

-Trabajos libres- Presentaciones en póster

Characterization of core...

Introduction

The study of species that includes the cultivated tomato, *Solanum lycopersicon*, represents a good model for study of the evolution of domestication diversity. There has been an emergence of multiple full colors within a set of tomato species that diverged c. 10 mya. Color evolution arose and has diverged to create the various colors. The full colors vary widely from the ancestral green that is still present in several species to many shades of yellow and orange. The local red of cultivated tomatoes and some even grow with darkened orange fruits. These colors are coded with different genes in the carotenoid pathway (Fig. 2). The species and their colors are shown in Fig. 1. *S. chilense* and *S. pimpinellifolium*, the only orange relatives, are restricted to the Galapagos Islands. *S. pimpinellifolium*, the red fruit is found along the west coast of South America.

The tomato clade is an evolutionarily young group, which appeared roughly 7 million years ago and comprises c. 11 species within the genus *Solanum*, which also contains *Phanerogone* (see below text). The economic, agricultural, and research value of the tomato clade is significant and numerous genetic resources have been created recently for cultivated tomato (*S. lycopersicon*).

Carotenoids are believed to have evolved specifically to attract animals that disperse seeds embedded in the fruits. Full coloration has not been achieved thoroughly in a genetic sense to understand full color evolution as well as the evolutionary forces acting on full color. Tomatoes is a good model system for full color because several colors are maintained, the carotenoid pathway and associated genes are known and there has been a lot of genetic work in tomatoes. There are also good tools for looking into whether the color is determined through selection, since species endemic to the Galapagos Islands have the genetic variation but maintain color variation. I will look at how full color coding and the mechanism of color regulation.

Phylogenetic relationships of various tomato species showing origin of full color within the clade.

<i>S. galapagensis</i>	●●●●
<i>S. cheesmanii</i>	●●●●
<i>S. pimpinellifolium</i>	●●●●
<i>S. lycopersicon</i>	●●●●
<i>S. chmielewskii</i>	●●●●
<i>S. arcanum</i>	●●●●
<i>S. chilense</i>	●●●●
<i>S. pennellii</i>	●●●●
<i>S. aviculare</i>	●●●●
<i>S. complanatum</i>	●●●●
<i>S. habrochroides</i>	●●●●
<i>S. pennellii</i>	●●●●
<i>S. juglandifolium</i>	●●●●

Objectives and Key Questions

How can the tomato full color be accurately described (what color relative to other tomato colors or other species)?

What genes in the carotenoid pathway have changes in their expression to give the observed variation in full color?

What transcription factors regulate these genes in the carotenoid pathway?

Carotenoid Pathway

IPP → DMAPP → GGPP → GGPP → PSY2 → PSY → Phytoene → PDS → Z-β-carotene → CRTISO → Z-carotene → Z-carotene → Lycopene → Lycopene → LCY-E → Yellow → LCY-B → Blue

RT-PCR

Gene	Fig. 1.1	Fig. 1.2	Fig. 1.3	Fig. 1.4	Fig. 1.5	Fig. 1.6	Fig. 1.7	Fig. 1.8	Fig. 1.9	Fig. 1.10
PSY2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PDS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crt-B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crt-E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCY-B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Actin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Case comparison of yellow and blue

Yellow: *S. galapagensis*, *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicon*, *S. chmielewskii*, *S. arcanum*, *S. chilense*, *S. pennellii*, *S. aviculare*, *S. complanatum*, *S. habrochroides*, *S. pennellii*, *S. juglandifolium*

Blue: *S. galapagensis*, *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicon*, *S. chmielewskii*, *S. arcanum*, *S. chilense*, *S. pennellii*, *S. aviculare*, *S. complanatum*, *S. habrochroides*, *S. pennellii*, *S. juglandifolium*

TLP01. Evolución y variabilidad genética del virus Influenza A/H1N1 pandémico circulante en Uruguay

Victoria Comas*‡, Martín Söhnora*, Monica Cappetta‡, Rosario Uriarte‡, Susana Bosch‡, Pilar Moreno*, Gonzalo Moratorio*, Álvaro Fajardo*, Juan Cristina*

Introducción. En el 2009, una nueva variante del virus de la Influenza A (VIA) H1N1 ingresó a la población humana causando la primer pandemia del siglo XXI, reemplazando a las variantes VIA/H1N1 que circulaban anteriormente. VIA posee un genoma de ARN y su variabilidad genética radica en la alta tasa de error en la replicación, debido a la baja fidelidad de su polimerasa. Esta característica da lugar a que este virus circule como un conjunto de variantes estrechamente relacionadas desde el punto de vista genético denominadas cuasiespecies. Esto permite a la población ser capaz de emerger y adaptarse a nuevos ambientes representando blancos móviles para la intervención terapéutica, como la resistencia a drogas antivirales. La caracterización molecular de los VIA circulantes es esencial para la detección de mutaciones que puedan incrementar la virulencia, la resistencia a antivirales y el escape a la respuesta inmune.

Objetivo general. Estudiar la variabilidad genética del VIA/H1N1 circulante en Uruguay.

Metodología. Se analizaron 56 muestras obtenidas entre 2009 y 2013. Se amplificó y secuenció el segmento codificante para la neuraminidasa y se procedió a la realización de diversos análisis filogenéticos.

Resultados. Se observó la existencia de dos sublinajes de VIA circulantes en Uruguay, siendo la mutación S299A la responsable de ésta diversificación. Esta mutación ha sido reportada únicamente en Italia y Marruecos, no así en variantes de la región sudamericana.

Conclusiones. Los estudios evidencian que la relación filogenética entre las cepas circulantes en Uruguay y la cepa vacunal es muy distante.

*Laboratorio de Virología Molecular, CIN, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. †Laboratorio de Biología Molecular, AEPSM, Montevideo, Uruguay. ‡Contacto: vcomas@cin.edu.uy

TLP02. Evaluación de la PCR multiplex en tiempo real para la detección de 13 virus respiratorios

Ángela María Díaz*‡, Yamile Celis*‡, Liliana Díaz*§, Sandra Gómez*†||, Daniel Toledo* **, Hernán Vargas* ††

Introducción. Las infecciones por virus respiratorios representan la primera causa de consulta y hospitalización en la población pediátrica. El empleo de técnicas moleculares, principalmente aquellas basadas en PCR múltiple en tiempo real, supone un importante avance para su detección.

Objetivo general. Evaluar la metodología analítica y la aplicabilidad en el diagnóstico clínico de la PCR múltiple en tiempo real para la identificación de 13 virus respiratorios presentes en muestras de pacientes captados por la vigilancia epidemiológica de enfermedad respiratoria aguda en el Distrito.

Metodología. En este estudio se estandarizó, validó e implementó una PCR múltiple en tiempo real para la detección de 13 virus respiratorios, incluyendo virus respiratorios emergentes. Se seleccionaron un total de 434 muestras respiratorias analizadas inicialmente por inmunofluorescencia indirecta (IFI), en las que se aplicó la técnica de PCR múltiple en tiempo real.

Resultados. Se identificaron virus en 295/434 muestras (67,98%) y 139/434 (32,04%) fueron negativas. En 82/205 muestras (40%) negativas por IFI, fueron detectados virus, de estos 59,76% nuevos virus tales como coronavirus 229E y OC43, bocavirus, metapneumovirus y rinovirus. Con la nueva técnica se detectaron coinfecciones en 42/434 muestras (9,7%), mientras que por IFI 16/434 muestras (3,7%). Así, mientras IFI fue capaz de detectar un máximo de 2 virus (0,46%), por muestra; más de dos virus fueron detectados por PCR múltiple en tiempo real en las mismas 2 muestras, demostrando mayor sensibilidad.

Conclusiones. Todos los virus fueron detectados en la tamización de las muestras clínicas, demostrando una mejora en la sensibilidad con esta técnica para detectar los virus respiratorios, en comparación con la inmunofluorescencia de rutina. Los resultados aquí presentados muestran un gran potencial del presente ensayo como una importante herramienta de diagnóstico, la cual puede llegar a ser aplicada en otras ciudades o regiones que buscan una mejor vigilancia de los virus respiratorios.

*Grupo de Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud de Bogotá-Colombia. †MSc. ‡MSc. §Ph.D. ||MSc. **MD, MSc. ††Ph.D. Contacto: Hernan.vargas@yahoo.com. Grupo de Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud de Bogotá.

TLP03. El Virus Sincitial Respiratorio entra a las células del epitelio bronquial respiratorio humano usando un mecanismo similar a macropinocitosis

*Lisandro Pacheco-Lugo**, *Yirys Díaz-Olmos†*, *Homero San Juan-Vergara**

Introducción. El Virus Sincitial Respiratorio (VSR) es el principal patógeno viral del tracto respiratorio en niños menores de 5 años. El proceso de entrada del VSR al epitelio bronquial respiratorio se desconoce y todavía se debate si la fusión del virus ocurre en la membrana plasmática o a nivel de la membrana endosomal. Y si es esto último, todavía se desconoce cuál vía endosomal utiliza el virus para entrar.

Objetivo general. Determinar el mecanismo de entrada del VSR en células bronquiales humanas de origen primario.

Metodología. Células NHBE fueron tratadas antes, durante y después de la incubación con el virus con los inhibidores de rutas endocíticas: dinasore, IPA-3, NSC23766 y EIPA. El VSR utilizado en estos estudios está ingenariado genéticamente para expresar la proteína fluorescente verde (PFV). Por tanto, 16-20 horas pos-infección evaluamos la infección mediante citometría de flujo contabilizando el porcentaje de células verdes en presencia y en ausencia de los inhibidores.

Resultados. Los datos generados indican que el virus podría estar utilizando macropinocitosis como ruta de entrada: 1) El tratamiento de células NHBE con dinasore, un inhibidor de la GTPasa dinamina, no redujo la infección de manera significativa. Segundo, la inhibición de Pak1 y Rac1 condujo a una reducción en los porcentajes de infección. Tercero, el tratamiento con EIPA, un inhibidor específico de macropinocitosis que bloquea la bomba Na⁺/H⁺, también redujo los porcentajes de infección en células NHBE. Cuarto, células NHBE pre-incubadas con el virus mostraron una ingesta potenciada de Dextrán en fase fluida, una reconocida propiedad de los virus que activan vías macropinocíticas.

Conclusiones. Nuestros resultados indican que el VSR utiliza una ruta parecida a macropinocitosis para infectar células del epitelio bronquial humano. La información que se ha derivado de esta investigación indica que macropinocitosis puede constituirse en una diana terapéutica en el caso de infecciones causadas por el VSR.

*Grupo de Investigaciones en Biotecnología, Universidad del Norte. Barranquilla-Atlántico. Grupo de Enfermedades Tropicales, Universidad Simón Bolívar. Barranquilla-Atlántico. †Grupo de Investigaciones en Biotecnología, Universidad del Norte. Barranquilla-Atlántico.

TLP04. Variabilidad genética del virus influenza A H3N2 circulante en Uruguay en la temporada invernal 2011-2012

*Martín Söhnora**, *Victoria Comas**, *Pilar Moreno**, *Gonzalo Moratorio**,
*Álvaro Fajardo**, *Susana Boschi†*, *Rosario Uriarte†*, *Juan Cristina**

Introducción. Los virus Influenza pertenecen a la familia Orthomyxoviridae. Estos virus son envueltos y presentan un genoma segmentado de ARNss, polaridad negativa. De los 3 tipos conocidos de Influenza: A, B y C, solo los tipos A y B ocasionan frecuentemente enfermedades severas en humanos. Los Virus Influenza A (VIA) están ampliamente distribuidos en la naturaleza e infectan una gran variedad de especies animales. Este virus causa 500.000 muertes anuales. Durante el año 1968 se generó un nuevo virus humano de origen aviar, subtipo H3N2 pandémico causante de la llamada “gripe de Hong Kong”. El virus fue generado por reordenamiento génico entre un virus humano H2N2 y uno de origen aviar H3N2.

Objetivo general. Estudiar el grado de variabilidad genética y antigénica del VIA H3N2 circulante en Uruguay durante la temporada invernal 2011-2012.

Metodología. Comparación del virus con la cepa vacunal recomendada por la OMS para nuestro hemisferio.

Resultados. El presente estudio muestra que las cepas recolectadas se agrupan en un clado notoriamente alejado del clado donde se encuentra la cepa vacunal. Por otro lado, se muestra que todas las cepas uruguayas de VIA H3N2, correspondientes a las temporadas invernales 2011-2012 presentan los polimorfismos asociados a la resistencia a adamantanos.

Conclusiones. Estos estudios confirman ampliamente la necesidad de monitorear la variabilidad genética de las cepas que circulan en nuestro país y en la región Sudamericana, con el objetivo de obtener vacunas más relacionadas con las cepas circulantes y por lo tanto, más efectivas.

*Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, UdelAR. Montevideo, Uruguay. †Laboratorio de Biología Molecular, Asociación Española Primera de Socorros Mutuos, Montevideo, Uruguay.

TLP05. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre dengue en acudientes de escolares de instituciones educativas de la ciudad de Medellín, Colombia

Ivony Yireth Agudelo*, Juliana Morales†, Daniela Gómez†, Leidy Diana Piedrahita*, Berta Nelly Restrepo*

Introducción. Los conocimientos, actitudes y prácticas (CAP) que tengan sobre dengue los acudientes de escolares, son una fortaleza importante ya que de allí parte el reconocimiento de su responsabilidad en cuanto a la prevención y control al requerirse de prácticas de saneamiento doméstico que devienen de los conocimientos que la población posee frente a la enfermedad.

Objetivo general. Evaluar el nivel de conocimientos, actitudes y prácticas del dengue que tienen los acudientes de escolares de tres instituciones educativas de la ciudad de Medellín.

Metodología. Se aplicó una encuesta tipo CAP para evaluar el nivel de conocimiento sobre el modo de transmisión, signos y síntomas del dengue, medidas de prevención y manejo de los pacientes con dengue a los acudientes de los escolares.

Resultados. Se aplicó un total de 1 996 encuestas en acudientes de escolares tres instituciones educativas distribuidas 739 (37%) en la Institución A, 740 (37,1%) en la Institución B y 517 (25,9%) en la institución C. El 79,9 % de los encuestados eran madres, 12,2% eran padres y 7,2% eran otro acudiente. Se observó que más del 70 % de los encuestados conocía los síntomas del dengue, fiebre, cefalea y dolor en el cuerpo. El 90% respondió que la transmisión es vectorial y que el mosquito se reproduce en aguas limpias estancadas. Sin embargo el 35,5 % afirman otros mecanismos de transmisión incorrectos. En cuanto al manejo el 95,2% reconoce que los pacientes con dengue deben ser atendidos por el médico. Como medidas de prevención el 63,7% dijo que lavan los tanques de agua y 56,6% fumigan.

Conclusiones. Los conocimientos sobre síntomas y signos, mecanismo de transmisión y manejo de dengue fueron adecuados, aun así las prácticas de control no son óptimas. Se requiere incentivar acciones que motiven a las personas a mejorar sus conocimientos y llevarlos a la práctica.

*Instituto Colombiano de Medicina Tropical- Universidad CES, Sabaneta, Colombia. †Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.

TLP06. Caracterización entomológica del dengue en Risaralda, Colombia, 2011-2012

Jeison Andrés Agudelo-Ospina*, Catalina Alzate-Carvajal*, Andrés Felipe Arroyave-Castaño*, Santiago Manrique-Castaño*, Camilo Andrés Quiroga-Mendoza*, Daniela Sarria-Gómez*, María Camila Yepes-Echeverri*, Alberth Christian Herrera-Giraldo†, Shirley Botero†, Alfonso J. Rodríguez-Morales*

Introducción. El dengue es una enfermedad metaxénica, endemoepidémica en diferentes regiones de Colombia. Sin embargo pocos estudios entomológicos se realizan, por lo cual es importante la caracterización del vector por diferentes indicadores.

Objetivo general. Caracterizar el vector del Dengue en Risaralda, Colombia.

Metodología. Se realizó un estudio observacional evaluando la presencia de larvas y/o pupas de *Aedes aegypti* y los índices aédcico, de depósitos, de Bretau, en barrios de los municipios de Risaralda, Colombia, en 2011-2012.

Resultados. Se evaluó un total de 2.420 barrios, en los 14 municipios (14,8% La Virginia; 12,7% Santuario y 9,7% Marsella). Se inspeccionaron 57.352 casas (mediana 12/barrio, mínimo 1-máximo 324), de las cuales 2.645 fueron positivas (4,6% índice aédcico crudo). Se evaluaron 70.657 depósitos (mediana 17/barrio, 0-399) de los cuales 2.987 fueron positivos (4,2% índice de depósitos crudo; 5,2% índice de Bretau crudo). Para Pereira (capital) se tuvo un índice aédcico promedio de 11,76% (9,13% depósitos y 23,24% Bretau), seguido por La Virginia (municipio parte de la zona metropolitana de Risaralda) con 9,76% (8,24% depósitos y 11,1% Bretau) y Belén de Umbría con 6,72% (4,66% depósitos y 6,76% Bretau).

Conclusiones. Como se esperaba los mayores índices correspondieron a las zonas más urbanas (Pereira y La Virginia). Esto concuerda con lo que reportan otros estudios a nivel epidemiológico donde dichas zonas muestran las mayores tasas de incidencia del dengue, por lo cual se desprende la importancia de relacionar las tasas entomológicas con las epidemiológicas para evaluar su importancia en términos de la transmisión vectorial en la región, así como otras variables ecológicas y sociales de importancia en dicho comportamiento.

*Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia. †Secretaría de Salud Risaralda, Pereira, Risaralda, Colombia.

TLP07. Actividad Antiherpética y anti- DENV-2 *in vitro* de híbridos basados en combretastatina A4 y derivados diterpenos. (+) – Labdadienedial: posible mecanismo de acción

Lee Agudelo-Gómez*, Francielle Cardozo†, Claudia Simões‡, Juan Gallego-Gómez‡, Hamlet Acevedo-Ospina‡, Miguel González§, Liliana Betancur-Galvis*

Introducción. Los Virus Herpes Simplex tipo 1 y 2 (HHV-1 y HHV-2) son virus con genoma DNA que pertenecen a la subfamilia *Alphaherpesvirinae*, estos virus neurotróficos humanos infectan comúnmente la zona oral y genital. Aislados virales resistentes al aciclovir se pueden observar especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Esta situación ha dado lugar a la búsqueda de nuevos agentes antiherpéticos, especialmente aquellos con un mecanismo de acción diferente de los análogos de nucleósidos. El Virus Dengue (DENV), con genoma RNA, perteneciente a la familia *Flaviviridae*, presenta cuatro serotipos (DENV 1-4). La infección por DENV se manifiesta en diversas enfermedades, que van desde la fiebre del dengue no grave, a la fiebre hemorrágica de dengue grave y el síndrome de choque por dengue. Actualmente, no hay vacunas o tratamientos específicos. La Combretastatina A-4 (CA-4, 1) es un producto natural aislado del árbol de sauce africano *Combretum caffrum*, se ha obtenido un híbrido de combretastatina al mezclar farmacóforos importantes de la combretastatina A4, con esqueletos terpenoides como el labdadienedial, el cual presentó previa actividad citotóxica, antiviral y antifúngica. **Objetivo general.** Determinar la actividad antiherpética y anti-DENV de la combretastatina A4, el labdadienedial y un híbrido de ambas moléculas.

Metodología. La actividad antiviral, definida por la concentración efectiva 50% (EC_{50}) para las diferentes moléculas y controles se evaluó contra los virus HHV-1 (KOS y 29R, HHV-1 obtenido en el Centro de Control de Enfermedades (Atlanta, GA); HHV-2 (333 y VR-734 (G aciclovir) y DENV-2, mediante el ensayo de reducción de placas con diferentes estrategias metodológicas en las etapas pre y post-infección. Para determinar los índices de selectividad (IS) antiherpéticos y anti-DENV (IC_{50}/EC_{50}), en paralelo, se evaluó la concentración citotóxica 50% (IC_{50}) por el método del MTT.

Resultados. El (+) labdadienedial, DEX-S y HEP inhiben las fases iniciales del ciclo de replicación viral para HHV a concentraciones $\leq 7 \mu\text{M}$, $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ y $2 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. El labdadienedial mostró actividad virucida, de inhibición de la adherencia y entrada frente a las cepas de HHV, definiéndolo como un posible candidato para el desarrollo de fármacos tópicos.

Conclusiones. Estos datos deben ser confirmados mediante ensayos *in vivo*. Tanto el (+)-Labdadienedial como el híbrido presentaron actividad anti-DENV en etapas pre y postinfectivas, respectivamente.

*Grupo de Investigación Dermatológica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia. †Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, Brazil. ‡Grupo de Medicina Molecular y de Traslación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. §Departamento de Química Orgánica, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia, España.

TLP08. Impacto potencial del clima en la epidemiología del dengue en Risaralda, Colombia, 2010-2011

Sergio Bernal-Gutiérrez*, Erika Vanessa Cárdenas-Giraldo*, Edwin Andrés Guerrero-Matituy*, Anderson Homero Molina-Delgado*, Cindy Paola Montoya-Arias*, Liseth Lorena Quintero-Herrera*, Valeria Ramírez-Jaramillo*, Jhon Alejandro Rico-Gallego*, Alberth Christian Herrera-Giraldo*, Shirley Botero*, Alfonso J. Rodríguez-Morales*

Introducción. El dengue continúa siendo la enfermedad metaxénica más importante en el mundo, en la cual se ha evidenciado, especialmente en otros países, influencia del clima en su epidemiología.

Objetivo general. Evaluar el impacto potencial de variables climáticas en la epidemiología del dengue en Risaralda, Colombia, 2010-2011.

Metodología. Estudio ecológico con datos semanales de la vigilancia epidemiológica: número de casos y tasas de incidencia de dengue (casos/100.00 hab.). Utilizando modelos de Poisson se evaluó la influencia de ONI (Índice de Oscilación Niño) y pluviometría sobre las tasas de incidencia, ajustados por años y semanas. Nivel de confianza 95%. Se analizó con Stata 11.0.

Resultados. En 2010 se reportaron 12.651 casos y en 2011, 998. La variabilidad climática en 2010 fue más alta (ONI, 1,6 El Niño a -1,5 La Niña) que en 2011 (ONI, -1,4 La Niña a -0,2 Neutral). La pluviometría media fue 248,45 mm (mínimo 135,9-máximo 432,84). Durante El Niño, el número de casos promedios fue significativamente mayor (433,81) que en los demás períodos (142,48 Neutral, 52,80 La Niña; ANOVA $F=66,59$, $p<0,001$, Bonferroni post-hoc $p<0,01$). Los modelos de regresión mostraron que el ONI (coef 0,329; $IC_{95\%}$ 0,209-0,450) y la pluviometría (coef 0,003; $IC_{95\%}$ 0,002-0,004) fueron variables independientes altamente significativas en cuanto a la asociación con las tasas de incidencia, luego de ajustarlo por años y semanas ($p<0,001$, pseudo $r^2=0,6913$).

Conclusiones. La marcada influencia de El Niño en el número de casos y la tasa de incidencia de dengue en Risaralda en 2010 lleva a considerar la posibilidad de desarrollar medidas preventivas tomando en cuenta la estacionalidad climática.

*Grupo de Investigación SIDA y Otras Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

TLP09. El virus del dengue procesa un miRNA contra un blanco celular putativo en células vero infectadas

Natalia Campillo-Pedroza*, Juan P. Franco-Salazar*, Juan C. Gallego-Gómez*

Introducción. El virus dengue es el responsable de una de las enfermedades transmitidas por artrópodos con mayor impacto en salud pública a nivel mundial, principalmente en los países tropicales. Este virus tiene genoma RNA de cadena positiva con replicación citoplasmática. Se ha planteado, que este tipo de virus al no presentar localización nuclear durante su ciclo de replicación, difícilmente podrían procesar miRNAs no artificiales. Sin embargo a la fecha existen algunos reportes sobre el procesamiento de miRNAs en virus con estas características donde se plantean posibles rutas no canónicas de procesamiento.

Objetivo general. Validar el procesamiento de un miRNA predicho en el genoma del virus Dengue-2, dnv-mR170.

