilizando la pareja de cebadores PCO3/PCO4. La presencia del DNA del VPH fue detectado por medio de la amplificación anidada de un fragmento del gen L1 utilizando como cebadores externos la pareja MY09/MY11 y como cebadores internos la pareja GP5+/GP6+.

Resultados. El ADN del VPH fue detectado en el 8.9% (25/289) de las muestras de placenta y en el 4% (6/105) de las muestras de sangre de cordón umbilical.

Conclusiones. El porcentaje de infección por VPH en las muestras de placenta y sangre de cordón umbilical superan los reportados por Syrjanen S y Col, (4.2% y 3.5% respectivamente) en la ciudad de Turku, Finlandia. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de una vía de infección intrauterina del VPH y estarían soportados por la alta prevalencia de infección por el virus en la ciudad de Cali.

TLO33. Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus

Rafael Guerrero*, Elver Silva*, Carlos Guerrero*, Orlando Acosta*

Introducción. Alrededor de 30 virus diferentes están siendo estudiados mundialmente, algunos silvestres, otros modificados genéticamente, determinando su capacidad infecciosa y la muerte de células cancerosas (oncolisis). Primero se estudian en líneas tumorales, luego en modelos animales y posteriormente en humanos. Inicialmente seleccionamos 5 aislamientos rotavirales, luego nos propusimos determinar si infectan líneas tumorales.

Objetivo general. Evaluar la infección de rotavirus WT1-5, WMW, TRUY, Ecwt y WTEW en las líneas tumorales: leucemia mieloide humana U937 y mieloide de ratón Sp2/0-Ag14.

Metodología. Se determinó el título viral, producción de viriones, efecto citotóxico, expresión de proteínas HSPs (Hsp90, Hsp70, Hsc70, Hsp60, Hsp40), integrina $\alpha\beta 3$ y PDI en la superficie celular. Para determinar si utilizan las proteínas HSPs durante la infección, las células se incubaron con anticuerpos anti-HSPs -PDI e -integrina $\beta 3$, luego se retaron con rotavirus. Como control se infectaron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humana y líneas celulares no tumorales.

Resultados. Los cinco aislamientos rotavirales infectaron y lisaron las líneas celulares tumorales. Las células infectadas sobre expresaron Hsc70, Hsp90 y Hsp70. Con MOI 0.5 las células se lisan aproximadamente 24 horas post-infección. Los efectos citotóxicos observados fueron: exposición de fosfatidilserina en la membrana externa citoplasmática, fragmentación nuclear y la inducción de mecanismos de reparación de ruptura de DNA. Al incubar las células con anticuerpos anti-HSPs -PDI e -integrina $\beta 3$ disminuyó la infección. Los cinco aislamientos de rotavirus no infectaron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) humana. Sin embargo, después de someterlas a choque térmico se infectaron y al incubarlas con anticuerpos anti-HSPs, -PDI, o -integrina $\beta 3$, hubo disminución significativa de la infectividad.

Conclusiones. Rotavirus infecta, se replica y lisa líneas celulares tumorales Sp2/0-Ag14 y U937.

*Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Unidad de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

TLO34. Manejo clínico de mujeres VPH positivo con biomarcadores de transformación celular

Arianis Ramírez*†, Carolina López†, Carlos Buitrago‡, Astrid Bedoya*, Gloria Sánchez*

Introducción. Se ha demostrado que la expresión simultánea de p16INK4a y Ki-67 en células epiteliales del cérvix, es signo de malignidad de la infección del virus del papiloma humano oncogénico (VPH). Es necesario evaluar la utilidad clínica de inmunocitoquímica de p16/Ki-67 en citología convencional como estrategia de triage de mujeres VPH+.

Objetivo general. Estandarizar la inmunocitoquímica para p16INK4a/Ki67 en citología convencional y prueba de VPH, en una única muestra recolectada con Cervex Brush® en mujeres referidas a un centro de colposcopia en Medellín, Colombia.