Metodología. Se utilizó la técnica *Northern Blot* no radioactivo en células Vero infectadas.

Resultados. Se observó una banda con marcaje específico de 30nt correspondiente al dnv-mR170 a las 24 y 48 horas post infección. Interesantemente el blanco celular putativo es el Receptor del Factor de Crecimiento Fibroblástico tipo 2. En recientes publicaciones se ha demostrado que el mecanismo de internalización de este receptor se realiza por endocitosis mediada por Clatrina, lo que podría sugerir que la regulación de la expresión de esta proteína puede estar relacionada con la entrada del virus.

Conclusiones. Este resultado aporta una evidencia más al nuevo planteamiento donde se propone que los virus RNA citoplasmáticos procesan miRNAs naturales durante su ciclo de replicación por vías no canónicas, adicionalmente contribuye a la comprensión de la interacción virus-hospedero, la cual potencialmente puede ser útil en el establecimiento de blancos terapéuticos de la enfermedad del dengue.

*Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia.

TLP10. Seroprevalencia de Chikungunya, Hantavirus y Rickettsia en la población indígena del municipio de Tuchín, Córdoba

Camilo Guzman*, Samia Barrera*, Surly Martínez*, Vaneza Tique*, Jorge Miranda*, Salim Mattar*†

Introducción. Los patógenos emergentes y zoonóticos como el virus chikungunya, hantavirus y rickettsias han tomado gran importancia debido a su reciente asociación con brotes en poblaciones humanas y con altas tasas de mortalidad.

Objetivo general. Establecer la seroprevalencia de los virus chikungunya (VCHIK) y Hanta (VHANT) y de *Rickettsia* sp. del grupo de las fiebres manchadas en la población indígena del municipio de Tuchín, Córdoba.

Metodología. Se analizaron 200 sueros de personas afiliados a la entidad prestadora de salud indígena Manexka que voluntariamente participaron en el estudio. Para hantavirus se utilizó la prueba IgG-Dx-Select™ (Focus Technologies, California, USA Cat:EL1600G); para Chikungunya ELISA anti-IgG VCHIK (Nova-Tech-inmunodiagnostica GmbH, Germany Cat: CHIG0590) y para *Rickettsia* la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IgG) estandarizada en el IIBT.

Resultados. La seroprevalencia para hantavirus fue del 9.1% (7/87), para *Rickettsia* sp., del grupo de las fiebres manchadas fue del 5.2% (10/190) y para el virus Chikungunya del 0% (0/190). No se encontraron diferencias significativas ($p = <0.05$) entre los seropositivos de hantavirus y *Rickettsia* sp., para las variables género, edad y ocupación. Se evaluaron nueve factores de riesgo que presentaron la siguiente distribución: contacto con animales domésticos 84.7% (161/190), contacto con roedores 65.3% (124/190), tipo de material de construcción de la vivienda (bareque y barro (56.3%), techo de palma (56.8%) y la disposición final de desechos a campo abierto (55.3%). No obstante, la correlación de los factores de riesgo y la presencia de anticuerpos no mostró asociación ($p = <0.05$).

Conclusiones. Los hallazgos demuestran la circulación de patógenos como *Rickettsia* sp., y hantavirus en población indígena del municipio de Tuchín. Aunque no se hallaron seropositivos para CHIK, este es el primer estudio de vigilancia epidemiológica realizado en Colombia sobre CHIK.

*Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Tripipe, Córdoba, Colombia. †Contacto: mattarsalim@hotmail.com

TLP11. Evaluación de las regiones del gen E en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas del dengue

Cinthy Jiménez-Silva*, Susana Ortiz-Baez*, Raquel E. Ocaziones-Jiménez*, Daniel Miranda-Esquivel*

Introducción. Al inicio de los 90s los análisis de epidemiología molecular del virus del dengue empleaban una región corta de 240 pb correspondiente a la unión de los genes E/NS1. Estudios posteriores señalaron el uso de secuencias del gen E (1485pb) como los datos mas apropiados para observar la diversificación del virus, mientras que Domingo et al. (2006) plantearon que una zona de 306pb de la región carboxilo-terminal del gen E recuperaba topologías iguales o muy similares a aquellas reconstruidas a partir del gen E.

Objetivo general. Evaluar la información filogenética de las regiones del gen E con respecto al gen E completo.

Metodología. A partir de secuencias del gen E disponibles en GenBank se realizó un alineamiento múltiple y se extrajeron las cuatro particiones correspondientes a las regiones que traducen los tres dominios y la región transmembrana de la proteína. Para cada partición se reconstruyeron las relaciones filogenéticas bajo los criterios de Parsimonia y Análisis de Máxima Verosimilitud. Se compararon las topologías reconstruidas contra la topología del gen E completo a partir del cálculo de la resolución, las distancias topológicas, y el número de nodos iguales.

Resultados. La comparación de las relaciones filogenéticas entre el gen E completo y las diferentes particiones, mostraron diferencias a nivel de resolución filogenética, patrón de relaciones y reconocimiento de patrones temporales. Las particiones del gen E permitieron reconocer serotipos, pero no todas identificaron los genotipos. Adicionalmente, ninguna partición resolvió las relaciones inter-genotípicas recuperadas con el gen E, siendo la región carboxilo-terminal la menos informativa.

Conclusiones. Las topologías basadas en las particiones del gen E constituyen herramientas útiles a nivel diagnóstico. Sin embargo, no son apropiadas para inferir relaciones filogenéticas, aspectos evolutivos o establecer vigilancia de los genotipos circulantes del dengue.

*Grupo de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP) y Laboratorio de Sistemática y Biogeografía. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

TLP12. ¿Podemos tipificar y reconstruir la filogenia con cualquier gen en el virus del dengue?

Cinthy Jiménez-Silva*, Ayda Ortiz-Baez*, Juliette Gualdrón-Díaz*,
Raquel E. Ocaziones-Jiménez*, Daniel Miranda-Esquivel*

Introducción. La mayoría de las reconstrucciones de la historia evolutiva del virus del dengue se han basado en el análisis de algunas secuencias génicas (preM/E, E, E/NS1). No obstante, los recientes avances en biología molecular y la creciente disponibilidad de secuencias genómicas ofrecen una gran oportunidad para reevaluar la filogenia del dengue.

Objetivo general. Evaluar el potencial filogenético de los genes con respecto al genoma, para la tipificación y evaluación de la filogenia del virus (DENV).

Metodología. Se construyó una base de datos depurada a partir del total de secuencias genómicas de DENV disponibles en GenBank (16-03-2013). A partir del alineamiento múltiple, se extrajeron los genes y se reconstruyeron las relaciones filogenéticas bajo los criterios de Parsimonia, Distancia genética y Análisis de Máxima Verosimilitud. Para evaluar la discrepancia entre reconstrucciones se cuantificó el número de nodos comunes, la distancia y la resolución topológica.

Resultados. Todas las reconstrucciones permitieron la serotipificación del virus; sin embargo, los patrones de relaciones intra e inter-genotípicas fueron incongruentes entre genes y métodos. Aunque la resolución depende del tamaño del gen, no existe una fuerte dependencia entre el tamaño y la similaridad topológica con respecto al patrón generado por el genoma completo. Dadas las métricas usadas, los genes NS5, NS3 y NS1 son los mejores descriptores del genoma, mientras los genes C y preM son los menos informativos.

Conclusiones. Las reconstrucciones hechas a partir de genes estructurales no son la aproximación más eficiente para evaluar las relaciones filogenéticas en dengue, en comparación con el genoma total. Por lo tanto, queda en evidencia la importancia de la información que revelan los datos y el buen análisis de los mismos.

*Laboratorio de Sistemática y Biogeografía. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

TLP13. La infección de células epiteliales con virus dengue promueve la expresión de proteínas que favorecen la replicación de algunas cepas virales

Viviana Martínez-Betancur, Marcel Marín-Villa*, Marlén Martínez-Gutiérrez**

Introducción. El Virus Dengue (DENV) es el agente causal del Dengue y Dengue Grave. Los estudios usando herramientas de proteómica pueden ayudar a mejorar la comprensión de la interacción virus-hospedero, pero hasta el momento son pocos los que se han realizado en esta área.

Objetivo general. Determinar las proteínas celulares cuya expresión es modificada debido a la infección por DENV.

Metodología. Se realizó la evaluación de la viabilidad celular en células infectadas y la cuantificación del genoma viral y de las partículas virales infecciosas. Finalmente, se realizó una comparación de la expresión de proteínas de células VERO infectadas con cepas de DENV serotipo 2: DENV/NG (asociada a Dengue) y DENV/16681 (asociada a Dengue Grave) mediante espectrometría de masas.

Resultados. Se determinó la viabilidad de las células infectadas, encontrándose que ninguna de las cepas empleadas induce muerte celular a las 48 h. Adicionalmente, se encontró que la replicación del genoma de la cepa DENV-2/16681 es mayor que la de la cepa DENV-2/NG. Al identificar las proteínas expresadas se encontró que en los cultivos infectados con la cepa DENV-2/NG o DENV-2/16681 hubo cinco y seis proteínas respectivamente con expresión diferencial en comparación con el control sin infección. Los resultados más importantes se encontraron en la comparación entre los cultivos infectados (DENV-2/NG Vs DENV-2/16681), en la que se identificaron 18 proteínas con expresión diferencial. Muchas de estas proteínas debido a la función que cumplen, se asociaron a un aumento en la eficiencia de replicación del DENV, entre ellas se encuentran la calreticulina, la acetil Coenzima A acetil transferasa y la proteína de unión a ácidos grasos.

Conclusiones. La infección de células VERO con DENV/NG o DENV/16681 modifica diferencialmente la expresión de algunas proteínas celulares las cuales pueden facilitar el desarrollo de la infección.

*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

TLP14. Caracterización molecular y epidemiológica de un Hantavirus detectado en Necoclí (Colombia)

Carolina Montoya-Ruiz, Francisco J. Díaz†, Juan D. Rodas**

Introducción. Aunque el síndrome pulmonar por hantavirus ha sido reportado en muchos países de Sur América, Colombia aún no ha reportado ningún caso. Esta situación probablemente se asocia tanto a la escasa caracterización de estos agentes en nuestro medio, como a la carente disponibilidad de recursos diagnósticos.

Objetivo general. Caracterizar las relaciones filogenéticas de un Hantavirus previamente detectado en Necoclí (Antioquia), y explorar su transmisión y potencial patogénico para los seres humanos.

Metodología. La caracterización filogenética se realizó a partir de las secuencias completas de los segmentos S y M obtenidas del pulmón de un *Zygodontomys cherriei* capturado en Turbo. Se exploró la transmisión a humanos a través de la búsqueda de IgG reactiva para el virus Maciel en una muestra de la población general en la zona de Urabá. En la actualidad se está adelantado un muestreo de pacientes con síndrome febril en la misma región, para probarlos con una nueva ELISA y RT-PCR para el virus autóctono.

Resultados. La comparación de las secuencias del virus "Necoclí" con otros del GenBank, indica que se podría tratar de un agente nuevo, de alta identidad con el virus Calabazo (Panamá); del que poco se conoce y aún no es aceptado como una nueva especie. El estudio serológico en población general mostró una seroprevalencia del 1.3% IC [0.327-2.300], lo que demuestra circulación de un hantavirus en humanos, que se desconoce si sería Necoclí y si estaría generando alguna patología.

Conclusiones. Se ha detectado un hantavirus circulando en roedores silvestres y humanos, pero aún es necesario realizar pruebas serológicas en los pacientes con síndrome febril e intentar amplificar en estos el genoma viral y conocer las posibles implicaciones clínicas en la infección humana.

*Grupo Centauro, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín (Antioquia), Colombia. †Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín (Antioquia), Colombia.

TLP15. Migración celular y actividad metaloproteasa de matriz extracelular inducida por virus dengue

Elizabeth Orozco-García*†‡, Diego Álvarez*†, Juan Carlos Gallego-Gómez*†

Introducción. El dengue es la enfermedad producida por arbovirus más común del mundo, 40% de la población vive en áreas endémicas con cerca de 230 millones de infecciones anuales. El DENV causa alteraciones en la barrera vascular endotelial como síndrome de shock por dengue (DSS) y fiebre de dengue hemorrágico (DHF). De 500.000 pacientes que desarrollan DHF mueren más de 20.000 anualmente, emergiendo el DENV como prioridad sanitaria con altos impactos socioeconómicos, el endotelio debe ser estudiado a fondo ya que su alteración se presenta en los casos de dengue severo.

Objetivo general. Identificar los efectos celulares-funcionales de la infección por DENV en células endoteliales de microvasculatura humana en presencia o ausencia de inhibidor de CDK5. Específicos. 1) Determinar las etapas del ciclo de replicación del DENV en células HMEC-1. 2) Evaluar el patrón de migración, actividad metaloproteasa durante las etapas de replicación del DENV en células HMEC-1.

Metodología. Curvas de crecimiento, ensayo formación de placas, microscopía fluorescencia, ensayo migración, test LDH, RT-PCR, zimografía.

Resultados. La dinámica de crecimiento viral sincronizada a MOI 15 durante 48 hpi, reveló un pico de producción viral 36 hpi que desciende entre 42-48 hpi. En puntos críticos del ciclo de replicación viral (3, 12, 24, 36 y 48 hpi) se evaluó migración celular y se cuantificaron genomas virales. DENV aumentó entre 275%-325% la migración celular con respecto a células no infectadas, se encontró actividad metaloproteasa en sobrenadantes de células infectadas a diferentes tiempos post-infección. Estudios conducidos por Álvarez D, et al., 2013 (datos sin publicar) mostraron un perfil de citoquinas que se sobreexpresan en horas tardías las cuales se correlacionan con los patrones de migración y actividad metaloproteasa. Se establecieron concentraciones adecuadas de roscovitín (5, 10, 20, 30 μ M) por MTT, para tratar células infectadas. El roscovitín redujo los efectos de la infección por DENV en ECs.

Conclusiones. La infección por DENV genera patrones de expresión diferencial de citoquinas que promueven migración y actividad metaloproteasa en ECs, y esta contribuye a un cambio en la dinámica endotelial, que puede estar asociada con los signos de dengue grave. Este efecto fue reducido por el roscovitín, ofreciendo una prueba de concepto en el marco de medicina de traslación, para posibles candidatos terapéuticos enfocados a controlar la severidad de la enfermedad.

*Grupo de Medicina Molecular y de Traslación, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia. †Grupo Neurociencias de Antioquia, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia. ‡Contacto: lizoruzo@gmail.com

TLP16. Detección de los cuatro serotipos de dengue a partir de mosquitos *Aedes aegypti* recolectados en área rural de dos municipios de Cundinamarca, Colombia

Rosalía Pérez*, Jaime Castellanos*||, Víctor Olano†, María Matiz†, Juan Jaramillo†, Sandra Vargas†, Diana Sarmiento†, T.A. Stenström‡§, H.J. Overgaard‡

Introducción. La detección del virus dengue en mosquitos de áreas endémicas en Colombia podría ser una herramienta útil para la vigilancia en salud pública, debido a que el dengue es la enfermedad arboviral más importante en el mundo que genera incapacidad y muertes.

Metodología. En los municipios de Anapoima y La Mesa, Cundinamarca, se recolectaron mosquitos *Ae. aegypti* mediante aspirador portátil en 600 viviendas pertenecientes a 38 veredas y 5 inspecciones rurales. El material fue transportado en hielo seco y congelado a -80°C hasta su procesamiento. Una vez identificados y seleccionadas las hembras, se extrajo el RNA en grupos de al menos 20 hembras en cada vial. El RNA fue procesado por retrotranscripción y PCR múltiple para la detección del virus dengue y la actina1 como indicador de la calidad de la muestra. Se presentan resultados del 10% de las hembras; 8 viales de siete localidades (4 de Anapoima y 4 de La Mesa), restan por procesar 72 viales.

Resultados. En Anapoima en 3 de 4 muestras se detectó RNA de virus dengue (una DENV2, una DENV1 y DENV2, y una DENV2 y DENV4). Cuatro muestras de La Mesa fueron positivas (dos DENV1, una DENV3, y una DENV2 y DENV4). Se recolectaron 1368 hembras y 1338 machos *Ae. aegypti* en las que se obtuvieron cantidades adecuadas de RNA total (312-1136 ng/ul), el mRNA de actina1 fue amplificado en las 8 muestras procesadas.

Conclusiones. Por primera vez se reporta dengue en *Ae. aegypti* capturados en área rural en Colombia. La detección de los 4 serotipos de dengue en el 10% de los viales de hembras de *Ae. aegypti* recolectados en áreas rurales de los municipios de Anapoima y La Mesa en Cundinamarca Colombia, permite pensar que el sistema RT-PCR podría ser usado como alerta temprana de brotes de dengue.

*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. †Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. ‡Department of Mathematical and Technological Sciences, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway. §SARCB, Durban University of Technology, Durban, South Africa. ||Contacto: castellanojaim@unbosque.edu.co

TLP17. Caracterización estructural y anotación de regiones candidatas a ser RNAs no codificantes (ncRNAs) en los genomas de los cuatro serotipos del virus dengue

Andrés Puerta*†‡, Clara Bermúdez†, Juan Gallego-Gómez*

Introducción. El virus dengue pertenece al género de los Flavivirus de la familia *Flaviviridae*. Existen cuatro serotipos y numerosos genotipos, que producen diversos cuadros clínicos (leves, severos y graves), con alta incidencia en países tropicales de todo el mundo y en particular alto impacto en Colombia. En los genomas del género *Flavivirus*, se han reportado regiones estructuradas capaces de producir RNAs no codificantes (ncRNAs), que modulan las respuestas de las células hospederas, o están involucrados en la replicación misma del virus.

Objetivo general. Caracterizar las regiones estructuradas candidatas a procesar ncRNAs, en los genomas de los cuatro serotipos del dengue.

Metodología. Estas regiones se proponen como regiones potenciales para la regulación del ciclo viral, y posibles marcadores moleculares en diagnóstico y pronóstico.

Resultados. Para la caracterización de estas regiones se utilizan alineamientos genómicos bajo tres criterios diferentes (NcDialign, Dialign y Mugsy), de diferentes aislados clínicos de los cuatro serotipos reportados en el GenBank. Adicionalmente, a partir de los alineamientos genómicos, se identificaron regiones estructuradas termodinámicamente estables, como potenciales candidatos a ser ncRNAs utilizando el software RNAz.

Conclusiones. Se presenta una primera aproximación de anotación utilizando los modelos de covarianza de familias de RNAs virales reportadas en Rfam.

*Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín. †Grupo Ruómica Teórica y Computacional, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. ‡Contacto: apuerta@gmail.com

TLP18. Seroprevalencia en humanos contra el virus dengue (familia *Flaviviridae*) e índice pupal y larval de *Aedes aegypti*, en la población urbana de los municipios ubicados por encima de 1700 msnm en el departamento del Quindío

Sthepanie Roman*, Jhon Carlos Castaño*

Introducción. Las variaciones climáticas producidas por el calentamiento global han favorecido la dispersión de enfermedades y sus vectores como el dengue.

Objetivo general. Determinar la situación vectorial y la seroprevalencia en los municipios ubicados por encima de los 1700 msnm, considerada como el límite de altura para la presencia del mosquito vector.

Metodología. Con un tamaño de muestra de n= 378 personas, se realizó un muestreo bietápico, aleatorio simple de manzanas en la primera etapa y sistemático de tramo 5 en la segunda etapa. Se eligieron al azar 78 manzanas, distribuidas en los municipios a estudio de acuerdo al número de habitantes. Para la determinación de los anticuerpos séricos tipo IgG contra dengue se tomó una muestra de sangre venosa, previa firma del consentimiento informado. Se utilizó el estuche de ELISA indirecta VIRCELL Ref. G1018. Además, se identificó la presencia de pupas y larvas estadio 4 de *Aedes aegypti* en los recipientes que pudieran significar reservorios del mosquito.

Resultados. Se pudo evidenciar la presencia del vector de *Aedes aegypti*, en la población urbana de Circasia Quindío. La seropositividad para IgG anti Dengue en los municipios fue Circasia 44,2%, Filandia 26,2%, Pijao 29,3%, Salento 30,5%. El índice larval y pupal de Breteau fue para Circasia 62,5% y 40% Salento 2,1% y 1,05%, respectivamente, mientras en Filandia y Pijao ambos índices fueron del 0%.

Conclusiones. La presencia de *Aedes aegypti* y anticuerpos contra el virus Dengue en los municipios situados a alturas superiores a los 1700 m.s.n.m en el departamento, pueden explicar que el cambio climático esta favorecido la dispersión del vector del dengue en el departamento.

*Grupo de Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia.

TLP19. Uso del Docking molecular para identificar compuestos capaces de inhibir la actividad de la metiltransferasa del virus dengue

Andrea Trujillo-Correa*†, Rodrigo Ochoa*, James Wegert†,
Carlos Muskus*, Iván D. Velez*, Jorge E Osorio*†, Sara Robledo*

Introducción. En ausencia de una vacuna licenciada, es fundamental el descubrimiento de antivirales dirigidos contra el virus del dengue (DENV). Herramientas bioinformáticas se han utilizado para encontrar posibles inhibidores específicos contra el DENV.

Objetivo general. Evaluar el mecanismo antiviral de compuestos derivados de Docking, sobre la infección por DENV en un modelo *in vitro* e *in vivo*.

Metodología. Ensayos de Acoplamiento molecular o Docking fueron utilizados para identificar ligandos teóricos para el dominio metiltransferasa de la proteína NS5 en más de 50.000 moléculas provenientes de la base de datos ZINC. Las coordenadas de la proteína se obtuvieron de la base de datos de proteínas (PDB: 2P41), y junto con los ligandos se prepararon en AutoDock 1.5.4. Las moléculas se acoplaron utilizando AutoDock Vina software.

Resultados. Tres de las moléculas con mayor afinidad fueron seleccionadas. La citotoxicidad de los compuestos se evaluó en células VERO y U937 utilizando el ensayo MTT. La actividad antiviral fue evaluada para los cuatro serotipos DENV bajo diferentes estrategias de tratamiento, PRE, TRANS y POST. Uno de los compuestos mostró bajos niveles de citotoxicidad y una actividad antiviral significativa a diferentes MOIs en diferentes líneas celulares, con algunas variaciones dependiendo del serotipo viral. En el modelo animal de ratón A129 se observa disminución de la viremia con algunos cambios clínicos e histopatológicos significativos entre el tratamiento y el control. De las 60485 moléculas analizadas nuestros resultados muestran que uno de los compuestos puede unirse al sitio catalítico de la actividad metiltransferasa de NS5, y de esta manera inhibir la infección *in vitro* e *in vivo*.

Conclusiones. Los resultados de nuestro estudio demuestran que la combinación de un estudio virtual y la validación en el laboratorio es un enfoque viable para el descubrimiento de nuevos agentes antivirales.

*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, Madison, WI, United States.

TLP20. Evaluación de la capacidad replicativa del virus dengue serotipos 1 y 3 en poblaciones de *Aedes aegypti* de zonas de alta y baja incidencia de dengue en Medellín: estudio *in vitro* e *in vivo*

Alexander Uribe-Yepes*, Carolina Quintero-Gil*, Marta Ospina†, Marlen Martínez-Gutiérrez*

Introducción. La transmisión urbana del Virus Dengue (DENV) se debe principalmente al mosquito *Ae. aegypti*. Esta transmisión esta modulada por múltiples factores, definidos como capacidad vectorial, en donde se incluyen una amplia gama de características asociadas al vector, definidas como competencia vectorial.

Objetivo general. Evaluar la capacidad replicativa (como indicador de la competencia vectorial) de aislados clínicos de DENV-1 y DENV-3 en tres poblaciones de *Ae. aegypti*: dos poblaciones silvestres, recolectados en zonas de alta y baja incidencia de dengue y la tercera población de laboratorio (Rockefeller).

Metodología. Mosquitos *Ae. aegypti* fueron infectados artificialmente por vía oral con DENV-1 y DENV-3. A los 7, 14 y 21 días post-infección se realizó extracción de RNA total de los mosquitos alimentados para cuantificar RNA viral por RT-qPCR. Así mismo se comparó la capacidad replicativa de ambos serotipos en células de insecto (C6/36 HT) y la viabilidad celular en condiciones de infección con alguno de los serotipos.

Resultados. Se encontró que las poblaciones de mosquitos derivadas de zonas de alta y baja incidencia de la enfermedad son más competentes a la transmisión de ambos serotipos de DENV que los mosquitos de la colonia de referencia. De igual manera se determinó que DENV-1 se replica de manera más eficiente que DENV-3 en mosquitos de campo y laboratorio. Así mismo se observó como el efecto citopático de DENV-1 sobre la línea celular derivada de *Aedes albopictus* (C6/36 HT) es mayor que para DENV-3; y como la capacidad replicativa del serotipo 1 también es mayor en comparación con el serotipo 3 de DENV.

Conclusiones. La importancia de estos hallazgos radica en que diferencias en la capacidad de DENV replicativa en los vectores podría estar asociado con variaciones en el riesgo de transmisión del virus, el cual afecta directamente el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.

*Programa de estudio y control de enfermedades tropicales-PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Laboratorio Departamental de Salud de Antioquia, Medellín, Colombia.

TLP21. Uso de oligonucleótidos degenerados para la detección molecular y tipificación del virus dengue por RT-PCR y PCR anidada

José A. Usme-Ciro*^{†‡}, Alba M. Gómez-Castañeda[†], Lissethe C. Pardo[‡], Juan C. Gallego-Gómez*[†]

Introducción. El virus dengue (DENV) posee altas tasas de sustitución nucleotídica, que conllevan una rápida acumulación de cambios en su genoma en corto tiempo. Por ello, técnicas moleculares como la RT-PCR, deben ser constantemente re-evaluadas para garantizar mayor sensibilidad en el diagnóstico.

Objetivo general. Rediseñar los oligonucleótidos utilizados convencionalmente para la detección y tipificación del DENV y evaluar su desempeño sobre ARNs extraídos de muestras clínicas.

Metodología. Utilizando el programa ClustalW se alinearon secuencias disponibles en GenBank (Release 155.0) para la región *C-prM/M* de cada serotipo del DENV. Se analizaron las regiones de hibridación de los oligonucleótidos reportados por Lanciotti et al., 1992 (J Clin Microbiol 30: 545-51) en el contexto de toda la variabilidad presente y se realizaron modificaciones teniendo en cuenta los diseños obtenidos por el programa HintPCRv3.0, así como la posición de codón del nucleótido correspondiente al extremo 3' de cada oligonucleótido, frecuencia de polimorfismos en la matriz de secuencias, entre otros. Los oligonucleótidos se evaluaron a diferentes concentraciones sobre ARNs extraídos de cultivos celulares infectados y sueros de pacientes con sospecha de dengue.

Resultados. En la modificación de los oligonucleótidos D1, D2, TS1, TS2, TS3 y TS4 se utilizaron matrices de 795, 910, 85, 151, 335 y 201 secuencias, respectivamente. Fueron necesarias modificaciones en el extremo 3' de los oligonucleótidos TS1, TS3 y TS4 por coincidir con terceras posiciones de codón, sitios con alta variabilidad reflejada en los alineamientos y por ser determinante para la amplificación. Los oligonucleótidos modificados amplificaron específicamente cada serotipo del DENV, tanto desde sobrenadantes de cultivo como desde muestras clínicas.

Conclusiones. El rediseño de oligonucleótidos tuvo en cuenta la variabilidad genética acumulada en más de 15 años, demostrándose experimentalmente su utilidad en la detección y tipificación del DENV, garantizando una mayor sensibilidad en el diagnóstico y vigilancia del DENV por laboratorio.

*Unidad de Vectores Virales y Terapia Génica, Grupo de Neurociencias, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, A.A. 1226, Medellín - Colombia. †Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia. ‡Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP22. Detección del virus de la hoja amarilla (*Sugarcane yellow leaf virus, SCYLV*) en caña de azúcar mediante PCR en tiempo real

Y. Carolina Acosta V.*[†], Marcela Cadavid O.*[†], Juan C. Ángel S.*[†], Jorge I. Victoria K.*[†], Carlos A. Ángel C.*[†]

Introducción. La caña de azúcar es uno de los cultivos más importantes en Colombia utilizado para producir azúcar, panela, etanol y cogeneración de energía. El virus de la hoja amarilla (SCYLV), es una enfermedad importante y de alta prevalencia mundialmente, detectada en Colombia en 1998. SCYLV (*Polerovirus, Luteoviridae*) tiene un genoma de cadena simple de ARN transmitido mediante semilla vegetativa infectada y por áfidos vectores. El efecto de SCYLV en la producción de caña y sacarosa entre variedades es variable, dependiendo del ambiente y del manejo; por tanto, no se puede generalizar su nivel de daño. Cenicaña utiliza técnicas serológicas como TBIA (*Tissue-Blot Enzyme Immunoassay*) y moleculares como RT-PCR para su diagnóstico en muestras de lotes semilleros y comerciales, pero dadas las bajas concentraciones y los límites de detección de ambas técnicas, se pueden generar diagnósticos falsos negativos.

Objetivo general. Adaptar métodos más sensibles, rápidos y específicos en el diagnóstico, y preferiblemente cuantitativos para usarse en estudios sobre resistencia en las variedades.

Metodología. Se está adaptando PCR en tiempo real (RT-qPCR). Se amplificó un fragmento específico entre los marcos de lectura 0 y 1 del genoma de SCYLV, y se evaluaron iniciadores para cuatro genes de referencia de la planta: O-Met, Actina, β -Tubulina y GAPDH.

Resultados. El rango dinámico para SCYLV fue reproducible y consistente desde 1X (100 ng de ARN total) hasta 1×10^{-5} ; y para β -Tubulina fue hasta 1×10^{-4} . No se observaron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) en la expresión y efecto de la dilución para β -Tubulina tanto en muestras sanas como enfermas, pero si se dieron para SCYLV. β -Tubulina no varió entre plantas de una misma variedad ni entre variedades, cumpliendo como gen normalizador. Se logró detectar SCYLV en hasta 1.0 pg de ARN total de una planta infectada.

Conclusiones. Se validó la mayor sensibilidad del RT-qPCR respecto al TBIA y RT-PCR.

*Área de Fitopatología, Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia -CENICAÑA, Cali, Colombia. †Contacto: cangel@cenicana.org

TLP23. Análisis filogenético del Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV) en granjas porcícolas intensivas de Colombia

Jennifer Castro*, Claudia Calderón*, Andrea Castillo*, María Antonia Rincón†

Introducción. El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS), es de importancia para los poricultores, por el comercio internacional de porcinos y productos de origen porcino. Las primeras evidencias serológicas en Colombia se registraron en 1996. Posteriormente se realizaron estudios de aislamiento y de caracterización filogenética en cepas aisladas entre 1998 y el 2002. Debido a la aparición de brotes reemergentes en algunas zonas del país, es necesario actualizar la información de la epidemiología molecular del VPPRS en Colombia.

Objetivo general. Analizar filogenéticamente secuencias correspondientes a la región ORF5 del Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV), obtenidas a partir de muestras de campo provenientes de granjas porcícolas intensivas de diferentes regiones de Colombia.

Metodología. Inicialmente se realizará la detección del fragmento ORF7 (qRT-PCR) para detectar la presencia del virus y cuantificar el número de copias virales, en muestras de suero, tejidos y fluidos orales. Posteriormente, se realizará estudios de secuenciación sobre el fragmento ORF5 para la clasificación de las cepas.

Resultados. Hasta el momento se han analizado muestras provenientes de los departamentos de: Quindío, Cundinamarca, Santander, Sucre, Antioquia y Valle del Cauca, de las cuales se han detectado siete casos positivos asociados con cuadros clínicos reproductivos y respiratorios. Las secuencias analizadas tienen una relación directa con secuencias reportadas pertenecientes al genotipo 2; incluidas dentro de los grupos virales VR2332 y 184. Por otro lado, las secuencias analizadas no son totalmente idénticas a las reportadas en años anteriores por el ICA, observándose variaciones nucleotídicas entre cepas procedentes de una misma granja y región geográfica.

Conclusiones. Se detectó la presencia de cepas americanas del virus del PRRS en explotaciones porcinas intensivas de diferentes zonas del país. Se detectó la aparición de variantes a nivel de granja y regiones.

*Laboratorio de Biología Molecular. †Laboratorio de Medicina Porcina. Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario (LNDV) - Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Bogotá, Colombia.

TLP24. Primer reporte de recombinación en Potato yellow vein virus (PYVV) en Colombia

Giovanni Chaves-Bedoya*, Karen Cubillos†, Mónica Guzmán-Barney†

Introducción. *Potato vein yellow virus* (PYVV) clasificado como tentativo *Crinivirus* con genoma RNA ss(+) tripartita es re-emergente e importante en Colombia y otros países andinos pues ocasiona pérdidas de producción de más del 50%.

Objetivo general. Analizar la variabilidad genética en 60 aislados virales colectados en el departamento de Nariño-Colombia.

Metodología. Se utilizó análisis bioinformático de las secuencias de genes involucrados en la protección y en la transmisión viral, que codifican para la proteína mayor de la cápside (CP) la proteína de choque térmico 70 (Hsp70) y la proteína menor de la cápside (CPm).

Resultados. De los tres genes en la CPm se detectó mayor diversidad con los valores de sustitución nucleotídica más altos y con evidencia de recombinación en seis aislados. Con base en el análisis del mapa de haplotipos empleando la secuencia nucleotídica de la CPm, se propone un modelo de recombinación en esta región genómica. Los segmentos no recombinantes se respaldan por los resultados del programa GARD (Genetic Algorithm for Recombination Detection), los árboles filogenéticos y los valores pareados de las distancias genéticas de cada segmento no recombinante. El modelo muestra claramente que la región amino de la CPm tiene tendencia a recombinación.

Conclusiones. Los resultados sugieren que la mutación y recombinación son procesos importantes en la evolución de la CPm, pero a pesar de estos mecanismos, el polimorfismo genético de PYVV es muy bajo considerando que es un virus de ARN. Faltan estudios de repercusión biológica.

*Grupo de investigación PLANTAE, Departamento de Biología, Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta-Colombia. †Grupo de investigación Biología Molecular de Virus, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

TLP25. Evidencia filogenética de un nuevo linaje del Virus del Distemper Canino en perros domésticos del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia

María Espinal*, Francisco Díaz†, Julián Ruíz-Sáenz*‡

Introducción. El Virus del Distemper Canino (CDV) es el agente causal de una enfermedad altamente contagiosa que afecta a poblaciones caninas domésticas y silvestres. El gen de la hemaglutinina (H), que codifica para la proteína de membrana que determina el tropismo viral y que constituye el principal antígeno viral, presenta gran variabilidad genética entre las cepas existentes, identificándose hasta la fecha 8 linajes distintos distribuidos alrededor del mundo.

Objetivo general. Determinar el o los linajes del CVD circulantes en las poblaciones caninas del Valle de Aburrá (Antioquia, Colombia).

Metodología. Se realizó RT-PCR del gen de la fosfoproteína en 46 perros con signos compatibles de CDV para detección viral inicial. Posteriormente se hizo RT-PCR del gen H en muestras clínicas (suero y secreción ocular) de 23 perros positivos para el P con el fin de amplificar el gen H en su totalidad. Los productos obtenidos fueron purificados y secuenciados. Posteriormente, se infirieron las relaciones filogenéticas de las cepas obtenidas con las de aislamientos de otras partes del mundo a través del método bayesiano.

Resultados. Fue posible obtener la secuencia completa del gen H en 15 muestras. A nivel aminoacídico, estas exhibían una identidad de 99.7% - 99.8% entre ellas pero se distanciaban en más del 4% con los otros aislamientos silvestres reportados alrededor del mundo y en más del 10% con las cepas vacunales pertenecientes al linaje americano 1. En el árbol filogenético, las secuencias obtenidas se agruparon monofiléticamente con una alta probabilidad posterior (100%) y por fuera de los linajes previamente descritos.

Conclusiones. Los anteriores resultados sugieren que en las poblaciones caninas del valle de Aburrá circula una nueva y única variante genética del CDV, altamente divergente de las cepas vacunales. El cual acorde con la distribución filogeográfica reportada en el mundo debería denominarse Sur América-3.

*Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias Centauro, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Contacto: julianruizsuenz@gmail.com

TLP26. Patrones evolutivos de poblaciones de Parvovirus Canino circulantes en Río de Janeiro

Álvaro Fajardo*, Tatiana de Castro†, Martín Sónora*, Gonzalo Moratorio*, Rita Cubel†, Juan Cristina*

Introducción. El Parvovirus Canino (CPV-2) es un miembro de la familia *Parvoviridae*, género *Parvovirus*. Este virus es causante de cuadros de gastroenteritis hemorrágica y miocarditis en perros, siendo una de las principales causas de muerte de cachorros. Su genoma consiste de una cadena simple de ADN de aproximadamente 5000 nucleótidos que contiene dos grandes marcos abiertos de lectura. Su principal proteína de superficie se denomina VP2 y representa aproximadamente el 90% de la cápside viral, que es el principal determinante de la gama de huéspedes. Unas pocas diferencias aminoacídicas en esta proteína distinguen a los 3 genotipos conocidos de este virus, denominados CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c, que circulan con diferentes prevalencias alrededor del mundo.

Objetivo general. Investigar los patrones evolutivos de variantes de CPV-2 circulantes en Río de Janeiro, Brasil.

Metodología. Se realizaron análisis bayesianos de coalescencia mediante la aproximación de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), analizando 98 secuencias de la región VP2 correspondientes a variantes aisladas entre 1995 y 2011.

Resultados. Estos estudios revelaron que la emergencia del genotipo CPV-2b alrededor del año 2002, contribuyó a un importante aumento poblacional de CPV en Río de Janeiro. Por su parte, la emergencia del genotipo CPV-2c no alteró los patrones epidemiológicos en Río de Janeiro, a diferencia de otras regiones geográficas donde se estableció como el genotipo predominante.

Conclusiones. CPV-2a y CPV-2b se mantienen como los genotipos más frecuentes en esta región, siendo únicamente reportadas infecciones por el genotipo CPV-2c de forma esporádica.

*Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. †Departamento de Microbiología e Parasitología, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Río de Janeiro, Brazil.

TLP27. Distribución del Peruvian Horse Sickness Virus (PHSV) y Yunnan Orbivirus (YUOV) en el norte del Perú

J. Christian Florián-Carrillo*, Rosario Méndez†, Charles Calisher‡, Houssam Attoui§, David Florin||, Stephanie Montero†

Introducción. Los Orbivirus Peruvian Horse Sickness (PHSV) y Yunnan (YUOV) son de reciente descubrimiento, ambos han sido aislados tanto en Perú, como en Australia y China, respectivamente. Estos virus se han encontrado implicados en patologías neurológicas de equinos (PHSV) y de bovinos, equinos, ovinos y cánidos (YUOV), su transmisión es por picadura de mosquitos. El norte del Perú parece ser el lugar de circulación, ya que es de donde provienen los primeros casos registrados y aislamientos virales.

Objetivo general. Determinar la extensión de la distribución de PHSV y YUOV en el norte del Perú, en sueros de bovinos, equinos y ovinos, además de mosquitos.

Metodología. Suero y tejidos de bovinos, ovinos, equinos y de un cánido afectado, además de mosquitos fueron monitoreados en los departamentos de Piura, San Martín y Ucayali, a los cuales se les pasó a cultivos celulares para el aislamiento de ARN viral y mediante sus electroferrotipos obtener el número de segmentos y pesos moleculares para su identificación como perteneciente al grupo de los orbivirus, posteriormente fueron secuenciados para una identificación viral exacta.

Resultados. Se confirmó la presencia del virus en las especies animales muestreadas tanto en los sueros como en los mosquitos en las zonas de muestreo. Los mosquitos donde se encontró su presencia fueron *Ochlerotatus scapularis* para YUOV y *Anopheles albimanus*, *Ochlerotatus serratus* y *Psorophora ferox* para PHSV.

Conclusiones. El patrón de distribución de ambos virus va desde el departamento de Piura cerca de la frontera con Ecuador hasta Ucayali en el este del Perú cerca a Brasil, la circulación de estos virus parece seguir las rutas de comercio entre la selva y la costa, quedando por dilucidar la direccionalidad que sigue.

*Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. †Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Av. Alameda del Corregidor 1561, La Molina, Lima, Perú. ‡Department of Microbiology, Immunology and Pathology, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO, U.S.A. §Department of Vector-Borne Diseases, Institute for Animal Health, Pirbright, Woking, Surrey, United Kingdom. ||Uniformed Services University of the Health Sciences. Preventive Medicine and Biometrics, Bethesda, MD, U.S.A.

TLP28. Caracterización de un aislamiento colombiano de granulovirus aislado de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)

Juliana Gómez*, Gloria Barrera*, Laura Villamizar*

Introducción. *Tuta absoluta*, es una plaga invasiva devastadora que afecta plantas de tomate, llegando a provocar pérdidas hasta del 100%. El alto uso de plaguicidas químicos para su control, el riesgo de contaminación y la generación de resistencia hacen que sea necesario encontrar alternativas de control. Una herramienta interesante es el uso de virus entomopatógenos de la familia de los baculovirus, los cuales son específicos y no generan impactos al medio ambiente. A pesar de su alto potencial, su uso sobre larvas de *T. absoluta* ha sido poco estudiado. Se cuenta con un aislamiento colombiano de granulovirus (GV) el cual debe ser caracterizado para ser empleado como posible agente biocontrolador.

Objetivo general. Caracterizar morfológica, biológica y molecularmente el aislamiento de granulovirus (VG012).

Metodología. La caracterización morfológica se realizó mediante microscopía electrónica. La caracterización molecular se realizó mediante análisis REN comparando con otros aislamientos de granulovirus y determinando el tamaño del genoma. Adicionalmente se realizó el análisis filogenético para su clasificación utilizando los genes *gran*, *lef-8* y *lef-9*. Mediante bioensayos en laboratorio se determinaron las concentraciones letales y la productividad.

Resultados. Los gránulos de VG012 fueron de forma ovoide con un tamaño aproximado de 514 nm x 250 nm, con único virión en su interior. El análisis REN mostró el mismo patrón con respecto al GV de *Phthorimaea operculella* pero diferente comparado con el GV de *Tecia solanivora*, aunque se clasificaron en el mismo grupo monofilético. El tamaño de genoma estimado fue de 130 Kb. La concentración letal 50 del virus fue 2×10^4 y la 90 de $1,2 \times 10^7$ cuerpos de inclusión/mL, con una productividad de $2,5 \times 10^{10}$ CI/g de tejido.

Conclusiones. Considerando el alto potencial del uso de GV para el control de *T. absoluta*, el aislamiento VG012 caracterizado constituye una herramienta promisoriosa para el desarrollo de un bioplaguicida.

*Laboratorio de Control Biológico. Centro de Biotecnología y Bioindustria. Corpoica. Mosquera, Colombia.

TLP29. Excreción del VHE en cerdos de granjas antioqueñas

Cristian C. Gutiérrez V., Jorge E. Forero D.*, Julián E. Mejía V.*, Jaime Parra S.*, Albeiro López H.**

Introducción. La hepatitis E es una enfermedad producida por el Virus de la Hepatitis E (VHE), el cual es considerado el agente vírico con mayor producción de hepatitis agudas en humanos alrededor del mundo. Este virus puede llegar a producir brotes epidémicos o casos esporádicos de la enfermedad. Se han determinado 4 genotipos y 24 subtipos de VHE en mamíferos. La presencia de las mismas cepas virales tanto en humanos como en especies animales ha sugerido que este virus es zoonótico y que existen reservorios, siendo el cerdo uno de ellos.

Objetivo general. Debido a esto y por ser Antioquia el principal productor y consumidor de cerdos en Colombia se definió investigar la excreción en heces de este virus en porcinos de diferentes granjas del departamento.

Metodología. Se realizaron pruebas moleculares (RT-PCR), para determinar un segmento del ORF1 del genoma de VHE. Este procedimiento se realizó en heces de 300 cerdos de 30 piaras distribuidas en 10 municipios del departamento de Antioquia.

Resultados. Mediante esta técnica se logró determinar el marcador molecular ORF-1 de VHE en el 24.33% de las muestras (73 heces); además, en todas las granjas evaluadas, al menos una muestra fue positiva para VHE en heces.

Conclusiones. Esta evidencia demuestra que el VHE está presente en las granjas porcícolas evaluadas en este estudio, constituyéndose esta información en un llamado de alerta para los programas de bioseguridad en la producción porcícola de Antioquia. Además, debido a que este virus es considerado como zoonótico, se debe tener precaución con los diferentes efluentes de los sistemas de producción, y realizar más investigaciones en este campo.

*Grupo Biodiversidad y Genética Molecular BIOGEM, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Calle 59A No. 63-20, Medellín, Colombia.

TLP30. Evaluación clínica y molecular del Parvovirus Canino en Antioquia

Ana Molina, Manuela Echeverri*, Yeison Duque*, Julian Ruiz-Saenz*†*

Introducción. El Parvovirus Canino (CPV) fue reportado en Colombia en 1984 y desde entonces es considerado uno de los principales patógenos de poblaciones Caninas. Su alta tasa de mutación ha llevado a la emergencia de un nuevo subtipo (CPV-2c) hasta ahora reportado en al menos 15 países. La aparición y propagación de esta variante con diferentes propiedades epidemiológicas, antigénicas y patógenas, supone una amenaza sanitaria mundial. En Colombia se han reportado los subtipos CPV-2a y CPV-2b, sin embargo no se han realizado estudios recientes que permitan identificar los subtipos virales circulantes. Adicionalmente, el aumento de cuadros diarreicos hemorrágicos en individuos adultos y con esquema de vacunación completo, plantea la posibilidad de que la nueva variante 2c esté presente en el país.

Objetivo general. Caracterizar clínica y molecularmente los CPV en pacientes con diagnóstico presuntivo de parvovirus en Antioquia.

Metodología. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. Para la identificación de CPV se recolectaron muestras de materia fecal de pacientes caninos con diarrea hemorrágica y que se presentaron a consulta a diferentes Hospitales veterinarios. Se realizó extracción del DNA y PCR usando cebadores dirigidos contra la cápside viral.

Resultados. De la población analizadas el 54% de los casos fueron hembras y el 46% machos, se encontraron individuos de 18 razas diferentes, siendo más frecuente los individuos cruzados y los de las razas Schnauzer y French Poodle; el promedio de edad fue de 6,2 meses, encontrándose caninos infectados hasta de 3 años. Se encontraron individuos infectados aun con esquemas vacunales completos. Se reportan los principales subtipos de CPV predominantes.

Conclusiones. Se confirmó la presencia del CPV en los pacientes; contrario a lo reportado en la literatura, se encontró la presencia de CPV no solo en cachorros sino también en individuos adultos, y más importante aún, en pacientes con esquemas vacunales completos.

*Grupo de Investigación CENTAURO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. †Contacto: julianruizsaenz@gmail.com

TLP31. Filogeografía en el Virus Distemper Canino (*Morbillivirus*)

Yanina Panzera*, Nicolás Sarute*, Gregorio Iraola*, Lucía Carrau*,
Victoria Delgado*, Martín Hernández*, Rubén Pérez*

Introducción. El Virus Distemper Canino (CDV) produce una severa enfermedad que afecta a todos los carnívoros terrestres. La enfermedad se describió por primera vez en Sudamérica en 1748 y en 1905 fue aislado por Carré. En 1950 la introducción de vacunas atenuadas permitió el control de esta enfermedad, una de las más mortales en canes hasta ese momento. Recientemente se han registrado diversos brotes revelando el carácter re-emergente de la enfermedad: La naturaleza del genoma (RNA) de CDV hace que se encuentre sometido a altas frecuencias de mutación, diversificando las variantes virales circulantes. Estas variantes genéticas se agrupan en nueve linajes altamente divergentes de las cepas vacunales, por lo cual podrían eventualmente evadir la respuesta inmune generada por éstas. A pesar del conocimiento acerca de CDV existe poca evidencia de su historia evolutiva y su distribución espacio-temporal.