Metodología. Se incluyeron 86 mujeres con citología anormal, referidas a colposcopia. Antes de aplicar ácido acético y tomar biopsia el ginecólogo recolecta una muestra de exfoliado cervical con el citocepillo Rovers Cervex-Brush. El froto fue extendido sobre portaobjetos cargados e inmediatamente fijado con Merckofix. El mismo citocepillo se transfirió al medio de transporte para detección del VPH. Se utilizó el kit CINtecPLUS para la inmunocitoquímica de las proteínas p16INK4a/Ki67 y la prueba VPH COBAS4800. Un patólogo evaluó la representatividad (8000 a 12000 células escamosas y presencia de la zona de transformación) y calidad de la citología de acuerdo al Sistema Bethesda 2001, y llevó a cabo la lectura de la inmunocitoquímica de acuerdo al Atlas CINtec®PLUS. Se estimaron los porcentajes de pruebas positivas de acuerdo al diagnóstico histopatológico.

Resultados. La calidad y representatividad de las muestras fue satisfactoria en el 98.5%. El 64% fueron VPH positivo, y hubo un aumento de positividad a medida que aumento la severidad de la lesión. El 51% fueron positivas para p16INK4a/Ki67 y el porcentaje de positividad de acuerdo al diagnóstico histopatológico fue: <NIC 27%, NIC1 31%, NIC2 79%, NIC3 90% y 100% en cáncer.

Conclusiones. Logísticamente se puede lograr la toma de la muestra para citología convencional p16/ki67 y prueba de VPH-AR recolectando una sola muestra. Los resultados sugieren llevar a cabo estudios que evalúen esta prueba como una posible estrategia para triage en mujeres VPH positivo en el tamizaje primario.

*Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Clínica Confenalco, Medellín, Colombia.

TLO35. Caracterización epidemiológica y molecular de la infección por Virus del Papiloma Humano (VPH) en cavidad oral y pene en un grupo de hombres militares colombianos

Dayanne Rodríguez*, Liliana Díaz*, Sandra Gómez*, Daniel Toledo†‡, Carminia Varón§, Hernán Vargas*||

Introducción. La infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) es una de las más comunes a nivel mundial. Al igual que en otras ITS los hombres están involucrados en la cadena de contagio y contribuyen al riesgo que tienen sus parejas sexuales en desarrollar lesiones pre malignas cervicales, tracto anogenital y del tracto digestivo superior. A pesar del vínculo establecido entre el VPH y dichas lesiones, la historia natural de la infección en hombres aún no es clara.

Objetivo general. Caracterizar epidemiológica y molecularmente la infección por VPH en pene y cavidad oral en un grupo de hombres militares colombianos. Estimar la prevalencia y relacionar los resultados positivos con las variables de interés.

Metodología. Se colectaron 188 muestras provenientes de la zona balanoprepucial y cavidad oral de hombres militares. La detección de VPH se realizó mediante una PCR anidada con los iniciadores MY09/MY11 y GP5+/GP6+; la tipo específica con los iniciadores VPH16 y VPH18. Se utilizó el programa estadístico SPSS para el análisis de datos.

Resultados. Se detectó VPH en 28 muestras de la zona balanoprepucial y 3 en la cavidad oral. De las anteriores solo fueron positivas para VPH16 (10 y 1 muestra) respectivamente. Los análisis de chi cuadrado y de aproximación de riesgo permitieron deducir que el riesgo de contraer la infección entre los hombres de 18 a 25 años es 2.7 veces mayor comparado con los hombres mayores de 25 años; y que el riesgo de contraer la infección por VPH entre quienes consumen alcohol es 6.4 veces más comparado con quienes no lo consumen.

Conclusiones. La identificación molecular del VPH en hombres asintomáticos contribuye al conocimiento de la infección por VPH en pene y en cavidad oral y puede complementar estudios posteriores donde se evalúe la dinámica infecciosa del virus.

*Laboratorio de Salud Pública Secretaría de Salud de Bogotá. †Universidad Militar Nueva Granada, ‡Universidad del Bosque, §Secretaría de Salud Municipal de Ubagué. ||Ph.D.