Objetivo general. Analizar el origen, distribución y filogeografía global de CDV.

Metodología. Para ello secuencias nucleotídicas del gen de la hemaglutinina de diferentes *Morbillivirus* se obtuvieron del Genbank y se sometieron a análisis bayesianos.

Resultados. La tasa evolutiva, el ancestro común más reciente (MRCA), y la dinámica espacio-temporal de CDV se determinó con los software MAFIT y FastML, y se visualizó con Google Earth. Nuestros análisis revelan que CDV presenta una elevada tasa de sustitución de 4.8×10^{-4} por sitio/año. El MRCA surgió en EEUU alrededor del 1800, y posteriormente se dispersó al resto del mundo a través de siete rutas de migración que incluyen África, Sudamérica, Groenlandia y diferentes regiones de Asia y Europa. Italia constituye uno de los principales centros de dispersión hacia otros países de Europa y hacia Sudamérica.

Conclusiones. Nuestros estudios ofrecen nueva información sobre el origen y dispersión de CDV y evidencian el efecto de las rutas de migración sobre la distribución espacio-temporal actual de esta relevante enfermedad.

*Grupo de investigación: Genética de Microorganismos. Institución: Sección Genética Evolutiva - Facultad de Ciencias - Universidad de la República. Montevideo - Uruguay.

TLP32. *In vitro* evaluation of U3-cap LTR of Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) transcriptional response undergoing hormonal challenges -a compared retrovirology perspective-

RA. Roa-Castellanos*, E. Gómez-Lucía*, A. Domenech*, RN. Añez*

Introduction. Hormone levels associated with different productive moments may affect retroviral infective capacity. Thus, chronic illnesses such those induced by Caprine Encephalitis Virus (CAEV) would be altered by host's reiterative physiological episodes.

General objective. This study had the objective to determine whether or not transcriptional changes would be observed after varying steroid hormones facing retroviral segments known as Long Terminal Repeats (LTRs).

Methodology. Hormone Response Elements (HRE) included along U3-Cap CAEV LTRs were replicated by means of 4 different plasmids (*SbB*, *GSbB*, *GNcB* y *GLB*) derived from CAEV wild type viruses. Transfection was performed in 293T cells. In turn, transfected cells were exposed to different concentrations of cortisol, progesterone (P4), estradiol (E2), and dehydroepiandrosterone (DHEA). Each plaque was evaluated at 24 and 48 hours. Colorimetric analysis using β -galactosidase reaction, ELISA assay, and cellular counting were statistically processed.

Results. Sequencing allowed detecting HRE and some other transcripts at U3-cap. Hormonal promoters and enhancers were discovered *in silico* for the first time in CAEV. Plasmids GLB and GNcB had the strongest basal response. SbB and GSbB, coming from a symptom-expressing goat, presented more discrete transcriptional responses considering other plasmid mean values and standard deviations (SD).

Conclusion. Variations were present related to hormonal concentration and incubation time. In addition, distinctive transcriptional responses related to particular hormones were observed according to LTR mutations. Comparisons with other Lentiviruses pathogeny were reviewed.

*Departamento de Sanidad Animal. Unidad de Retrovirus Animales. Universidad Complutense de Madrid.

TLP33. Interferon responses related to the transcriptional activity at U3-cap from LTR region of the Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV)

Ricardo Roa-Castellanos*, Ana Domenech*, Rafael Añez*,
Diego Castillo†, Brian Murphy†, Esperanza Gómez-Lucía*

Introduction. Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is a lentivirus that infects goats and sheep and causes mainly arthritis and encephalitis, but also chronic mastitis and interstitial pneumonia. As seen in other studies, the proviral LTR of retrovirus can be influenced by many different cellular factors.

General objective. Our aim was to analyze how type I interferons may modify transcriptional activity of the CAEV promoter U3 region located within the proviral LTR.

Methodology. Using Clustal Omega software, our research group has identified the interferon sequence response elements (ISRE) 5'- A/GNGAAANNGAAACT in the U3 region within the proviral LTR of four different CAEV field isolates. These ISRE sites have been shown in other cellular promoters to respond to interferon molecules. In order to evaluate whether or not this lentiviral ISRE site is transcriptionally functional, the U3 region of these four CAEV isolates was cloned into the the pBlueTOPO plasmid 5' to the β -galactosidase (β -gal) reporter gene. To study whether these ISRE were functional, the human 293T cell line was transfected using JetPrime with these recombinant reporter plasmids and incubated with tenfold dilutions of IFN α (A/D) (a hybrid that crosses the species barrier; 0.04-40 IU/mL). Experiments were performed in triplicate.

Results. The expression of the β -gal gene driven by the CAEV LTR was assessed colorimetrically by a standard biochemical assay (Sambrook, 2001). Exposure of 293T cells transfected with the CAEV- β -gal constructs to IFN α for 48 h resulted in twofold promoter activation in the range 0.4 IU/mL-4 IU/mL relative to transfected but untreated cells. The expression of β -gal severely dropped when cells were treated with 40 IU IFN/mL. Differences were observed between the plasmids.

Conclusion. These results demonstrate that the ISRE sites in the U3 region of the proviral LTR of CAEV field isolates are functional, although the complex role of the ISRE site in lentiviral pathogenesis remains incompletely understood.

*Unidad Retrovirus Animales, Departamento Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, UCM, 28040, Madrid. †Department of Pathology, Microbiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, UC-Davis, CA 95616, USA.

TLP34. Caracterización molecular de cepas del virus de la enfermedad de Gumboro en ponedoras comerciales

Andrés Santander*§||, Diana Álvarez‡§, Javier Jaimes†§, Arlen P. Gómez†§

Introducción. El Virus de la Enfermedad de Gumboro (IBDV) es de gran importancia económica para la industria avícola, debido a la alta tasa de mortalidad que puede generar por su afección al sistema inmunológico de las aves y por su presentación recurrente. En Colombia hay reportes del IBDV y se han detectado cepas de tipo muy virulento (vvIBDV). El IBDV pertenece a la familia *Birnaviridae*, género *Avibirnavirus* el cual posee dos serotipos (1 y 2); estas partículas virales poseen un genoma que consiste en una doble hebra de RNA. Dentro de las proteínas virales, la proteína VP2 es considerada la de mayor importancia antigénica por codificar para una región hipervariable, por lo que las mutaciones en este gen producen un gran número de cepas con lo cual se pueden diferenciar antigénicamente entre éstas.

Objetivo general. Evaluar la presencia del IBDV por medio de RT-PCR para la detección de la proteína VP2 en ponedoras comerciales de Fómeque (Cundinamarca).

Metodología. Se tomaron muestras de bolsa de Fabricio de 14 aves a las semanas 8 y 16 de edad en nueve granjas del municipio de Fómeque.

Resultados. En las nueve granjas analizadas se evidenciaron cambios macroscópicos en la bursa de Fabricio de las aves seleccionadas. Se obtuvo un total de 4 muestras positivas al virus (granja 1, 2 y 3 en la semana 8 y granja 6 en la semana 16).

Conclusiones. La detección del virus se puede relacionar con las lesiones observadas a la necropsia y los títulos de anticuerpos detectados en las granjas. La presencia del agente podría asociarse a la recirculación de cepas de campo y/o vacuales dentro de las producciones. Se realizará la secuenciación de las cepas detectadas para determinar su origen.

*Estudiante Programa de Maestría en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias. †Docente Investigador. Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias. ‡Investigadora. Facultad de Ciencias Agropecuarias. §Grupo de Investigación Epidemiología y Salud Pública. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. || Contacto: asantander00@unisalle.edu.co

TLP35. Rotavirus, como candidato a virus oncolítico, induce muerte celular por apoptosis en líneas tumorales U937 y Reh

Catalina Castaño*, Carlos Guerrero*, Orlando Acosta*

Introducción. El cáncer en la actualidad es una de las principales causas de muerte en el mundo, por lo cual se buscan nuevas alternativas de tratamiento. Se han propuesto virus que selectivamente infectan y se replican en células tumorales, provocando su destrucción. Trabajos previos de nuestro laboratorio seleccionaron 5 cepas de rotavirus que infectan y lisan varias líneas tumorales. Actualmente intentamos aclarar los mecanismos de muerte celular del rotavirus seleccionado previamente denominado WTEW.

Objetivo general. Determinar marcadores de muerte celular y producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) en líneas U937 y Reh infectadas con rotavirus WTEW.

Metodología. Las líneas U937 y Reh se infectaron y se evaluó el porcentaje de infección, la generación de viriones, la expresión de las proteínas celulares IKB, COX, NFkB, PPAR γ , HSP90 y PDI, la fragmentación y rupturas del DNA, la activación de caspasas, potencial de membrana mitocondrial y morfología celular por microscopía electrónica. Igualmente, se evaluó la generación de ERO mediante dihidroethidium.

Resultados. Encontramos que las líneas U937 y Reh se infectaron y generaron viriones. La expresión de las proteínas celulares IKB, COX, NFkB, PPAR γ , HSP90 y PDI aumentan con la infección y disminuyen cuando las células son tratadas con N-acetilcisteína. Los niveles de ERO aumentan en células infectadas y disminuyen en células pretratadas con N-acetilcisteína. Se encontraron marcadores de muerte celular asociados con apoptosis como aumento de la fragmentación, rupturas del DNA y actividad de caspasas.

Conclusiones. Rotavirus induce marcadores de muerte celular en líneas tumorales U937 y Reh, relacionados con apoptosis apoyando la idea que la cepa seleccionada WTEW puede ser candidato a virus oncolítico.

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

TLP36. Asociación de infección con virus Epstein-Barr y cáncer de cuello uterino en mujeres del departamento de Antioquia

Víctor Flórez*, Armando Baena*, Mónica Gaviria*, Astrid Bedoya*, Arianis Ramírez*, Luis J. Gómez†, Michael Hangesee‡, Mauricio Borrero§, René Pareja§, Fredy Rojas||, Carlos Córdoba§, Gloria Sánchez*

Introducción. Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo (VPH-AR) es la causa necesaria de cáncer cervicouterino (CaCu). El Virus Epstein-Barr (VEB), es considerado un carcinógeno para humanos y se ha detectado en biopsias de CaCu.

Objetivo general. Estimar el riesgo de cáncer cervical asociado a la infección por Virus Epstein-Barr.

Metodología. Se incluyeron 96 mujeres con diagnóstico de CaCu obtenido mediante biopsia dirigida por colposcopia y 186 mujeres con citología normal o LIE-BG, emparejadas con los casos por edad. Información sobre factores de riesgo se recogió mediante cuestionario. El VPH se detectó con la PCR GP5+/GP6+ e hibridación inversa con sondas específicas para 37 genotipos. El VEB se detectó mediante PCR de un segmento de la región W BamHI que contiene parte del antígeno nuclear 2 de VEB. Razones de Odds e intervalos de confianza, del riesgo de CaCu asociado a la infección con VPH y VEB, se estimaron por regresión logística. Se estimó el riesgo asociado a VEB, incluyendo solamente casos y controles VPH+.

Resultados. Se observó un mayor riesgo de CaCu asociado con el VPH (OR: 131, IC95%: 47.7-360) y EBV (OR: 6.1, IC95% 2.8-13.1). Restricción del análisis de regresión incluyendo casos y controles VPH+, mostró un incremento significativo del riesgo asociado a la infección con VEB (OR: 7.13, IC95%, 0.92-150). Las variables que tuvieron el mayor efecto sobre esta asociación fueron el número de parejas sexuales y edad de la primera relación sexual (OR: 3.45; IC95%: 1.29-9.2). Este incremento del riesgo de CaCu asociado a infección con VEB, se observó cuando además de las variables mencionadas se incluyó la infección de VPH en el modelo (OR: 3.37, IC95%: 0.72-15,64), este estimado no fue significativo.

Conclusiones. Se observó asociación entre la infección con el virus Epstein-Bar y CaCu, aun después de restringir el análisis entre casos y controles VPH+.

*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de medicina - Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Dinámica IPS, Medellín, Colombia. ‡Louisiana State University, Louisiana, USA. §San Vicente de Paul Fundación, Medellín, Colombia. ||Instituto de Cancerología Las Américas, Colombia.

TLP37. Identificación molecular del Virus Papiloma Humano (VPH) y virus respiratorios en muestras respiratorias de niños menores de 5 años en Bogotá, Colombia

Juan Sebastián Lozano*†, Yamile Celis*‡, Liliana Díaz*§, Sandra Gómez*‡, Ángela Díaz*‡, Hernán Vargas*†||

Introducción. Estudios previos han detectado al Virus del Papiloma Humano (VPH), en presencia de infección respiratoria aguda. No se conoce aún con certeza su impacto en poblaciones menores a mediano y largo plazo.

Objetivo general. Identificar VPH 16, 18, y 6/11 en muestras respiratorias de niños menores de cinco años y su posible asociación con alguno de los 13 virus respiratorios detectados por PCR múltiple en tiempo real.

Metodología. En este estudio observacional, se detectaron previamente los 7 virus de notificación obligatoria por medio de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Las muestras fueron analizadas por PCR convencional para la identificación del VPH genérico y específicos. En muestras positivas para el VPH genérico, se realizó por PCR múltiple en tiempo real desarrollada *in house*, la detección de 13 virus incluyendo los emergentes.

Resultados. Se encontró en 28/219 muestras (12,78%) positividad para cualquier tipo de VPH. En la detección específica para los tipos 6/11, 16 y 18, el 50% (14/28) fueron positivas para VPH 6/11, el restante correspondió a otros tipos no identificados. Se determinó VSR B en el 14,29% de las muestras (4/28), Adenovirus en el 10,71% (3/28). Se presentaron coinfecciones en el 7,14% (2/28) por VSR y Adenovirus y en una muestra (3,57%) coinfección de VSR A, Adenovirus y Parainfluenza 3. El 53,57% (15/28) fueron negativas para virus. Se evidenció asociación entre el VPH con virus tales como Adenovirus ($X^2= 6,09$ $p<0,014$). Así como la positividad de VPH con la presencia de infiltrados neumónicos, siendo esta una de las variables clínicas analizadas ($X^2= 10,91$ $p<0,001$). La técnica de IFI mostró en 123/219 (56,16%), positividad para alguno de los virus.

Conclusiones. La determinación de la positividad de VPH, presente en las muestras respiratorias en niños menores de cinco años, permite establecer a este virus como un factor de riesgo adicional en presencia de infección respiratoria aguda en esta población.

*Grupo de Laboratorio de Salud Pública. Secretaría de Salud de Bogotá-Colombia. † BSc. ‡MSc. §Ph.D. || Ph.D. Contacto: Hernan.vargas@yaboo.com

TLP38. Estudio de la integridad del gen E2 y la diversidad genómica del gen E6 de VPH16

María González*, Oscar Hau*, Diana Basulto*, Laura Conde*, Marilyn Puerto*, Guadalupe Ayora*

Introducción. El genoma de los Virus de Papiloma Humano (VPH) está formado por ADN circular de doble cadena; puede encontrarse episomal o integrado al genoma celular, la integración es un requisito indispensable para la transformación celular. La ruptura del gen E2 es un paso previo obligado a la integración. Los VPH se clasifican en tipos, subtipos y variantes, una variante es cuando existe una diferencia en el genoma menor al 2% en cepas de un mismo tipo.

Objetivo general. Identificar la integridad del gen E2 y las variantes del gen E6 de un grupo de muestras con VPH 16.

Metodología. Se estudiaron 50 muestras de cérvix uterino; 8 de mujeres sanas, 30 de mujeres con Lesiones Escamosas Intraepiteliales y 12 de cáncer invasor. La integridad de E2 se evaluó utilizando 3 juegos de iniciadores que amplifican segmentos sobrelapados de 457pb, 477pb, y 276pb. Para identificar las variantes se amplificó un segmento de E6 de 610 pb, el producto fue purificado y secuenciado. Los cromatogramas se compararon con la cepa prototipo NC_001526.

Resultados. 23(46%) muestras en gen completo de E2, en 27 (54%) al menos uno no amplificó. En todos los grupos estudiados se encontró ambas formas del gen E2. De las 50 muestras estudiadas a 35 se les asignó variante; en 13 el gen E2 estaba incompleto y en 22 integro. En las muestras con el gen E2 completo la variante E se encontró en el 77% y AA en el 23%. En el caso de las muestras con el gen E2 incompleto en el 70% se identificó variantes E y en el 30% AA.

Conclusiones. La ruptura del gen E2 de VPH 16 se presentó desde estadios iniciales de la infección, se encontró una distribución similar de las variantes en muestras con gen integro e incompleto.

*Universidad Autónoma de Yucatán, México.

TLP39. La infección con Virus del Papiloma Humano (VPH) afecta el pronóstico del cáncer orofaríngeo

Leidy Motta*, Adriana García*, Andrei Moreno†, Andrés Chala‡, Álvaro Herrera§

Introducción. El Cáncer Orofaríngeo (CECO) ocupa el sexto lugar de todos los tumores a nivel mundial, afecta principalmente a personas jóvenes y el 80% se asocia a la infección por el Virus de Papiloma Humano (VPH), debido principalmente a las prácticas sexuales y el 20% restante se asocia principalmente al consumo de cigarrillo y alcohol. En el país son escasos los trabajos en este tipo de tumor.

Objetivo general. Contribuir en la relación entre la infección por VPH y CECO y el pronóstico del paciente.

Metodología. El presente trabajo fue una revisión exhaustiva de la literatura, utilizando diferentes bases de datos, desde 1995 hasta la fecha, en donde se analizaron resultados de diferentes publicaciones, en relación al pronóstico de pacientes con CECO que presentan o no infección por VPH.

Resultados. El CECO, se asocia a personas de menor edad, y se presenta con mayor incidencia en hombres que en mujeres. El tipo viral más frecuente es el 16. Los pacientes con tumores positivos para VPH han mostrado una mejor respuesta a la quimioterapia y radioterapia que los tumores VPH negativos, adicionalmente han mostrado una mejor tasa de supervivencia de 3 a 5 años en un 75% comparada con un 25% para pacientes negativos para la infección. Sin embargo los mecanismos moleculares que conllevan a esta mejor respuesta aún no es clara.

Conclusiones. La infección por el VPH en tumores orofaríngeos afectan el pronóstico de los pacientes, sugiriendo que la detección viral en éste tipo de tumores es importante para un mejor manejo y decisión de estrategias terapéuticas, además que la vacunación contra el VPH puede ser útil también en población masculina, ya que luego de introducirla para prevenir el desarrollo de cáncer de cuello uterino se logró disminuir el número de casos.

*Centro de Investigaciones Odontológicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. †Cirugía de cabeza y cuello. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia. ‡Facultad de ciencias de la salud. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. §Centro médico Carlos Ardila Lülle. Bucaramanga, Colombia.

TLP40. Genotipos de HPV en lesiones precancerosas de cuello uterino

Soledad Valsangiacomo*, Victoria Goytiño*, Laura Urtarán*, Pedro Cladera*, Laura García*

Introducción. El Cáncer de Cuello Uterino (CCU) es producido por la acción persistente de las proteínas oncogénicas E6/E7 del Virus del Papiloma Humano (HPV). Los genotipos de HPV encontrados en los CCU uruguayos son el 16 (67.6%) y 18 (8.5%) seguidos por el 45 (6.8%) y el 33 (3.4%). Nos preguntamos si los genotipos de las lesiones eran compartidos con los del cáncer.

Objetivo general. Analizar los genotipos encontrados en las lesiones precancerosas de alto (H-SIL) y bajo (L-SIL) grado.

Metodología. Se analizó la presencia y tipo de HPV en muestras endocervicales de 54 pacientes con lesiones precancerosas de cuello uterino (38 H-SIL, 26 L-SIL). Se usó el kit comercial Papillocheck (Greiner). Las muestras con lesiones de alto grado en las cuales no se detectó HPV, se amplificaron con los primers genéricos MY09/MY11 y fueron secuenciadas para la determinación del genotipo.

Resultados. Se detectó la presencia de HPV en 29 (80%) muestras de H-SIL y 20 (71%) muestras L-SIL. Los genotipos encontrados para H-SIL fueron: 16(55%), 18(17%) y 31(17%). Sólo el 20% de los de genotipo 18 y 31 se presentaron como genotipo único, a diferencia del 53% de los de genotipo 16. Para las lesiones L-SIL los genotipos mas frecuentes fueron el 16(33%), el 18(11%) y el 31(11%). El 58% de las lesiones H-SIL presentaba un genotipo, mientras que el 19% correspondía a 2 y 3 genotipos concomitantes. La comparación con mujeres sin lesión de cuello uterino arroja una diferencia significativa en cuanto a la prevalencia de los genotipos. La amplificación de las muestras HSIL, negativas para HPV, reveló en 7 de ellas la presencia de HPV; 4 con genotipos únicos (26, 81, 71 y 52) y 3 que presentaban mas de una secuencia.

Conclusiones. El perfil de genotipos de las lesiones H-SIL es similar al encontrado en los cánceres de cuello y distante del hallado en pacientes sin lesiones.

*Laboratorio de Biología Molecular. Departamento de Patología Clínica. Centro Hospitalario Pereira Rossell. Administración de Servicios de Salud del Estado (ASSE). Montevideo, Uruguay.

TLP41. Evaluación de los Inmunoblots disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH-1: Western blot e inmunoensayos en línea

Esther Cristina Barros*, Mauricio Beltrán†

Introducción. Los Inmunoblots son el grupo de pruebas más utilizadas para el diagnóstico de la infección por VIH. Los inmunoblots incluyen los ensayos de Western blot, los cuales utilizan como antígenos las proteínas nativas del virus. En contraste, los inmunoensayos en línea son pruebas que tienen como antígenos péptidos sintéticos y proteínas recombinantes. En Colombia el Western blot es la prueba aprobada por la normatividad vigente, sin embargo los inmunoensayos en línea cada vez son más utilizados como alternativa diagnóstica.

Objetivo general. Evaluar el desempeño analítico de los resultados de diagnóstico de VIH obtenidos por Western blot y por Inmunoensayos en línea.

Metodología. Se utilizaron 255 muestras de suero caracterizadas: 58 muestras con anticuerpos detectables contra VIH y 197 muestras sin estos. Las muestras fueron procesadas con dos estuches comerciales de Western blot y uno de Inmunoensayo en línea de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes.

Resultados. De las 58 muestras con anticuerpos detectables contra VIH, 54 (93%) fueron detectadas como positivas por los tres estuches. De las 197 muestras sin anticuerpos detectables contra VIH 195 (99%) fueron negativas y 2 (1%) indeterminadas por inmunoensayo en línea, 129 (65%) fueron negativas y 68 (35%) indeterminadas por Western Blot estuche 1, y 54 (27%) fueron negativas y 143 (63%) indeterminadas por Western Blot estuche 2.

Conclusiones. Los inmunoensayos en línea demostraron una mayor resolución diagnóstica al producir un menor número de resultados indeterminados en comparación con el Western blot, especialmente cuando se practican sobre muestras positivas para VIH en las que no hay anticuerpos contra el virus. Los resultados de este estudio indican que los inmunoensayos en línea constituyen una alternativa diagnóstica para la infección por VIH en Colombia.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Grupo de Banco de Sangre, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP42. Diagnóstico y caracterización molecular de un fragmento del gen de la envoltura del virus de leucosis bovina mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en vacas lecheras de Pasto, Nariño

Bibiana Benavides*§, Carolina Ceriani†||, Sebastian Muñoz‡

Introducción. Debido a la amplia diseminación del Virus de Leucosis Bovina (VLB) en ganado de leche, se han desarrollado programas de control y erradicación basados en la detección de anticuerpos mediante la realización de pruebas serológicas indirectas. Los métodos virológicos directos basados en la detección del ADN del virus, permiten un diagnóstico directo de la infección, confiable en fases iniciales y en animales menores de 6 meses.

Objetivo general. Confirmar mediante la técnica de PCR los animales positivos de las fincas lecheras en el municipio de Pasto e identificar genotipos circulantes mediante secuenciación del fragmento *env*.

Metodología. Las muestras de los animales positivos se conservaron en tarjetas FTA para la posterior extracción del ADN. Para la técnica de PCR anidada se usaron forward primer *env*₅₀₉₉ y reverse primer *env*_{5521r} primers. Se realizó secuenciación directa del fragmento del gen *env* 444pb en un quipo ABI377 Genetic Analyzer. Se calcularon los porcentajes de similitud de secuencia de nucleótidos de los fragmentos alineados del fragmento del gen *env* con el programa CLUSTAL OMEGA.

Resultados. De los 31 animales positivos a la prueba de ELISA se confirmaron 27 positivos con la prueba de PCR. Los fragmentos amplificados se compraron en todos los casos con las secuencias publicadas en el GenBank, encontrándose en todos los casos una homología mayor al 96%.

Conclusiones. Como esta descrito en la literatura se confirma que la prueba de ELISA puede dar falsos positivos, siendo la determinación por *n*-PCR altamente específica. Los fragmentos secuenciados no difieren mayormente de los ya descritos, aunque permitiría agruparlos en diferentes *clusters* de acuerdo a su procedencia.

*Profesor Departamento de Salud Animal, Grupo de Investigación de Buiatría, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. †Profesor Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro, Tandil, Argentina. ‡Estudiante X semestre Medicina Veterinaria, Grupo de Investigación de Buiatría, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. §MSc. ||Biol. PhD.

TLP43. Variabilidad genética de los retrovirus endógenos humanos y su posible rol en Leucemia Linfoide Crónica (LLC)

Sabrina Fischer*, Gonzalo Moratorio*‡, Natalia Echeverría*, Pablo Oppezzo†, Juan Cristina*, Pilar Moreno*†

Introducción. El genoma humano contiene un importante número de retrovirus endógenos humanos (HERVs), es decir, remanentes genéticos de infecciones retrovirales ancestrales de la línea germinal producidas durante la evolución de los primates. Alrededor del 8% del genoma humano está compuesto por este tipo de secuencias retrovirales, y aunque la mayoría de ellos son disfuncionales debido a la acumulación de múltiples mutaciones sin sentido, algunos (por ejemplo los HERVs tipo K) permanecen activos y pueden tener una importante función en la célula. Los HERVs han sido asociados tanto a procesos celulares normales como a diferentes procesos patológicos (enfermedades neurológicas, autoinmunes y cáncer). En relación a los procesos hemato-oncogénicos se ha reportado la presencia de anticuerpos contra péptidos de HERV-K, así como la sobre-expresión de sus genes y la presencia de partículas retrovirales en células leucémicas primarias.

Objetivo general. De este trabajo es estudiar la variabilidad genética de los HERV-K y su posible implicancia en el desarrollo de una enfermedad hemato-oncológica como es la Leucemia Linfoide Crónica (LLC).

Metodología. Con este fin se realizó la puesta a punto de las RT-PCR para la amplificación de los genes de los HERVs-K así como también la puesta a punto de las Real Time PCRs para evaluar los niveles de expresión de los genes *np9*, *rec* y *gag*, tanto en muestras provenientes de pacientes con LLC como en muestras de donantes sanos.

Resultados. Mediante este abordaje se pudo determinar que existe una gran variabilidad de niveles de expresión del gen *np9* entre los pacientes con LLC analizados, no pudiéndose diferenciar entre progresores y no progresores. Asimismo, la actividad transcripcional de este gen fue 5 veces mayor en un 70% de los pacientes con LLC respecto a los sanos.

Conclusiones. Esta sobre-expresión podría estar implicada en la promoción de la enfermedad en estudio, cuya etiología aún se desconoce.

*Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. †Unidad de Proteínas Recombinantes, Instituto Pasteur, Montevideo, Uruguay. ‡Departamento de Virología, Instituto Pasteur, París, Francia.

TLP44. Genotipificación de cepas de rotavirus humanos en Panamá (2010-2013), después de la introducción de la vacuna Rotarix

Marlene Castillo*, Leyda Abrego*, Dalys Mojica*, Juan Castillo*, Juan Pascale*, Gabriel Parra†, Juan Arbiza†

Introducción. Rotavirus es el agente patógeno entérico más importante para los seres humanos y el grupo A es el más común causante de gastroenteritis severa en lactantes y niños menores de 5 años. Sus genotipos se definen por la glicoproteína VP7, que describe el tipo G, y la proteína proteasa-sensible VP4 que determina el tipo P. En un estudio realizado en Panamá, con muestras del 2002 al 2003, la distribución de genotipos de rotavirus humanos fue: 61% G1P [8], 7% G1P [6] y G3P [8], 3% G1P [4], 2% G2P [8], 1% G2P [4] y un 19% no tipificable. Para marzo del 2006, se introdujo la vacuna para rotavirus humano Rotarix® que contiene el genotipo G1P[8].

Objetivo general. El presente estudio tiene por objetivo la caracterización molecular de los genes VP7 y VP4 de las cepas de rotavirus humanos que circulan en Panamá después de la aplicación de esta vacuna.

Metodología. Se extrajo el ARN total de muestras positivas por ELISA para rotavirus de niños con diarrea aguda entre el 2010 y el 2013, y se aplicó la transcripción reversa y amplificación por PCR utilizando cebadores específicos de los genes VP7 y VP4 respectivamente con posterior secuenciación de ambos genes.

Resultados. En estas muestras las frecuencias de los genotipos detectados fueron las siguientes: 22% G1P [6], 16% G1P [4], 3.5 % G2P [4] y 2% G1P [8]. Siendo G1P [6] y G1P [4], los genotipos más frecuentes encontrados en Panamá después de la aplicación de la vacuna con una frecuencia muy baja de 7% y 3% respectivamente.

Conclusiones. De estos resultados se puede deducir que la vacuna aplicada fue eficaz ya que el genotipo G1P [8] disminuyó de 61% a sólo 2% de los genotipos circulantes en el país.

*Departamento de Investigación en Virología y Biotecnología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá, Panamá. †Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Ciudad de Montevideo, Uruguay.

TLP45. Activar PPAR γ inhibe la infección de rotavirus

Dory Gómez*, Natalia Muñoz*, Carlos Guerrero*, Orlando Acosta*

Introducción. Rotavirus es la principal causa de diarrea severa en niños menores de cinco años. Dos vacunas de rotavirus vivos atenuados (Rotarix™) y (RotaTeq™) se aplican actualmente y aunque han demostrado su eficacia, no evita la aparición de los síntomas y muchos niños permanecen sin vacunar. En investigaciones anteriores encontramos que algunos AINES, agonistas de PPAR y antioxidantes (NAC, ácido ascórbico), reducen la infección por rotavirus. Actualmente intentamos aclarar los mecanismos bioquímicos comunes de inhibición farmacológica.

Objetivo general. Evaluar la expresión de las proteínas PPAR γ y NF κ B en vellosidades intestinales de ratones adultos ICR, infectados con rotavirus (ECwt) y tratados con pioglitazona en modelo *in vivo* y en modelo *in vitro*.

Metodología. Los ratones o las vellosidades aisladas fueron infectados con rotavirus Ecwt, posteriormente se trataron o no con agonistas de PPAR γ (pioglitazona, rosiglitazona, tiazolidiona, DHA, HODE, ácido retinoico) y la infección o la expresión de proteínas celulares (PPAR γ , NF κ B, Cox-2, PDI, Hsc70) y ROS fueron analizadas.

Resultados. Los antígenos de rotavirus estructurales y no estructurales, las proteínas celulares (PPAR γ , NF κ B, PDI, Hsc70) y las ROS, tanto *in vivo* como *in vitro*, aumentaron con la infección de Ecwt y disminuyeron cuando los ratones o las vellosidades infectadas se trataron con agonistas de PPAR γ .

Conclusiones. La infección de rotavirus induce la expresión de factores celulares (ROS, NF κ B, COX-2, PDI, Hsc70 y PPAR γ) que benefician el proceso infeccioso o como respuesta celular ante la infección. Al activar PPAR γ se inhiben estos y probablemente otros factores no estudiados, disminuyendo número de viriones formados, sin afectar su formación.

*Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

TLP46. Efecto *in vitro* de probióticos sobre la presencia de la proteína NSP4 del rotavirus y su funcionalidad asociada al calcio intracelular

Nury Olaya*, Juan Ulloa*, María Gutiérrez*

Introducción. El rotavirus es uno de los principales agentes entero-patógenos virales asociados a la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) el cual tiene un alto impacto a nivel epidemiológico sobre todo en países en vía de desarrollo. Su importancia en patología esta incrementada por la presencia de la proteína NSP4; la cual potencializa el efecto de la diarrea por medio del desbalance de electrolitos, la liberación de calcio intracelular y la eliminación de iones de cloro llevando a una diarrea secretora severa con deshidratación. En la actualidad, no existen tratamientos contra EDA adicionales al manejo de la deshidratación del paciente, por tal motivo surge la idea de estudiar los probióticos como alternativa para el tratamiento y prevención de EDA.

Objetivo general. Determinar si especies de bacterias probióticas tienen algún efecto sobre la presencia y funcionalidad de la proteína NSP4 del rotavirus en células MA104.

Metodología. Se evaluaron 2 cepas de *Lactobacillus* y 2 cepas de *Bifidobacterium* las cuales fueron puestas en contacto con la línea celular MA104 y luego el Rotavirus, cepa RRV. La variación en cantidad de la proteína NSP4 y el aumento del calcio intracelular fue medido por citometría de flujo.

Resultados. Al igual que en el control donde solo estaban las célula infectadas por el rotavirus, al colocar las bacterias se observó un aumento en la producción de la proteína NSP4 y el calcio intracelular.

Conclusiones. El efecto antiviral de las bacterias probióticas parece no estar relacionado con la actividad de la proteína NSP4 en cuanto a su presencia ni funcionalidad asociada al calcio ante la infección de rotavirus a nivel *in vitro*.

*Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

TLP47. Detección de virus entéricos en agua para consumo humano asociados a brotes de enfermedad diarreica aguda y hepatitis A en Colombia, 2008 - 2013

Dioselina Peláez-Carvajal*, Johanna-A. Rodríguez*, Lucía Rocha- Hernández*,
Mario Ardila-Buitrago*, Jairo-A. Méndez*, Claudia-Marcela Sánchez†

Introducción. Los virus entéricos tienen dosis infecciosas bajas, resisten a factores medioambientales y algunos desinfectantes incrementando el riesgo en salud pública. Están asociados a hepatitis A y E, enfermedad diarreica aguda (EDA), enfermedad transmitida por alimentos (ETA), enfermedad respiratoria y meningitis. En Colombia el conocimiento sobre virus entéricos en agua para consumo es escaso pese al elevado impacto de enfermedades asociadas.

Objetivo general. Identificar virus entéricos en aguas para consumo humano, procesadas como apoyo en brotes de EDA, ETA y Hepatitis A 2008 - 2013.

Metodología. Las muestras fueron recolectadas en 52 municipios. 23,6% fueron aguas tratadas y 64,7% no tratadas. Los virus se concentraron por filtración y ultrafiltración tangencial. Rotavirus (RTV), enterovirus no-polio (ENP) y virus hepatitis A (HAV), fueron detectados por RT-PCR y adenovirus por PCR. Se cruzaron los resultados con el índice de riesgo de la calidad del agua (IRCA) para años y municipios en brote.

Resultados. 108/255 muestras fueron positivas para uno o más virus. En 2011 la positividad fue 65,8%; seguido de 51,7% en 2012, 40% en 2010, 30% en 2008, 12% en 2009 y 7,1% en 2013. La positividad para HAV, ENP y RTV fue de 50%, 46,3% y 42,6% respectivamente. No se detectaron poliovirus. El 58% de aguas no tratadas y 38% de las tratadas fueron positivas para algún agente viral. De estas, 14,7% con IRCA inferior a 5; 54% con IRCA entre 5-35% y 21,2% con IRCA entre 42 y 83,5%. En 2012 se notificaron 27 brotes de Hepatitis A y 23 a junio 30 de 2013, sin embargo, la positividad de HAV cayó desde 55% en 2012 a 26% en 2013.

Conclusiones. El origen hídrico de 36,73% de los brotes se confirmó por laboratorio. HAV se detectó en el 38,7% de los brotes entre 2008-2013. Un IRCA <5% no garantiza la calidad microbiológica del agua.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Grupo Factores de riesgo del ambiente, Dirección Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP48. La Proteína Disulfuro Isomerasa-PDI participa en mecanismos redox durante la entrada de Rotavirus a la célula

Hernán Rivera*, Carlos Guerrero*, Orlando Acosta*

Introducción. PDI es una enzima tiol-disulfuro oxidoreductasa que cataliza la formación y clivaje de puentes disulfuro entre residuos de cisteínas de las proteínas. PDI participa en el intercambio tiol-disulfuro durante la entrada de diversos virus (HIV-1, SV40, NDV, entre otros). En trabajos previos encontramos que en varios modelos celulares, la Infectividad de Rotavirus es reducida por moléculas que alteran el intercambio tiol-disulfuro y por anticuerpos contra PDI. Actualmente intentamos aclarar si PDI participa directa o indirectamente en los eventos reductores que requiere Rotavirus durante su proceso de entrada a la célula.

Objetivo general. Evaluar la interacción y asociación funcional entre PDI y TLPs de Rotavirus Humanos wt, Ecwt y RRV durante etapas tempranas de internalización del virus en un modelo de vellosidades intestinales de ratón adulto ICR.

Metodología. PDI soluble, células integras o fracciones enriquecidas de membrana citoplasmática se incubaron con rotavirus en presencia o ausencia de agentes que bloquean el ambiente redox (DTNB, Bacitracina, N-acetilcisteína y N-Etil-Maleimido) evaluando la interacción de PDI-rotavirus, PDI-proteínas virales aisladas o recombinantes y los cambios redox de las proteínas virales.

Resultados. Se evidenció interacción de PDI soluble y PDI de membrana con TLPs de rotavirus y con proteínas virales solubles (rVP5, rVP6 y VP7). La interacción disminuye al tratamiento con agentes que bloquean el intercambio tiol-disulfuro ó alteran el estado redox celular. Incubar rotavirus con membranas celulares genera cambios en la distribución de tioles en las proteínas estructurales del virus.

Conclusiones. PDI interacciona con rotavirus y participa en los mecanismos redox que Rotavirus requiere para entrar a la célula.

*Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

TLP49. Identificación de extractos proteicos de superficie celular de bacterias probióticas que presentan efecto antiviral sobre la infección *in vitro* por Rotavirus (RV)

Sandra Salas*, Carlos Guerrero†, Juan Ulloa*, María Gutiérrez*

Introducción. La enfermedad diarreica aguda (EDA) es considerada una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la población infantil menor de 5 años (Amador, J. J., 2008; Caceres, D. C., 2005). En algunos casos como alternativa terapéutica se utiliza la administración de probióticos, los cuales han contribuido con la reducción de la diarrea ya que se ha demostrado que son capaces de disminuir su severidad. (Grandy, G., 2010). (Botic, T., et al., 2007; Juntunen, M., et al., 2001). Si bien no se ha establecido el mecanismo de acción, la hipótesis sobre la que se desarrolló este proyecto fue que son las proteínas de superficie bacterianas las que logran inhibir el proceso de adherencia viral, impidiendo la infección celular.

Objetivo general. Determinar si los extractos proteicos de superficie celular de bacterias probióticas ejercen una actividad antiviral *in vitro* contra Rotavirus, sobre la línea celular MA104.

Metodología. A partir de dos cepas probióticas que habían presentado efecto antiviral se extrajeron las proteínas de superficie celular. Estas fueron caracterizadas mediante SDS page y una vez comprobado la no toxicidad de estos productos en el cultivo celular mediante MTT, se evaluó su efecto antiviral por Inmunocitoquímica.

Resultados. De cada baterías obtuvo un grupo de proteínas de pesos moleculares entre 30 y 100 KD. Estas fueron puestas en contacto con las células MA104 y después de un periodo de incubación, se agregó el Rotavirus cepa RRV y se encontró una reducción de la infección entre un 75% al 85% con respecto al control positivo.

Conclusiones. Las proteínas de superficie de las dos cepas de bacterias analizadas, tienen la capacidad de reducir la infección *in vitro* viral probablemente mediante el bloqueo y/o la competencia por los receptores celulares.

*Pontificia universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Grupo de enfermedades infecciosas, Bogotá, Colombia. †Universidad Nacional de Colombia.

TLP50. La infección cervical por Citomegalovirus Humano y Virus del Herpes Simple no se asocia al Aborto Espontáneo

María González*, José Canche*, Luis Saénz†, Iván Córdova†, Laura Conde*

Introducción. El Aborto Espontáneo (AE) es una complicación frecuente en pacientes obstétricas. Aproximadamente el 60% son de causas desconocidas. Se le ha relacionado con infecciones virales como el Virus del Herpes Simple (HSV) y el Citomegalovirus (HCMV) sin embargo existen controversias al respecto.

Objetivo general. Determinar si la infección cervical por HSV y CMV se asocia al aborto espontaneo.

Metodología. Se realizó un estudio de casos y controles. Los casos fueron pacientes con aborto espontáneo y los controles embarazadas con productos viables. Previo consentimiento informado se tomó una muestra de cérvix y se recabó información sociodemográfica e historia sexual y reproductiva de cada paciente.

La extracción de DNA fue utilizando un robot Magna Pure LC de Roche., para la determinación viral se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real con sondas Taqman. Los controles estándar utilizados fueron fragmentos clonados de la región de interés.

Resultados. Se incluyeron 230 casos y 284 controles. La prevalencia global de HSV fue de 3.5% y de HCMV 26.1%. Las prevalencias de HSV y HCMV en por grupo fueron las siguientes: casos, el 3.1% fue positivo a HSV y el 17.9% a HCMV; en el grupo control, el 31.7% fue positivo a HCMV y el 3.9% a HSV. La media de la carga viral de HSV y HCMV en los casos fue de 502 copias de DNA/10 000 cel y 297 copias de DNA/10 000 cel, respectivamente; en el grupo control la media de la carga fue 4,336 copias de DNA/10 000 cel y 1,232 copias de DNA/10 000 cel, respectivamente. De todas las variables analizadas solo la edad materna y el historial de AE tuvieron significancia.

Conclusiones. En la población estudiada, la detección de excreción viral del HSV y HCMV en el cérvix no mostraron ser factores de riesgo para el AE ($p > 0.05$).

*Laboratorio de Virología, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. †Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

TLP51. Análisis de resistencia a Ganciclovir en Citomegalovirus

Héctor Illán*, Daniel Cisterna*, María Freire*

Introducción. El Citomegalovirus (CMV) es causa importante de morbi-mortalidad en pacientes inmunocomprometidos y en neonatos con infección durante el periodo fetal.

La droga de elección para el tratamiento es el Ganciclovir (GCV), análogo de guanósina, cuya activación es por fosforilación de una quinasa viral codificada por el gen UL97. El uso prolongado de GCV se asocia a la aparición de mutaciones en 2 regiones del gen UL97, entre los codones 460 y 520, y la otra entre 590 al 607, siendo las mutaciones más encontradas en las posiciones 460, 594 y 595.

Objetivo general. Implementar un ensayo fenotípico para evaluar la sensibilidad del CMV al GCV y a su vez desarrollar un método molecular que permita asociar la resistencia con la aparición de mutaciones en el Gen UL97.

Metodología. Se realizaron los aislamientos a partir de muestras de sangre y orina. Para evaluar la resistencia fenotípicamente se desarrolló la técnica de inhibición de efecto citopático, determinándose la concentración inhibitoria al 50% (CI50%) donde los aislamientos cuyo valor sea mayor a 6 μ M de GCV son resistentes. Para el análisis genotípico se utilizó una Nested PCR cuyos productos son 2 fragmentos del gen UL97 donde se encuentran los sitios activos de la enzima viral, de 531 pb y 118 pb respectivamente. Luego se analizó por secuenciación estas dos regiones y se analizaron los sitios de mutación.

Resultados. Se hallaron dos casos que revelaban resistencia por ambas metodologías. Uno con una mutación muy característica en la posición 595, y en el otro caso una mutación en la posición 596.

Conclusiones. Este estudio demuestra la importancia de realizar rutinariamente estos perfiles de sensibilidad a GCV para el eficiente seguimiento y tratamiento de pacientes graves.

*Servicio de Neurovirosis, Virología, INEI, ANLIS- Malbrán, Argentina.

TLP52. Herpesvirus asociados a Síndrome de Guillain Barre

Héctor Illán*, Daniel Cisterna*, Cristina Lema*, Mariel Caparelli†, María Freire*

Introducción. Los virus de la familia *Herpesviridae* son algunos de los principales causantes de las enfermedades neurológicas, especialmente de aquellas definidas como Parálisis Aguda Fláccida, en el que se incluyen los casos por Síndrome de Guillain Barre. Hay reportes que señalan un 20% a 30% de estos casos podría deberse a infecciones por *Campylobacter jejuni* y una proporción similar a Herpes virus, a su vez ciertas posibles asociaciones de Mycoplasma Neumoniae y Herpes Simplex, sarampión o Rubeola.

Objetivo general. En este contexto nos planteamos el objetivo de conocer la asociación de los Herpesvirus con Síndrome de Guillain Barre en pacientes menores de 15 años.

Metodología. Para ello se estudiaron en un periodo de 8 años, entre los años 2004 y el 2011, un total de 333 muestras de Líquido Cefalorraquídeo (LCR) de pacientes incluidos dentro del Programa de Erradicación de la Poliomielitis. Se determinó la presencia de Herpes Simplex (HSV), Citomegalovirus (CMV), Varicela (VZV) y Epstein Barr (EBV) mediante la técnica de Nested-PCR, que amplifican la región de la DNA-polimerasa viral, específica para cada uno de los agentes virales.

Resultados. Del total de las muestras analizadas, 109 (32,7%) fueron positivos para todos los virus estudiados, de los cuales 37 fueron positivos para CMV, 34 positivos para HSV, 20 positivos para VZV y 18 positivos para EBV.

Conclusiones. La detección de Herpesvirus permitió una mejor aproximación diagnóstica en los casos de Guillain Barre ocurridos en nuestro país durante el periodo estudiado. El hallazgo de CMV, VZV y EBV coincide con los datos publicados por otros autores. A pesar de los avances en el diagnóstico de las patologías neurológicas, esta descrito que aproximadamente entre el 40% y el 60% permanecen sin diagnóstico etiológico.

*Servicio de Neurovirosis, Virología, INEI, ANLIS- Malbrán, Argentina. †Ministerio de Salud, Epidemiología.

TLP53. Vigilancia de Herpesvirus en pacientes con sospecha de encefalitis, Córdoba. Colombia

Vaneza Tique*†, María Cecilia Freire†, Eduardo Illan†, Jorge Miranda*, Salim Mattar*

Introducción. Los arbovirus, herpesvirus y enterovirus son agentes etiológicos de meningitis y encefalitis. Se estima que el 39% de las infecciones por estos virus producen síntomas neurológicos severos. Herpes Simplex 1 (HSV1) es el principal agente de las encefalitis y representa entre el 5%-35% de los casos. En Colombia se desconoce la epidemiología de los herpesvirus como agentes causales de enfermedades del sistema nervioso central.

Objetivo general. Establecer una vigilancia epidemiológica de las encefalitis por herpesvirus en los principales centros hospitalarios de Montería, Córdoba.

Metodología. Entre septiembre 2009 a diciembre de 2011 se realizó un estudio descriptivo de corte transversal de casos compatibles con encefalitis viral, en los tres centros hospitalarios de la ciudad. Se incluyeron 265 muestras de Líquido Cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con sospecha clínica de encefalitis. Se realizaron análisis citoquímico, microbiológico (Gram y cultivo) y detección por Nested-PCR multiplex utilizando 16 oligonucleótidos para Herpes simplex virus 1 y 2 (ADN polimerasa UL30), Epstein Barr virus (ADN polimerasa gp71), Citomegalovirus (ADN polimerasa UL54) y Varicella zoster virus (ADN polimerasa).

Resultados. El ADN viral de herpesvirus fue detectado en 57 (21.5%) muestras, con la siguiente distribución: 47 (17.7%) Herpes simplex virus 1 y 2; 7 (2.64%) Citomegalovirus; 4 (1.50%) Varicella zoster virus y 2 (0.75%) Epstein Barr virus. Se presentó coinfección en 3 pacientes; VZV-HSV (n= 1) y CMV-HSV (n= 2). Los tres parámetros del citoquímico (glucorraquia, proteinorraquia y pleocitosis) fueron anormales el 15.7% de los pacientes (9/57). El 25.5% (12/57) de los paciente tenían un diagnóstico de VIH. Se observaron secuelas en el 12.28% (7/57) y la mortalidad fue del 10.5% (6/57).

Conclusiones. Por primera vez en Córdoba se realizó una vigilancia epidemiológica de casos de encefalitis por herpesvirus. Los hallazgos contribuirán a la epidemiología de las encefalitis y al manejo clínico de los pacientes, no obstante, el estudio requiere completarse con la búsqueda de enterovirus y arbovirus relacionados con la carga de la enfermedad.

*Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Córdoba, Colombia. †Servicio de Neurovirosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración nacional de laboratorios e institutos de salud (ANLIS) "Dr. Carlos Malbrán" en la ciudad de Buenos Aires, Argentina. ‡Contacto: vtiquesalleg@yahoos.com

TLP54. Circulación de Metapneumovirus en Colombia, 2000 - 2012

Juliana Barbosa*, Angélica Rico-Turca*

Introducción. El Metapneumovirus humano (hMPV) es un virus RNA de la familia *Paramyxoviridae*, que fue reportado por primera vez por van den Hoogen en el año 2001. La evidencia acumulada desde su descubrimiento sugiere que hMPV es uno de los principales agentes etiológicos de infección respiratoria baja en niños, generando un espectro de manifestaciones clínicas similares a las producidas por virus respiratorios tales como el Sincitial Respiratorio (VSR).

Objetivo general. Determinar la circulación de Metapneumovirus humano en Colombia durante el 2000-2012.

Metodología. Se analizaron 1.200 muestras de hisopado y aspirado nasofaríngeo de niños y adultos con infección respiratoria aguda remitidas al Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud, durante los años 2000-2012. El ARN viral fue extraído utilizando QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) y sometido a amplificación por RT-PCR multiple para la detección de virus respiratorios diferentes a Influenza, entre estos el hMPV.

Resultados. Del total de muestras procesadas se identificaron 60 con infección por hMPV, la mayoría de las cuales fueron tomadas de menores de 5 años y en una menor proporción de mayores de 65 años. La mayoría de estos casos requirieron hospitalización. Los casos identificados con infección por hMPV procedían de Bogotá, Huila, Santander, Guaviare y Meta.

Conclusiones. Los casos de Infección Respiratoria Aguda por hMNV se presentaron en menores de 5 años y en adultos mayores. Una gran proporción de estos requirió manejo intrahospitalario. La inclusión de hMNV en la vigilancia de infecciones respiratorias en el país, permitiría disminuir el porcentaje de muestras que se quedan sin identificación del agente etiológico.

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

TLP55. Determinación de subtipos del virus sincitial respiratorio en Colombia

Juliana Barbosa*, Jairo Méndez*, Andrés Páez*

Introducción. El Virus Sincitial Respiratorio (VSR) es un pneumovirus de la familia *Paramyxoviridae*, que causa enfermedad severa del tracto respiratorio inferior en los primeros años de vida, siendo responsable de congestión en hospitales. Se han identificado dos subtipos: VSR-A y VSR-B, mediante el uso de anticuerpos monoclonales y técnicas moleculares.

Objetivo general. Caracterizar la circulación de los subtipos A y B del VSR, en muestras para vigilancia de infección respiratoria en Colombia, durante el período 2000 a 2013.

Metodología. Se analizaron 1200 muestras del tracto respiratorio procedentes de diferentes departamentos de Colombia y remitidas al Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud. El ARN viral fue extraído utilizando QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) y sometido a amplificación por RT-PCR múltiple para la detección de virus respiratorios diferentes a Influenza, entre estos el VSR tipo A y B.

Resultados. De las 1.200 muestras analizadas, 870 fueron positivas para virus, y 432 (36%) positivas para VSR. De estas 322 (74%) fueron VSR-A y 110 (25%) VSR-B. La frecuencia del VSR en la totalidad de la muestra analizada fue del 36%, ocurriendo mayor circulación en el primer periodo de lluvias entre marzo y junio. Se detectaron 5 coinfecciones VSR-A – VSR-B. El subtipo A predominó sobre el subtipo B en periodos de dos años, seguido por periodos de un año de predominio del subtipo B.

Conclusiones. La frecuencia del VSR para el periodo en estudio fue del 36% de las muestras analizadas. Se caracterizó el patrón de circulación de los subtipos de VSR durante el periodo analizado. Es preciso realizar estudios con poblaciones más grandes, con el fin de determinar si existen diferencias significativas en la severidad de la infección, edad de los pacientes y distribución geográfica, asociadas a los subtipos VRS-A y VRS-B.

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

TLP56. Evaluación de la seroprevalencia y viremia de dengue en una muestra de voluntarios asintomáticos de un municipio endémico de Colombia

Carolina Coronel-Ruiz*‡, Shirly Parra*, María Castilla*,
Myriam Arevalo†‡, Sócrates Herrera†‡, Jaime E. Castellanos*‡

Introducción. El dengue se caracteriza por presentarse con un amplio espectro de manifestaciones clínicas. El diagnóstico y notificación de los casos de dengue se realiza a los individuos que asisten a las instituciones de salud. Los casos mal diagnosticados y las infecciones asintomáticas no se identifican, por lo que no se tienen en cuenta en el cálculo de la incidencia y seroprevalencia de la enfermedad.

Objetivo general. Determinar la prevalencia de anticuerpos IgM e IgG, antígeno viral NS1 y RNA de virus dengue en una muestra de voluntarios asintomáticos de un municipio endémico de Colombia.

Metodología. Se incluyeron 55 individuos asintomáticos del grupo indígena Woonan, residentes en Villanueva (Quibdó), que aceptaron participar en el estudio. Se tomaron muestras de sangre y se procesaron para realizar el diagnóstico de dengue por serología (detección anticuerpos IgM, IgG Indirecta, IgG Captura), detección de la proteína viral NS1, detección de RNA del virus, e identificación del serotipo por RT-PCR.

Resultados. El porcentaje de muestras positivas fue: IgM (23.6%), IgG indirecta (47.3%), IgG captura (10.9%). En ninguna muestra se detectó el antígeno NS1. El 49.1% de las muestras resultaron positivas por RT-PCR, en las cuales se identificó el serotipo: DENV-2 (42.3%), DENV-3 (7.7%), y en la mitad de estos individuos se detectó co-infección: DENV-1/DENV-2 (11.5%), DENV-3/DENV-4 (30.7%), DENV-1/DENV-3/DENV-4 (3.8%), DENV-2/DENV-3/DENV-4 (3.8%). El análisis de las pruebas simultáneas, permitió establecer el diagnóstico y clasificar las infecciones. El 23.6% de los individuos no tenían antecedente de infección por dengue, el 18.2% tenía historia de infección previa y el 58.2% se encontraban infectados o cursaron la infección recientemente.

Conclusiones. Este es el primer estudio en Colombia en el que se evalúa la seroprevalencia de dengue e identifica infecciones en una población asintomática. La detección de individuos asintomáticos en fase de viremia, lanzan una alerta sobre su participación en la transmisión de la enfermedad.

*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá - Colombia. †Centro de Investigación Científica Caucesco, Cali - Colombia. ‡Red de investigación Multidisciplinaria para la Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores - Colciencias.

TLP57. Análisis clínico, paraclínico y tipificación de las neurovirosis pediátricas por enterovirus en El Centro Hospitalario Pereira Rossell

Laura García*, Laura Urtarán*, Pedro Cladera*

Introducción. Los enterovirus no polio pertenecen a la Familia *Picornaviridae* y se clasifican en Coxsackievirus del grupo A y B, Echovirus y Enterovirus de diferente numeración. Son causantes de cuadros asintomáticos (90%) y sintomáticos de variada presentación clínica. Su transmisión es fecal-oral y se encuentran ampliamente distribuidos. Afectan individuos de todas las edades pero sus consecuencias son más evidentes en lactantes y niños pequeños. El cuadro clínico desarrollado depende de la edad y del estado inmunitario. Realizamos la búsqueda de estos agentes en el estudio de las neurovirosis.

Objetivo general. Analizar el motivo de consulta, el citoquímico y los genotipos de Enterovirus presentes en LCR.

Metodología. Se analizaron 921 LCR mediante RT-PCR. La tipificación de los Enterovirus se realizó mediante el cultivo en células RD, RT-PCR del gen VP1 y secuenciación de los productos amplificados. Se utilizó la herramienta "Enterovirus Genotyping Tool *Version 0.1*" desarrollada por el NIPHE de Países Bajos. El estudio citoquímico fue realizado en la Sección Emergencia del Departamento.

Resultados. El análisis de los casos indicó que la edad de presentación más frecuente fue menores de 1 año. El motivo de consulta varió según la edad de los pacientes, siendo más asintomático para los lactantes. La fiebre sin foco fue el principal motivo de consulta. La estacionalidad para el período estudiado 2010-2013 se mantuvo en los meses de Diciembre a Marzo. Se observó un aumento de los casos en Enero-Marzo de 2012, previo al aumento de casos de Enfermedad Mano-Pie-Boca observados en la comunidad en los últimos meses del año 2012. El citoquímico mostró ninguna o pocas alteraciones. Se detectaron cepas de CoxsackieB5(4), Echovirus18(3), Echovirus13(2), CoxsackieB1(2), Echovirus11(1), Echovirus6(1), Enterovirus inclasificable(1).

Conclusiones. Los niños menores de un año de la población estudiada toman contacto tempranamente con cepas de Enterovirus que provocan en su mayoría cuadros leves a moderados que se resuelven sin secuelas. No hemos detectado brotes de alguna cepa específica en los años analizados.

*Laboratorio de Biología Molecular. Departamento de Patología Clínica. Centro Hospitalario Pereira Rossell. Administración de Servicios de Salud del Estado (ASSE). Montevideo, Uruguay.

TLP58. Seroprevalencia del Virus de la Hepatitis E en donantes de sangre del municipio de Yarumal, Antioquia

Carolina Mantilla*, Mónica Toro*, Julio Rendón*, Juan-Camilo Olarte†, W. Alfredo Ríos*, Fabián Cortés-Mancera*‡, María-Cristina Navas*

Introducción. El Virus de la Hepatitis E (VHE) es un virus emergente de importancia global, de transmisión vía fecal-oral. Estudios realizados en Latinoamérica confirman la circulación del VHE en la región, principalmente del genotipo 3. En Medellín se han realizado dos estudios en pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis viral en los que se demostraron casos de infección por el VHE.

Objetivo general. Describir la frecuencia de anticuerpos tipo IgG e IgM anti-VHE en donantes de sangre del municipio de Yarumal, departamento de Antioquia.

Metodología. Se recolectaron muestras de suero de donantes de sangre del municipio de Yarumal en Antioquia durante el segundo semestre de 2012; la actividad económica de este municipio deriva de la ganadería, agricultura y minería, en particular ganadería vacuna y porcina. Las muestras de suero se evaluaron por duplicado para la presencia de anticuerpos tipo IgG e IgM anti-VHE utilizando el estuche comercial de ELISA (DIA.PRO, Milán, Italia).

Resultados. Un total de 50 muestras de suero fueron analizadas, de las cuales 74% corresponden a población femenina y 26% a población masculina, con un promedio de edad de 33.4 años. De estas, 38% presentaron anticuerpos tipo IgG anti-VHE positivos y 0% anticuerpos tipo IgM anti-VHE.

Conclusiones. La seroprevalencia observada en esta población (38%) supera a la observada en pacientes mayores de 15 años con diagnóstico de hepatitis no A no B en municipios de Antioquia (14,7%). Este hallazgo puede explicarse por los factores de riesgo de la población rural como no acceso al agua potable y contacto con población porcina. Este estudio aporta nueva evidencia de la infección por el VHE en población colombiana.

*Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. †Banco de Sangre, Cruz Roja, Seccional Antioquia. Medellín, Colombia. ‡Grupo de Investigación e Innovación Biomédica GFB, Instituto Tecnológico Metropolitano. Medellín, Colombia.

TLP59. Detección del virus de las paperas como agente etiológico de la parotiditis en Colombia 2009-2012

Mayerly Pardo*, Jairo Méndez*

Introducción. La parotiditis aguda es causada por el virus de las paperas género *Rubulavirus*, aunque existen otros agentes virales causantes como los respiratorios, enterovirus, citomegalovirus, virus de la inmunodeficiencia humana y Epstein-Barr. La vacunación ha reducido la incidencia de parotiditis en el mundo. Sin embargo los brotes han reaparecido y su incidencia está en aumento. Actualmente en Colombia la parotiditis es diagnosticada por signos clínicos exclusivamente sin confirmación por laboratorio.

Objetivo general. Determinar por laboratorio la presencia del virus de las paperas, como causa de brotes de parotiditis en Colombia.

Metodología. El estudio incluyó 261 pacientes y 549 muestras de brotes en Colombia ocurridos entre abril de 2009 y junio de 2012. Se analizaron 234 sueros, 183 hisopados y 132 orinas. La confirmación se realizó por detección de inmunoglobulina M específica en suero, y detección del virus por RT-PCR y secuenciación.

Resultados. La positividad fue del 39% con 102 casos, siendo mayor en edades de 16 y 20 años, seguido por el grupo de 10 a 15 años y finalmente por el grupo de 20 y 25 años. La positividad fue significativamente mayor en hombres.

Conclusiones. Este estudio es el primero en Colombia que confirma el virus de las paperas por laboratorio lo que constituye un importante avance a futuro en su vigilancia epidemiológica y medición de impacto de la vacuna. La detección de anticuerpos específicos, y de virus puede ser afectada por factores de la muestra clínica o la condición inmunológica del paciente, por lo que deben ser analizados suero, orina e hisopado simultáneamente, aunque en orina se obtiene menor positividad. La positividad de 39% para el virus de las paperas encontrada en el presente estudio indica que se debe establecer el diagnóstico diferencial para la parotiditis con el fin de detectar otros agentes infecciosos causantes.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP60. Detección de poliovirus vacunal en menores de cinco años. Colombia 2009-2102

Lucía Rocha- Hernández*, Pilar Tavera-Rodríguez*, Dioselina Peláez-Carvajal*

Introducción. Cercana la erradicación del poliovirus salvaje algunos indicadores de vigilancia de Parálisis Flácidas Agudas (PFA) en Colombia desde 2009, están debajo de lo establecido por OPS/OMS. Adicionalmente la detección de poliovirus vacunal ha sido baja en los casos de PFA notificados al sistema de vigilancia (SIVIGILA), lo cual no es consistente en un país donde se vacuna virus vivo atenuado.

Objetivo general. Determinar la tasa de circulación de poliovirus en muestras fecales de menores de cinco años entre 2009 y 2012.

Metodología. Se seleccionaron a conveniencia 100 muestras recibidas para evaluación del diagnóstico de rotavirus. Se inocularon en células RD y L20B siguiendo protocolos establecidos. La identificación viral se realizó por qRT-PCR. Se calculó límite de detección inoculando diluciones de poliovirus vacunal de referencia de 1, 31.6, 56 y 100 TCID₅₀ y se probó la reproducibilidad de resultados previamente conocidos en 18 muestras.

Resultados. Se recuperaron enterovirus en 16% de las muestras. 12% correspondió a poliovirus Sabin-like y 4% a Enterovirus no-polio. No se detectaron poliovirus salvajes ni cepas derivadas de vacuna. El límite de detección fue 1 TCID₅₀. El ensayo de reproducibilidad fue 100% concordante.

Conclusiones. La recuperación de poliovirus Sabin-like en menores de 5 años fue 12%, superando las tasas de aislamiento de casos en toda edad notificados al SIVIGILA 2009-2012. El 81,25% de los aislamientos se obtuvo en menores de 12 meses. El estudio demostró que la circulación de poliovirus vacunal Sabin-like es más alta en población expuesta a la vacuna VOP ya sea como receptor directo o indirecto. El laboratorio de polio/EV del INS cuenta con técnicas diagnósticas lo suficientemente sensibles y específicas para realizar una efectiva vigilancia por laboratorio, que hasta el presente demuestra la no circulación de poliovirus salvaje o cepas neurovirulentas derivadas de vacuna (VDPV) en Colombia.

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

TLP61. Situación de la vigilancia por laboratorio de las parálisis flácidas agudas en Colombia, 2009-2013

Lucía Rocha-Hernández*, Pilar Tavera*, Jairo Méndez*, Consuelo Pinzón†, Dioselina Peláez-Carvajal*

Introducción. En 1988 la Organización Mundial de la Salud lanzó la iniciativa para la erradicación del poliovirus salvaje sobre la estrategia de mantener coberturas de vacunación con Vacuna Oral de Polio (VOP) superiores a 95% y asegurar un sistema de vigilancia epidemiológica y por laboratorio de Parálisis Flácidas Agudas (PFA) en menores de 15 años, garantizando oportunidad en la investigación de casos y control de brotes.

Objetivo general. Describir resultados de la vigilancia por laboratorio de PFA notificadas al Sistema Nacional de Vigilancia (SIVIGILA) en Colombia, 2009-2013.

Metodología. Se procesaron muestras fecales de casos de PFA recibidas para diagnóstico de polio. El aislamiento viral se realizó por inoculación de suspensiones fecales en células RD y L20B. La identificación viral se realizó por qRT-PCR, utilizando primers específicos siguiendo protocolos establecidos. Se correlacionaron los resultados con la información de la ficha de notificación de evento.

Resultados. En 845 muestras se detectaron 64 (7,57%) enterovirus no-polio (ENP) y 7 (0,82%) poliovirus, entre estos, 1 caso de polio asociado a VOP- (PV-3 Sabin-like), y otro derivado de vacuna (iVDPV-2) en inmunocomprometido. Las muestras adecuadas en cantidad y oportunidad alcanzaron el 81%, la oportunidad del envío de la muestra alcanzó el 78% y la calidad del dato el 73%.

Conclusiones. La tasa de aislamientos virales de ENP y de virus vacunal es baja, pese a las deficiencias sanitarias existentes en Colombia y a la aplicación de VOP que pudieran mantener alta circulación de ENP y poliovirus Sabin-like. A puertas de la certificación mundial de la erradicación del poliovirus salvaje, Colombia debe asegurar la calidad de la vigilancia del evento, eliminando el comportamiento epidemiológico silencioso, mejorando la calidad del dato y siendo estrictos en la definición e investigación oportuna de casos de PFA para garantizar sensibilidad del laboratorio en la identificación de cepas salvajes y vacunales.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Real Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Grupo Inmunoprevenibles, Dirección Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP62. Confirmación de un caso de re-infección por virus de sarampión, Bogotá 2013

Pilar Andrea Tavera R.*, José Orlando Castillo P.†

Introducción. El sarampión es una enfermedad en eliminación en América. En Colombia no existe circulación endémica desde 2002, y los últimos casos confirmados fueron importados en 2011 y 2012. Cada caso sospechoso que se notifica al sistema nacional de vigilancia debe ser diagnosticado por laboratorio e investigado epidemiológicamente.

Objetivo general. Describir un caso de reinfección por virus de sarampión, detectado en Bogotá en junio 2013 en una mujer procedente de Alemania. Describir las técnicas diagnósticas utilizadas y la investigación de campo. Analizar su significado epidemiológico e implicaciones en salud pública.

Metodología. El diagnóstico por laboratorio consistió en la detección del virus por RT-PCR en tiempo real y de punto final, y detección de anticuerpos IgM e IgG anti-sarampión por ELISA. La investigación epidemiológica fue dirigida según lo establecido en los protocolos de vigilancia.

Resultados. Datos Clínicos: Mujer de 57 años con brote papular rojizo en cuello, conjuntivitis, adenopatías, sin fiebre. Antecedentes epidemiológicos: estuvo en España y Alemania, allí tuvo contacto cercano con nietos enfermos de sarampión. Refería haber sufrido la enfermedad en la infancia. Diagnóstico: IgM anti-sarampión negativa y aumento significativo de IgG en sueros pareados (de 3696.9 a 22836.1 mUI/mL). Amplificación por RT-PCR y secuenciación de un fragmento del genoma de virus de sarampión a partir de muestras de orina e hisopado faríngeo. La investigación de campo y el seguimiento de contactos no detectaron casos adicionales.

Conclusiones. Los resultados obtenidos y los antecedentes epidemiológicos permitieron confirmar infección por sarampión importado. La edad del paciente permite inferir que nunca fue vacunada. La presencia de anticuerpos IgG al día siguiente al inicio de erupción indica exposición previa al virus. Este caso es el primero de reinfección por sarampión documentado en Colombia. Aunque no se logró determinar el genotipo, se reafirma la interrupción de transmisión endémica del virus de sarampión en el país.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Grupo de Inmunoprevenibles, Dirección de Vigilancia y Análisis de Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP63. Detección de virus de rubéola vacunal en una paciente con enfermedad febril eruptiva sin aplicación de vacuna reciente

Pilar Andrea Tavera R.*, José Orlando Castillo P.†, Jairo Andrés Méndez Rico*

Introducción. La rubeola es una enfermedad febril eruptiva que se encuentra en eliminación en América. Por lo anterior en Colombia y el resto de países de la región se hace vigilancia activa e investigación minuciosa de cada caso sospechoso notificado. En la semana epidemiológica 11 de 2012 se notificó un caso de rubeola con IgM positiva, aumento significativo de títulos de IgG y baja avidéz de la IgG antirubeola.

Objetivo general. Realizar detección molecular y tipificación genética del virus de rubéola a partir de muestras biológicas de un caso confirmado en 2012 por pruebas serológicas.

Metodología. Se usaron protocolos modificados para la extracción y amplificación por RT-PCR del ARN viral a partir de hisopado nasofaríngeo. Se determinó el genotipo del virus detectado mediante secuenciación y análisis bioinformáticos siguiendo el protocolos internacionales. Se correlacionaron los resultados con la información clínica y epidemiológica.

Resultados. Se detectó virus de rubéola vacunal (cepa Wistar RA27) en una paciente profesional en enfermería y sin antecedente reciente de vacunación. Teniendo en cuenta que realizaba vacunación al momento de inicio de síntomas y que no existe antecedente de accidente ocupacional, se concluye que ocurrió infección por aerosol con virus vacunal.

Conclusiones. Este caso de rubéola se clasifica como asociado a la vacuna ya que la investigación epidemiológica descartó cualquier otra fuente de infección, y el genotipo detectado confirmó rubéola vacunal. El caso reportado en este estudio es el primero de infección con virus de rubéola vacunal por vía diferente a la inyección. Durante 2012 y hasta septiembre de 2013 no se ha detectado la circulación de rubeola salvaje en Colombia, lo cual constituye un indicador importante para el logro de la meta de eliminación.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Grupo de Inmunoprevenibles, Dirección de Vigilancia y Análisis de Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP64. Epidemiología molecular del virus dengue tipo 4 en Colombia, 1982 - 2013

José A. Usme-Ciro*†‡, Jairo A. Méndez*, Cristina Domingo§||, Lissethe C. Pardo*, Antonio Tenorio§, Juan C. Gallego-Gómez†‡

Introducción. Aunque el Virus Dengue (DENV) circuló en Colombia de manera endémica durante la primera mitad del siglo XX, las campañas de erradicación del mosquito vector, *Aedes aegypti*, lograron detener temporalmente su transmisión hasta principios de los años 70's, cuando re-emerge y paulatinamente comienzan a circular los cuatro serotipos. Actualmente, en Colombia no existen estudios sobre la diversidad genética de cepas de DENV-4 y se desconoce su relación filogenética y espacio-temporal en el contexto global.

Objetivo general. Reconstruir la historia de circulación de DENV-4 en Colombia en los últimos 32 años e investigar su relación filogenética con cepas que circulan a nivel mundial.

Metodología. Se seleccionaron 20 aislados de DENV-4 provenientes de las diferentes regiones del país como parte de la vigilancia del dengue realizada por el Instituto Nacional de Salud entre 1982 y 2013. La región intergénica *E/NS1* fue amplificada y secuenciada utilizando condiciones previamente reportadas. Las secuencias fueron alineadas mediante ClustalX2.1, el modelo de sustitución nucleotídica calculado mediante jmodeltest2 y filogenias reconstruidas por Neighbor-Joining y Maximum Likelihood en Mega5.2.2.

Resultados. El total de aislados de DENV-4 incluidos en el estudio corresponden al genotipo II, no forman un grupo monofilético y algunos de ellos son filogenéticamente distantes entre sí, aunque estrechamente relacionados a virus de países vecinos, lo cual sugiere la ocurrencia de múltiples re-introducciones. Se observó una baja variabilidad genética en la región genómica estudiada, con múltiples cepas de diferentes países presentando secuencias idénticas.

Conclusiones. En Colombia, el genotipo II de DENV-4 ha circulado de forma endémica desde 1982, causando un menor número de casos de la enfermedad al compararse con los demás serotipos. Teniendo en cuenta el incremento en el número de casos graves y fatales por infección con DENV-4 en el último año, es necesario investigar la existencia de determinantes de virulencia en este serotipo.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. †Unidad de Vectores Virales y Terapia Génica, Grupo de Neurociencias, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, A.A. 1226 Medellín - Colombia. ‡Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia. §Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Virales Importadas, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, 28220 Madrid - España. || Robert Koch Institute, Nordtufer 20, Berlin 13353 - Alemania.

TLP65. Impacto potencial de la variabilidad macroclimática sobre la epidemiología del dengue en el departamento de Sucre, Colombia, 2009-2012

Willmer Willamil-Gómez*, Alfonso J. Rodríguez-Morales*,
Nury Herrera*, Marcos Quino-Copa*, Hirwin Vargas-Guillen*

Introducción. El cambio climático y la variabilidad climática son fenómenos que están influenciando diferentes enfermedades virales. Muchos trabajos se han realizado en enfermedades virales transmitidas por vectores como el dengue, sin embargo en muchas zonas de Colombia aún no se han llevado a cabo evaluaciones del impacto potencial del clima en su epidemiología, tal es el caso del departamento de Sucre.

Objetivo general. Evaluar el impacto potencial de la variabilidad macroclimática través del indicador ONI (Oceanic Niño Index-NOAA), en la epidemiología del dengue en el departamento de Sucre, Colombia, durante 2009-2012.

Metodología. Se diseñó un estudio ecológico en el cual se tomaron los datos de vigilancia epidemiológica del dengue (calculando las tasas con poblaciones oficiales DANE) como variable dependiente y se incorporó en un modelo de regresión no-lineal de Poisson los valores del ONI. Nivel de confianza de 95%, analizándolo con Stata 11.0.

Resultados. Durante el período se reportaron 6.968 casos de dengue, para tasas que oscilaron entre 1,11 a 7,97 casos/100.000 habitantes/semana epidemiológica (oscilando de 8,35 a 32,26 por mes). Durante el mismo período el ONI varió de -1,50 (La Niña) a +1,60 (El Niño) SST. Al correr el modelo se encontró asociación significativa entre el ONI y la tasa de positividad para dengue (pseudor²=0,0218; p=0,009; LR χ^2 =6,83, ONI+1year-lagged) mostrando que en la medida que se expresa el fenómeno climático El Niño se encuentran mayores tasas de incidencia de dengue en el departamento de Sucre.

Conclusiones. Aunque estos resultados son preliminares y la magnitud de la asociación no es alta, muestra asociación significativa que lleva a pensar en la necesidad de evaluar en detalle en otros tipos de estudios el impacto y grado de influencia que tienen no solo variables macroclimáticas sino también microclimáticas en la epidemiología de esta importante enfermedad viral en Sucre y posiblemente en otras regiones del país, aún no evaluadas.

*Hospital Universitario de Sincelajo, Sincelajo, Sucre, Colombia. Grupo de Investigación SIDA y Otras Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia. Programa ETV, Secretaría de Salud Sucre, Sincelajo, Sucre, Colombia.

TLP66. Construcción y expresión de un vector lentiviral con el gen HBX del virus de la hepatitis B subtipo F3 en células HepG2

Henry Bautista*, Yeny Castellanos*, Jeisson Becerra*, Sindi Velandia*, Ana Farfán*

Introducción. La proteína HBx del virus de la hepatitis B está asociada con la Carcinogénesis del Hepatocarcinoma Celular (HCC) por mecanismos parcialmente conocidos.

Objetivo general. Diseñar un vector lentiviral que exprese el gen HBx del VHB, subtipo F3, en células HepG2.

Metodología. Se utilizó un pool de sueros de individuos con hepatitis B, para amplificar el gen HBx por PCR anidado. Genotipo F, subtipo F3 se confirmó por análisis de secuencia. Se utilizó un vector lentiviral con el gen reportero GFP (proteína verde fluorescente), para clonar el gen HBx y empaquetarlo en células 293TN. El número de partículas virales, expresado en equivalentes de genoma/ μ g, se cuantificó por PCR en tiempo real. Células HepG2 fueron transducidas con distintas proporciones lentivirus:célula (MOI). La expresión del gen HBx fue cuantificada por RT-PCR en tiempo real a las 72 horas y 4 semanas post infección. La proteína HBx se visualizó por inmunofluorescencia indirecta y las células positivas para el gen reportero GFP se cuantificaron por citometría de flujo. La integración del gen HBx en el genoma de las células HepG2 fue determinada por PCR.

Resultados. La mayor expresión del gen HBx se obtuvo a las 72 horas con MOI de 1000 y 4 semanas con MOI de 500. (3.80×10^8 EG/ μ g and 1.12×10^7 EG/ μ g, respectivamente). La inmunofluorescencia indirecta confirmó la presencia de la proteína HBx en las células HepG2. El mayor porcentaje de células GFP positivas fue 87% y 42% con MOI de 1000 a las 72 horas y 4 semanas respectivamente. La integración del gen HBx en el genoma celular se confirmó con todos los MOI analizados.

Conclusiones. Se diseñó un sistema *in vivo* en células HepG2 que permitirá evaluar los mecanismos oncogénicos del gen HBx, genotipo F, subtipo F3.

*Universidad de Santander-UDESA. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación en Manejo Clínico -CliniUDESA. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas -IJB, Bucaramanga, Colombia.

TLP67. Hepatitis B oculta en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana en el nororiente colombiano

Henry Bautista*, Yeny Castellanos*, Laura Villamizar†, Jeisson Becerra*, Sindi Velandia*, Ana Farfán*

Introducción. La infección crónica por el VHB incrementa la morbi-mortalidad de individuos infectados con VIH. La coinfección por los dos virus es frecuente, debido a que comparten rutas de transmisión.

Objetivo general. Determinar la prevalencia de infección oculta por el virus de la hepatitis B (VHB) en pacientes con VIH del nororiente colombiano.

Metodología. Estudio transversal realizado durante el 2010 en 275 pacientes atendidos en una institución de salud de la ciudad de Bucaramanga, Colombia. Muestras de suero fueron procesadas mediante ELISA para anti-HBs, anti-HBc y HBsAg. Se realizaron dos PCR anidados para amplificar genoma del VHB y genotipificación por secuenciación. Variables sociodemográficas, clínicas y de tratamiento antirretroviral fueron obtenidas de la historia clínica reciente.

Resultados. La edad promedio fue 37 ± 11 años y 65,1% eran hombres. Se observaron <200 células CD4+/ μ l en 24,7% y >500 en 28,7%. Se detectaron <500 copias/mL de VIH en 61,8% y >25.000 en 17,1%. Según clasificación de la OMS, 36% de los pacientes tenían SIDA y el 90% había recibido tratamiento antirretroviral. Se encontró coinfección VIH-VHB en el 28,7%. De estos últimos, 3,3% infección activa, 11,6% resuelta, 5,1% anti-HBc aislado y 8,7% hepatitis B oculta (HBo). Anticuerpos anti-HBs por vacunación ≥ 10 UI/mL fueron detectados en el 21,82%. No se observó asociación estadísticamente significativa entre carga viral por VIH, recuento de CD4+ e infección por el VHB. Análisis por secuenciación permitió identificar genotipo F, subtipo F3 en 7 pacientes coinfectados.

Conclusiones. La prevalencia de hepatitis B activa fue mayor a la reportada en un estudio previo en Colombia. Igualmente, se encontró una alta prevalencia de HBo en pacientes con o sin marcadores serológicos de infección por VHB. Estos hallazgos sugieren la necesidad de implementar herramientas moleculares para diagnosticar la hepatitis B en pacientes con VIH.

*Universidad de Santander- UDES. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación en Manejo Clínico -CliniUDES. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas -LJBB-, Bucaramanga, Colombia. †Universidad Industrial de Santander. Grupo de Investigación GUINDESS, Bucaramanga, Colombia.

TLP68. Genotipos del Virus de la Hepatitis B y el Virus de la Hepatitis D en población indígena del departamento del Amazonas, Colombia

Diana di Filippo*, Fabián Cortés-Mancera*†, Fernando de la Hoz‡, Edra Payares§, Neila Montes||, Gonzalo Correa*, María-Cristina Navas*

Introducción. El último caso de infección por VHD en Colombia se registró en el departamento del Guainía en el año 2005 y desde entonces nuevos casos de co-infección o super-infección por Virus de la Hepatitis B y VHD no se han reportado al sistema de salud.

Objetivo general. Caracterizar la infección por VHB y VHD y los genotipos en población indígena del departamento del Amazonas.

Metodología. Un total de 862 indígenas mayores de 18 años, pertenecientes a 19 comunidades de los municipios de Puerto Nariño, Leticia y el corregimiento de Tarapacá, aceptaron participar en el estudio. Todos con excepción de un participante, correspondieron a población asintomática. Una muestra de sangre de los individuos positivos por la prueba rápida para HBsAg fue obtenida y analizada para la detección por Elisa de HBsAg, Anti-HBc total e IgM (Abbott) y anti-HD IgM e IgG (Dia.Pro). La extracción del ADN y ARN de las muestras se realizó utilizando estuches comerciales. La detección del genoma viral se determinó por PCR anidada del ORF S y RT-PCR anidada del ORF delta. El genotipo viral fue determinado por secuenciación y análisis filogenético.

Resultados. Veintitrés muestras de suero fueron positivas para el HBsAg por prueba rápida, todas confirmadas por ELISA de HBsAg y anti-HBc. En 10/23 (43,3%) muestras se encontraron anticuerpos tipo IgM (4/10) o IgG anti-HD (6/10); todas definidas como casos de superinfección por la ausencia del marcador IgM anti-HBc. El análisis filogenético permitió la identificación del subgenotipo F1b de VHB y el genotipo III de VHD en las muestras.

Conclusiones. En la población de estudio se describe una frecuencia moderada de HBsAg por prueba rápida (2,6%) y una frecuencia alta de superinfección por VHD (43,3%). Los análisis filogenéticos permitieron demostrar la circulación exclusiva del subgenotipo F1b de VHB y del genotipo III de VHD en estas comunidades indígenas.

*Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia. ‡Grupo de Epidemiología y Evaluación en Salud Pública, Universidad Nacional, Bogotá, Colombia. §Laboratorio Departamental de Salud Pública de Amazonas, Leticia, Colombia. ||Coordinación de Salud Pública, Alcaldía de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia.

TLP69. "Co-infección del virus de la inmunodeficiencia humana con los virus de la hepatitis B y C en individuos cubanos"

Marité Bello C.*†, Licel Rodríguez L*, Ma. Caridad Montalvo V.*, Susel Sariago F.*, Meilin Sánchez W.*, Lidunka Valdés A.*, Ida González N.*, Denis Verdasquera C.*, Alberto Baly G.*, Aidonis Gutiérrez M.*, Jorge Pérez A.*, Manuel Díaz J.*, Caristina Cañas L.*, Rodilcia Castillo F.*, Bárbara Marrero S.*

Introducción. Las coinfecciones por los Virus de Hepatitis B (VHB), Hepatitis C (VHC) y de Inmunodeficiencia Adquirida (VIH) son frecuentes con características epidemiológicas muy similares.

Objetivo general. Se realizaron cinco estudios para conocer situación y comportamiento de las hepatitis B y C en personas cubanas seropositivas al VIH: 1. Exposición al VHB en individuos cubanos seropositivos al VIH, 1998. 2. Marcadores de VHB y VHC en pacientes VIH, 2000-09. 3. Implementación de técnicas moleculares para diagnóstico y seguimiento de las hepatitis B y C. 4. Marcadores de las Hepatitis B y C en niños seropositivos al VIH. 5. Hepatitis B oculta en pacientes VIH cubanos.

Metodología. Se estudiaron muestras de sueros de pacientes VIH recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Hepatitis virales, 1998-2010. Estudio I: seleccionados al azar 295 sujetos del Registro Nacional de personas VIH. Estudio II: se estudiaron 7 271 muestras. Estudio III: 1 217 muestras para diag. molecular: 116 para RCP/VHB y RCP-TR; 1 065 para RCP/VHC y 36 para estudios de genotipos VHC, 2007-2010. Estudio IV: se estudiaron todos los niños con VIH de Cuba (n= 30), 2005-2008. Estudio V: 325 muestras de HBsAg(-) divididas en 2 grupos: Grupo 1 [VIH/VHC(-)] n= 243 y Grupo 2 [VIH/VHC(+)] n= 82, 2008-2009. Técnicas utilizadas: Técnicas Serológicas: UMELISA para detección y confirmación de HBsAg y para detección de anti-HBs, anti-HBc y anti-VHC. Técnicas de Biología Molecular. Detección cualitativa del ADN/VHB. PCR en Tiempo Real (RCP-TR). Detección de ARN/VHC por técnica de UMELOSA HCV. Detección de genotipos del VHC con cebadores específicos. Análisis estadístico y Aspectos éticos. Estadística descriptiva, Análisis univariado, Test exacto de Fisher, Chi Cuadrado, Test de student para comparación de medias, Cálculo de frecuencias absolutas y relativas, Razón de Prevalencia como medida de asociación. Significación estadística $p \leq 0.05$. Aprobado por Comisiones de Ética institucionales.

Resultados. Se encontró que 45.5% estuvieron expuestos al VHB y 5.1% infectados crónicamente. Se estudiaron marcadores de VHB y VHC, 2000-09, observándose incremento de anti-VHC(+) en el 2009, se corrobora que las hepatitis B y C constituyen un problema de salud en este grupo de riesgo. La implementación de técnicas moleculares para diagnóstico y seguimiento de las hepatitis B y C contribuyó al manejo terapéutico en seropositivos VIH, encontrándose ARN/VHC en 77.7% de individuos coinfectados, más frecuente el genotipo 1b. Se estudiaron niños VIH(+), a los marcadores de VHB y VHC entre 2005-08, 73.3% tenían marcador de infección, exposición o inmunidad, 53.3% tenían títulos de anti-HBs protectores, predominando títulos hipoprotectores, a los niños no protegidos se administró 2 dosis de refuerzo de vacuna cubana Heberbiovac-HB demostrándose que pueden protegerse aplicando esquemas de inmunizaciones adecuados. Se investigó la Hepatitis B oculta en 54 pacientes expuestos al VHB detectándose en el 24% con títulos protectores bajos, fundamentalmente sin anti-VHC y anti-HBs < 10UI/L.

Conclusiones. Estos resultados contribuyen al conocimiento de hepatitis B y C en pacientes VIH, mejorando el tratamiento, pronóstico, control y prevención de esta enfermedad y su calidad de vida.

*Instituto de Medicina Tropical "P. Kouri" (IPK) - Cuba. †Contacto: marite@ipk.sld.cu / marite.bello@infomed.sld.cu

TLP70. Análisis filogenético del virus de la hepatitis E en plantas de benéfico porcino en Antioquia

Jorge E. Forero*†, Jaime E. Parra*, Berardo Rodríguez†, Francisco Díaz, Lina Gutiérrez§, Albeiro López H.*†

Introducción. El virus de hepatitis E es un virus RNA de cadena sencilla de sentido positivo de aproximadamente 7,3 kilobases (kb); posee tres marcos de lectura abierta parcialmente superpuestos ORF1, ORF2 y ORF3. Existen cuatro genotipos principales los cuales pueden infectar mamíferos que se nombran del 1 al 4. En varios estudios en Colombia han mostrado evidencia serológica de la infección en humanos con exposición ocupacional a cerdos, además se ha detectado la presencia del genoma viral en hígados y heces de cerdos en plantas de beneficio de Antioquia.

Objetivo general. Determinar cuál es el genotipo que está circulando en los cerdos sacrificados en plantas de faenado de Antioquia.

Metodología. Se hizo un análisis filogenético preliminar a partir de las secuencias obtenidas de 10 muestras (7 hígado y 3 de heces) de cerdos positivos mediante RT-PCR anidada del ORF1 y ORF2 del VHE. La edición manual, el alineamiento con CLUSTAL W y la construcción de los árboles por Neighbor Joining se realizaron en el programa MEGA 5.2. Las secuencias del ORF1 y ORF2, fueron alineadas con secuencias completas de los 4 genotipos y los árboles se enraizaron con una de secuencia detectada en aves.

Resultados. Los árboles filogenéticos obtenidos tanto del ORF1 como del ORF2 mostraron que las secuencias obtenidas de las 10 muestras pertenecen al genotipo 3 y se agrupan en 3 linajes diferentes. Estos análisis indican que en las producciones porcinas antioqueñas los cerdos son el reservorio para por lo menos 3 linajes diferentes del VHE.

Conclusiones. Este es un trabajo pionero que demuestra por medio de árboles filogenéticos que en Antioquia circulan por lo menos tres linajes del VHE y que todos pertenecen al genotipo 3 de este virus.

*Grupo Biodiversidad y Genética Molecular BIOGEM, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Calle 59A No. 63-20, Medellín, Colombia. †Grupo de Investigación en Patobiología QUIRON Laboratorio de Patología Veterinaria Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia. ‡Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia. §Grupo Biología de Sistemas, Facultad de Medicina, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Calle 78B # 72A-109, Medellín, Colombia.

TLP71. Caracterización genotípica del virus de la hepatitis C de pacientes de un centro de hemodiálisis de Lima - Perú, 2012

Stephanie Montero*, María Méndez*, Christian Florian*, Luis Gómez†

Introducción. Desde que en 1993, Simmonds et al., establecieron la clasificación del virus de la hepatitis C (VHC) en 6 genotipos (1, 2, 3, 4, 5, 6) y se asociaron los genotipos 1 y 4 a una respuesta antiviral menos eficiente (Fabrizi, 2013), los estudios de genotipificación se han disparado. Con respecto a los hemodializados, varios autores han determinado que los genotipos más frecuentes son el 1a y 1b, y que la viremia de los pacientes puede presentarse en forma intermitente, dificultando el análisis del ARN del virus. Cabe resaltar que estos individuos constituyen un grupo importante de estudio, ya que su estado urémico e inmunocompromiso representan una gran dificultad en la elección del tratamiento adecuado.

Objetivo general. Caracterizar genotípicamente las cepas del VHC que circulan en pacientes que asisten a un centro de hemodiálisis de Lima - Perú durante el año 2012.

Metodología. Se utilizaron las muestras de suero de 33 pacientes con insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) de un centro de hemodiálisis de Lima, se realizó la confirmación de la presencia de anticuerpos anti-VHC mediante una prueba de ELISA. La genotipificación se realizó mediante un *nested* PCR *primer* específico dirigido a la región core del VHC según la metodología descrita por Ohno et al., 1997.

Resultados. Los pacientes con anticuerpos anti-VHC correspondieron al 36.7% (33/90) de la población total del centro, sólo en el 15.2% de estos (5/33) se detectó ARN viral. Se identificaron los genotipos 1a y 1b, los cuales han sido reportados en diferentes poblaciones de estudio en nuestro país (Colichón et al., 2004; Colina et al., 2004; Sánchez et al., 2000).

Conclusiones. En la población estudiada existe diferencia en la prevalencia de anticuerpos anti-VHC y de la presencia del ARN viral. El método de genotipificación utilizado fue capaz de identificar los genotipos presentes en las muestras. En los pacientes con IRCT, circulan los genotipos 1a y 1b.

*Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima - Perú. †Centro de hemodiálisis RENEZA, Lima - Perú.

TLP72. Prevalencia de infección oculta de Hepatitis B en comunidades aisladas del Estado Amazonas

Y. Medina*‡, N. Cardona*, S. Silva*, A. Torres*, T. León*, Y. Camico*, D. García*, F.H. Pujol†

Introducción. La hepatitis B crónica se caracteriza por la detección del antígeno de superficie del virus (AgsHB) en sangre al menos durante 6 meses. Sin embargo, puede detectarse la existencia del ADN del virus B en suero en ausencia del AgsHB, denominándose una infección oculta, en la cual existe actividad replicativa del virus de la hepatitis B (VHB). El diagnóstico en tales individuos es difícil, dado que los marcadores virales tanto en suero como en hígado, con frecuencia se encuentran por debajo del límite de detección de los inmunoensayos empleados. Se ha sugerido el uso de técnicas altamente sensibles de amplificación de los ácidos nucleicos para la determinación de estas infecciones. Estudios sobre los mecanismos de generación de las infecciones ocultas contribuyen a una mejor comprensión sobre la realidad epidemiológica de la hepatitis B.

Objetivo general. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la prevalencia de infección oculta de hepatitis B, en comunidades aisladas del estado Amazonas.

Metodología. Se llevó a cabo la toma de muestras de sangre de 190 individuos, correspondientes a distintos municipios y diferentes etnias del estado Amazonas, pertenecientes a las comunidades la Reforma (89 personas, multiétnica), Albarical (28 personas, multiétnica) y Caño Mure (73 personas, comunidad Piarao). A dichas muestras se le realizó un tamizaje serológico, detectando anticuerpos frente al antígeno “core” del virus de la hepatitis B (anti-HBc) y del antígeno de superficie (AgsHB), partiendo de las alícuotas de los sueros congeladas a -20 °C, empleando el kit de ELISA Murex anti-HBc (total) y Murex HBsAg Version 3, respectivamente, de la casa comercial DiaSorin. Seguidamente la extracción de ADN se llevó a cabo, partiendo de alícuotas de los sueros congeladas a -20 °C, empleando el estuche QIAmp DNA Blood Mini kit. Posteriormente se realizó la amplificación de la secuencia altamente conservada en todos los hepadnavirus de 440 pb de la Región C del genoma viral, a través de una PCR en dos rondas.

Resultados. Las prevalencias halladas para AntiHBc fueron 16,85%, 25,00% y 43,84%; y para AgsHB 1,12%, 0% y 2,74% para las comunidades La Reforma, Albarical y Caño Mure, respectivamente. La Reforma presentó 1,12% (1/89) de individuos con serología positiva para anti-HBc y AgsHB. Se presentaron frecuencias de 15,73% La Reforma, 25,00% Albarical y 41,10% Caño Mure; con serología positiva anti-HBc y negativa para AgsHB. Por otro parte, la frecuencia de individuos con serología negativa para ambos marcadores serológicos fue 83,15% para la comunidad La Reforma, 75,00% para Albarical y 56,16% para Caño Mure. Se obtuvo la amplificación del fragmento del gen para 3 de las muestras con serología negativa, todas pertenecientes a la comunidad La Reforma, lo que representa, 4,05% (3/74) de infección oculta en individuos con ausencia de evidencia serológica de exposición al virus, siendo 3,37% la prevalencia de infección oculta en dicha comunidad. No se presentaron casos de infección oculta en la comunidad Albarical y Caño Mure. Se obtuvo un total 1,58% (3/190) de infección oculta en las comunidades evaluadas.

Conclusiones. La prevalencia existente de casos de infección oculta actualmente en el estado Amazonas y la amplia variedad en los marcadores virales en suero o su ausencia dificulta el diagnóstico de hepatitis en los individuos, haciendo necesario que el diagnóstico se desarrolle mediante la aplicación de técnicas de biología molecular o biopsias hepática, no disponibles en los entes de salud pública.

*Unidad de Enfermedades Reemergentes y Emergentes (UDEER). Servicio Autónomo Centro Amazónico de Investigaciones Científicas de Enfermedades Tropicales (SACAI CET), Puerto Ayacucho, Venezuela. †Laboratorio de Virología Molecular, CMBC, IVIC, Caracas, Venezuela. ‡Contacto: yollysetlm@gmail.com; Tlf:+58 0248 686 45 99, Venezuela. Puerto Ayacucho, Estado Amazonas.

TLP73. Identificación de casos de infección oculta por el virus de la hepatitis B en pacientes sometidos a trasplante hepático de la ciudad de Medellín

Julio C. Rendón*, Fabián Cortés-Mancera*†, Alejandra Duque*,
Juan C. Restrepo*‡, Gonzalo Correa*, María-Cristina Navas*

Introducción. La infección oculta por el virus de la hepatitis B (HBo) se caracteriza por la presencia del genoma viral en tejido hepático, y/o en suero, y niveles indetectables de antígeno de superficie (HBsAg). La HBo ha sido relacionada con el desarrollo de cirrosis, carcinoma hepatocelular (HCC) y enfermedad hepática criptogénica.

Objetivo general. Identificar y caracterizar los casos de HBo en pacientes con diagnóstico de cirrosis y/o HCC, sometidos a trasplante hepático en la ciudad de Medellín.

Metodología. Se evaluaron 63 muestras de tejido hepático obtenidas de pacientes sometidos a trasplante, con marcadores serológicos negativos para la infección por el virus de la hepatitis B (VHB), HBsAg y anti-HBc. La detección del genoma viral fue realizada a partir del ADN total extraído de los explantes, utilizando tres estrategias de amplificación para los ORFs S, Core y X del genoma viral. Las muestras en las que mínimo dos regiones fueron amplificadas se consideraron casos de HBo. Los fragmentos amplificados de los ORFs S y X fueron secuenciados y analizados para la identificación del genotipo viral y la detección de mutantes de escape. La presencia del genoma de VHB en las muestras fue reconfirmada por Southern Blot, con una sonda del ORF S marcada con Digoxigenina.

Resultados. Las estrategias de amplificación de los ORFs S y X permitieron identificar 6 (9,5%) muestras como HBo, 5 de las cuales fueron reconfirmadas por Southern Blot.

La secuenciación de los fragmentos de los ORFs demostró la presencia de la mutación Asp144His en una de las muestras. Los análisis filogenéticos identificaron dos muestras como genotipo A, un genotipo D y tres genotipos F, subgenotipos F3 y F1.

Conclusiones. Este es el primer estudio en Colombia en el que se identifican casos de HBo en tejido hepático de pacientes con hepatopatías terminales sometidos a trasplante. La detección de 9,5% (6/63) de los casos representa una baja frecuencia de HBo en esta población, comparado con estudios similares realizados en otros países.

*Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Grupo de Investigación e Innovación Biomédica GI2B, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia. ‡Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia.

TLP74. Genotipos del virus de hepatitis A circulantes en Colombia, 2008 - 2012

Jennifer Sánchez*, Lissett-Tatiana Villamil*, Johanna Rodríguez†, Marlen Rincon†,
Jairo Méndez†, Claudia Sánchez‡, Dioselina Peláez-Carvajal†

Introducción. La hepatitis A según la Organización Mundial de la Salud, es una de las cuatro enfermedades infecciosas más prevalentes. Colombia tiene patrones de endemicidad intermedios, con áreas de alta y baja endemicidad y con mayor incidencia en edades entre 5 y 14 años. Anualmente se notifican entre 5000-6000 casos, correspondiendo el 10% a brotes. La identificación de genotipos y subgenotipos permite rastrear circulación de cepas epidémicas, confirmar origen hídrico del brote y enfocar adecuadamente medidas de control. El subgenotipo IA es responsable de la mayoría (70%-80%) de los casos en el mundo.

Objetivo general. Identificar genotipos/subgenotipos de virus de Hepatitis A (VHA) en sueros y muestras de agua recolectadas entre 2008 - 2012.

Metodología. Se realizó estudio descriptivo retrospectivo seleccionando a conveniencia sueros IgM anti-HAV positivos y muestras de agua positivas para HAV procedentes de 8 departamentos con brotes frecuentes. Se realizó extracción de RNA viral de los sueros y aguas, se amplificó y secuenció por RT-PCR anidada un fragmento de 223 pb de la región VP1/2A, se analizaron las secuencias por la herramienta BLAST/blastn de NCBI.

Resultados. En las 15 muestras procesadas se identificó el genotipo I subgenotipo A, compartiendo identidad de nucleótidos entre 90 a 98% con cepas HAV genotipo IA reportadas en Venezuela y Brasil entre 2006 - 2010. Las secuencias de los virus en muestras de suero y agua de un mismo brote en Puerto Asís, Putumayo en 2012, presentaron una identidad del 98 % con la cepa S79s subgenotipo IA reportada en Venezuela en 2010.

Conclusiones. Este es el primer informe de genotipo y subgenotipo de HAV en Colombia, el cual invita a continuar con este tipo de estudios especialmente en apoyo a brotes. Los análisis filogenéticos son de vital importancia para confirmar la fuente de contagio en brotes y el origen de los virus.

*Facultad de Bacteriología, Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. †Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia. ‡Grupo Factores de riesgo del ambiente, Dirección Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C. - Colombia.

TLP75. Extractos etanólicos de *Cassia grandis* y *Tabernaemontana cymosa* inhiben *in vitro* la replicación del virus dengue serotipo 2

Carolina Hernández-Castro*, Fredyc Díaz-Castillo†, Marlén Martínez-Gutiérrez*

Introducción. Debido a que aún no existe tratamiento para el dengue, la búsqueda de antivirales derivados de productos naturales o fármacos de segundo uso, sigue siendo una prioridad a nivel mundial.

Objetivo general. Evaluar la actividad antiviral de extractos etanólicos derivados de hojas de *Cassia grandis* y corteza de *Tabernaemontana cymosa* contra dos cepas de DENV serotipo 2 en dos líneas celulares (VERO y U937).

Metodología. Se evaluó la CC₅₀ (por el método de MTT) y la CE₅₀ (por la técnica de inhibición de la producción de partículas virales infecciosas) con ambos extractos. Adicionalmente se realizó un ensayo de inhibición dosis-respuesta y se evaluaron tres estrategias experimentales diferentes (pre, trans y post-tratamiento) para determinar el efecto de los extractos dependiendo del tiempo de administración. Finalmente se realizó un análisis fitoquímico preliminar de ambos extractos.

Resultados. Se encontró que la citotoxicidad de los extractos es baja (CC₅₀ >300 µg/mL) siendo la línea celular U937 más sensible al efecto antiproliferativo de ambos extractos. Cuando se comparó la selectividad de los extractos dependiendo de cada cepa viral, se encontró que ambos extractos son más selectivos en los cultivos infectados con la cepa DENV-2/NG que en los cultivos infectados con la cepa DENV-2/16681. En ninguna de las evaluaciones se observó un efecto inhibitorio dependiente de la dosis de extracto usada. Finalmente las mayores inhibiciones de la infección se encontraron en la estrategia post-tratamiento con el extracto de *Tabernaemontana cymosa* (99.9% en ambas líneas celulares).

Conclusiones. Este es el primer reporte del efecto antiviral de extractos etanólicos derivados de *Cassia grandis* y *Tabernaemontana cymosa* frente a la infección por DENV serotipo 2, siendo más efectivos frente a la infección por la cepa DENV-2/NG. Adicionalmente ambos extractos etanólicos los pasos posteriores a la internalización del virus, logrando reducir la producción de partículas virales infecciosas.

*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas (LIFFUC), Universidad de Cartagena-Hospital Universitario del Caribe, Cartagena, Colombia.

TLP76. Una fracción activa derivada de la planta *Psidium guajava* inhibe la replicación del virus dengue serotipo 2

Carolina Quintero-Gil*, Fredyc Díaz-Castillo†, Marlén Martínez-Gutiérrez*

Introducción. El dengue sigue siendo considerada la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante a nivel mundial pero hasta el momento no existe tratamiento específico. Resultados obtenidos previamente por nuestro grupo demostraron que extractos etanólicos de la corteza de *Psidium guajava* tienen actividad antiviral contra virus dengue serotipo 2 (DENV-2), por lo que se hace necesario realizar evaluación del efecto antiviral de las fracciones obtenidas por fraccionamiento biodirigido.

Objetivo general. Evaluar la actividad antiviral de fracciones obtenidas de la corteza de *Psidium guajava* en células infectadas con DENV-2.

Metodología. Se realizó fraccionamiento del extracto etanólico de la corteza de *Psidium guajava* y para cada una de las fracciones obtenidas se determinó el IS usando la CC50 (obtenida por un ensayo de MTT) y la CE50 (obtenida por RT-qPCR) en células U937 infectadas con DENV-2 cepa Nueva Guinea. Con la fracción más promisoría se evaluó el efecto antiviral sobre diferentes pasos del ciclo replicativo usando los tratamientos individuales antes de la infección (pre-tratamiento); durante la infección (trans-tratamiento) y después de la infección (post-tratamiento).

Resultados. Se obtuvieron cinco fracciones y de ellas la fracción YP-I-22C mostró el IS más alto (35.4). Esta misma fracción inhibió la infección en las tres estrategias individuales pre, trans y post-tratamiento (porcentajes de inhibición del 78.1%, 58.8% y 74.8%, respectivamente). A partir de esta fracción se logró aislar e identificar un total de cuatro compuestos de características fenólicas y/o flavonoides. La elucidación estructural de estos compuestos dio como resultado la presencia de ácido gálico, naringina, quercetina y catequina.

Conclusiones. Una fracción derivada de la corteza de *Psidium guajava* con características fenólicas y flavonoides inhibió la infección con DENV-2 en células U937, con los tres esquemas de tratamiento, lo cual sugiere que esta fracción es una candidata para inhibir cualquiera de los pasos del ciclo replicativo.

*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas (LIFFUC), Universidad de Cartagena-Hospital Universitario del Caribe, Cartagena, Colombia.

TLP77. Evaluación de la actividad antiviral ejercida por sustancias obtenidas a partir de una especie vegetal perteneciente al género *Achyrocline* sobre la infección *in vitro* por rotavirus y astrovirus

Mayra Téllez*, Alba Téllez†, María Gutiérrez*, Juan Ulloa*‡

Introducción. La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es un problema en salud pública ya que afecta a millones de niños menores de 5 años y también a ancianos e inmunosuprimidos. Rotavirus (RV) y Astrovirus (AstV) son agentes enteropatógenos asociados a EDA que pueden encontrarse co-infectando. Si bien, la administración de sales de rehidratación y vacunas para rotavirus han servido como medidas de tratamiento paleativo y profilácticas, no se ha visto que sean efectivas y que disminuyan o bloqueen la infección viral. Así, se hace necesario desarrollar nuevas alternativas para tratar las infecciones causadas por RV y AstV, siendo la propuesta de este estudio iniciar con la búsqueda de sustancias vegetales que puedan ser utilizadas para estos fines.

Objetivo general. Evaluar la actividad antiviral producida por sustancias obtenidas a partir de *Achyrocline bogotensis*, sobre la infección *in vitro* por rotavirus y astrovirus.

Metodología. A partir de *A. bogotensis* se obtuvieron tres extractos y tres fracciones a los cuales se les determinó su citotoxicidad sobre líneas celulares MA104 y Caco2, susceptibles de infección por RV y AstV, respectivamente. Por inmunocitoquímica y citometría de flujo se valoró su actividad antiviral usando concentraciones no citotóxicas, siguiendo tres estrategias: 1. Bloqueo de la infección; 2. Actividad directa de las sustancias vegetales sobre los virus que lleve a una pérdida de la infectividad; 3. Post-tratamiento para valorar la disminución de la producción de partículas virales infecciosas.

Resultados. La fracción HM1 a concentraciones no citotóxicas presentó una actividad directa con las partículas de RV y AstV que permitió disminuir su infectividad *in vitro*.

Conclusiones. *Achyrocline bogotensis* contiene sustancias que a bajas concentraciones no-citotóxicas ejercen una actividad directa contra RV y AstV.

*Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. †Laboratorio de Fitoquímica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Grupo de Investigaciones Fitoquímicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. ‡Contacto: julloa@javeriana.edu.co | teléfono: 3208320 | ext: 4029.

TLP78. Estudio de linfocitos T anérgicos en la respuesta inmune a rotavirus

María Jácome*, Manuel Franco†, Juanita Ángel†, Marta Mesa*

Introducción. A nivel global, Rotavirus (RV) es el principal agente etiológico de gastroenteritis (GE) aguda en niños; además, 25% de sus acudientes adultos pueden presentar enfermedad leve a moderada. La infección por RV induce anticuerpos; pero, las respuestas de LT de memoria (LTm) en niños expuestos son bajas y/o transitorias y aunque aumentan con la edad, son indetectables en 50% de adultos previamente infectados. La no detección de LTm específicos de RV (LT-RV) puede deberse a la existencia de LTm anérgicos, generados en el ambiente tolerogénico del intestino. La anergia puede revertirse con IL-2, IL-12 o con inhibidores de vías de señalización asociadas al estado de hiporespuesta.

Objetivo general. Evaluar la presencia de LTm anérgicos específicos de RV.

Metodología. Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de adultos sanos (n= 5) fueron estimuladas con el RV de simio, RRV (1 ug/mL), un control negativo ó un control positivo (Enterotoxina B de *Staphylococcus aureus*), anti-CD28 y anti-CD49d, en ausencia ó presencia de IL-2r (100 UI/mL), IL-12r (5 ng/mL) ó el inhibidor de diacilglicerolcina alfa/DGKi- α (25 μ M), durante 10 h, con brefeldina (5 μ g/mL) y monensina (5 μ g/mL) en las últimas 5 h. Los porcentajes de LT-RV productores de TNF- α , IL-2, IFN- γ ó IL-13 fueron evaluados mediante tinción con anticuerpos monoclonales fluorescentes y citometría de flujo. Las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante las pruebas de Friedman y de Wilcoxon ($\alpha= 0,05$).

Resultados. La IL-2r aumentó el porcentaje de LT-RV/CD4/CD69+/TNF- α + (Mediana: 0,020; Range: 0,011-0,026 vs Mediana: 0,040; Range: 0,018-0,061; p= 0,03), de LT-RV/CD4/CD69+/IFN- γ + (Mediana: 0,049; Range: 0,015-0,153 vs Mediana: 0,115; range: 0,097-0,374; p= 0,03) y de LT-RV/CD8/CD69+/IFN- γ + (Mediana: 0,056; Range: 0,044-0,078 vs Mediana: 0,153; range: 0,098-0,268; p= 0,03). La IL12r y el DGKi- α aumentaron la frecuencia de LT TNF- α +, IFN- γ +, IL-2+ ó IL-13+ en los cultivos de CMSP estimulados con RV, pero también con el control negativo.

Conclusiones. En adultos sanos existen LTm anérgicos específicos de RV que revierten con IL-2r.

*Grupo de Inmunobiología y Biología Celular de la Facultad de Ciencias. †Grupo de Inmunidad de Mucosas del Instituto de Genética Humana de la Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

TLP79. Identificación de los perfiles de migración de los linfocitos T CD4+ específicos de rotavirus en voluntarios adultos sanos

Miguel Parra*, Daniel Herrera*, Mauricio Calvo-Calle†, Lawrence Stern‡, Carlos Parra‡, Eugene Butcher§, Manuel Franco*, Juana Ángel*

Introducción. En la infección por rotavirus los linfocitos TCD4 son importantes por que estimulan a los LB a que produzcan anticuerpos IgA protectores, sin embargo es poca la información que se tiene acerca de la especificidad y características de esta población celular.

Objetivo general. Identificar los perfiles de migración de los linfocitos TCD4 específicos de rotavirus usando una coloración de tetrámeros combinada con marcadores de migración.

Metodología. Tres péptidos de rotavirus asociados con la presentación por moléculas de HLA DRB1*01:01 derivados de las proteínas VP6, VP3 y NSP2 fueron identificados previamente. Los péptidos fueron usados para generar líneas péptido-específicas. Posteriormente, las líneas péptido-específicas fueron re-estimuladas con los péptidos usando PBMCs autólogos como células presentadoras. Los péptidos fueron acoplados con moléculas solubles de HLA DRB1*01:01 marcadas con una señal de biotilación para luego formar los tetrámeros con estreptavidina-PE. PBMCs de seis voluntarios adultos sanos HLA DRB1*01:01, fueron aislados de sangre periférica y marcados con tetrámeros acoplados con los péptidos de rotavirus, de transferrina y de influenza (HA₃₀₆₋₃₁₈). Finalizada la marcación con los tetrámeros, las células se tiñeron con los marcadores CD62L, CD45RA, CCR9 y $\alpha 4\beta 7$ y analizadas por citometría de flujo.

Resultados. Las líneas mostraron que todos los voluntarios tenían células específicas del péptido VP6, mientras que solo dos fueron positivas para los péptidos de VP3 y NSP2. La coloración de PBMCs con los tetrámeros de VP6 e influenza mostraron que las células tetrámero-positivas están enriquecidas en células de memoria. Además, se observó que las células de memoria específicas de rotavirus están enriquecidas en las poblaciones con los marcadores de migración intestinal mientras que las de influenza en las que migran sistémicamente.

Conclusiones. Las células de memoria TCD4+ específicas de rotavirus tiene marcadores de migración intestinal $\alpha 4\beta 7$ y CCR9, soportando la teoría de la compartimentalización de la respuesta inmune.

*Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. †Department of Pathology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, U.S.A. ‡Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. §Laboratory of Immunology and Vascular Biology, Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, U.S.A.

TLP80. Evaluación de mecanismos inmunológicos involucrados en la resistencia al Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) que exhiben los individuos controladores

Natalia Taborda*, Sandra González*, Carlos Montoya*, Keith Fowke†, María Rugeles*

Introducción. La infección por el VIH induce alteraciones en células del sistema inmune y en tejido linfoide asociado a la mucosa del tracto gastrointestinal (GALT). Sin embargo, existen individuos controladores, quienes en ausencia de tratamiento antirretroviral presentan cargas virales muy bajas o indetectables.

Objetivo general. Establecer la asociación entre el control espontáneo de la replicación del VIH y los siguientes factores en sangre periférica (SP) y GALT: I) Actividad citotóxica de células NK y linfocitos-T CD8+ (CTL); II) producción de moléculas proinflamatorias/agotamiento inmunológico (IP-10, TNF- α / LAG-3); y III) expresión de proteínas antivirales.

Metodología. Se obtuvo SP y biopsias de GALT de 10 controladores (carga viral <2.000 copias/mL); 10 progresores (carga viral >10.000 copias/mL) y 10 controles sanos (CS). Los CTL fueron cultivados con péptidos de gag del VIH y las células NK con IL-12/IL-15 para evaluar por citometría de flujo la producción de citoquinas y moléculas citotóxicas. IP-10, TNF- α y LAG-3 fueron medidas en plasma mediante Luminex o ELISA. Las proteínas antivirales se evaluaron por RT-PCR. Las comparaciones se realizaron mediante Mann Whitney.

Resultados. Cuando se compararon con los progresores, los controladores presentaron mayor porcentaje de células NK CD16- CD56^{bright} (con alta capacidad de respuesta), y menor porcentaje de células NK CD16+ CD56- (disfuncionales), acompañado de baja expresión de CD69 (marcador de activación celular) en SP. Además, los controladores presentaron alta expresión de moléculas citotóxicas en CTL y en células NK, así como baja producción de moléculas proinflamatorias/agotamiento inmunológico. No hubo diferencias en la expresión de proteínas antivirales. Los resultados fueron similares entre controladores y CS.

Conclusiones. Estos resultados muestran que los controladores tienen CTL y células NK con alta actividad citotóxica tanto en SP como en GALT. Además, presentan baja activación celular y baja producción de moléculas proinflamatorias/agotamiento inmunológico, lo cual podría contribuir con el control de la replicación viral.

*Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Department of Medical Microbiology, University of Manitoba, Winnipeg, Canadá.

TLP81. Respuesta de células secretoras de anticuerpos circulantes específicas contra proteína de envoltura en niños infectados por dengue es inmunodominante, no serotipo-específica y edad-dependiente

Jessica Toro*†, Doris Salgado*†, Rocío Vega*†, Jairo Rodríguez*†, Alan Rothman‡, Juana Ángel§, Manuel Franco§, Harry Greenberg||, Carlos F. Narváez*

Introducción. Los anticuerpos son críticos en la protección contra la infección por Virus Dengue (VD) y además están relacionados con su patogénesis a través de la amplificación dependiente de anticuerpos. Se sabe que el VD induce una fuerte respuesta de células secretoras de anticuerpos circulantes (CSAC) IgG virus-específica.

Objetivo general. Caracterizar en detalle la cinética de la respuesta de CSAC, además de su reactividad y relación con la severidad clínica en niños.

Metodología. Se estudiaron 80 niños (20 de ellos lactantes) con infección 1° o 2° por VD y diferentes grados de severidad clínica, además de niños sanos y febriles sin dengue como controles. CSAC IgM e IgG totales y específicos para proteína de Envoltura (E), fueron analizados por ELISPOIT de dos colores y citometría de flujo en fase aguda y de convalecencia. La tipificación del VD se hizo por RT-PCR convencional y la Guía de atención integral del paciente con dengue en Colombia 2010 fue usada para el diagnóstico, clasificación y manejo de los niños.

Resultados. La infección con VD indujo una frecuencia de CSAC especialmente de Isotipo IgG, 10 a 300 veces más alta que la encontrada en niños sanos o febriles sin dengue, que tuvo un pico entre el 5-6 día de fiebre. En niños >1 año con infección 1° o 2°, una mediana (rango) de 45% (15%-100%) de los CSAC fueron específicas contra la proteína E del virus y esta fue no-homotípica. En contraste, en lactantes la respuesta fue significativamente más baja, tardía (entre 6 y 9 día de fiebre) y dominada por la IgM. No hubo relación entre la frecuencia de CSAC totales o proteína E-específicas y la severidad clínica.

Conclusiones. En lactantes infectados por VD la respuesta de CSAC es marcadamente diferente a la presente en niños mayores. Estos hallazgos podrían tener implicaciones en las vacunas contra dengue en prueba actualmente.

*Programa de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Suroccidental, Neiva, Colombia. †Departamento de Pediatría, Hospital Universitario de Neiva, Colombia. ‡Rhode Island University, Providence, RI, U.S.A. §Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. ||Department of Microbiology and Immunology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, U.S.A.

TLP82. Optimización de las condiciones de un ensayo de amplificación de bacteriófagos específicos para *Ralstonia solanacearum* raza II

Diana Botero*, Jhon Castaño*

Introducción. *Ralstonia solanacearum* Raza II, es una bacteria de suelo Gram-negativa Causante de la enfermedad del Moko, enfermedad bacteriana más limitante en la producción de banano y plátano en Colombia. Esta enfermedad demanda altos costos en su control. En la actualidad, la única herramienta con que se cuenta para tratar dicha enfermedad, es el uso de bromuro de metilo, gas altamente tóxico y actualmente su uso está prohibido. Por esta razón se hace necesaria la búsqueda de estrategias que lleven al biocontrol con bacteriófagos ya que ésta reduce el uso de agentes químicos contra dichos patógenos, evitando la contaminación ambiental y trastornos en los cultivos generados por los residuos de productos químicos.

Objetivo general. Determinar las condiciones óptimas para la amplificación de bacteriófagos específicos para *Ralstonia solanacearum* raza II.

Metodología. Los bacteriófagos se aislaron de tierra de fincas afectadas por la enfermedad del MOKO, estos se cocultivaron con *Ralstonia solanacearum* raza II cepa CIAT 1008 y una cepa aislada a partir de un fruto afectado que mediante técnicas moleculares arrojó positivo para raza II, que llamamos (AF1Q). Se realizaron curvas de crecimiento bacteriano con y sin bacteriófagos y con diferentes concentraciones de CaCl₂ en un espectrofotómetro a 600 nm, cada 30 minutos se realizaron las lecturas hasta completar 390 minutos.

Resultados. El pico máximo de crecimiento bacteriano en la cepa CIAT 1008 fue a los 390 minutos de incubación, mientras que en la cepa AF1Q se presenta a los 210 minutos. Tanto en la cepa CIAT 1008 como en la cepa AF1Q es más eficaz el tratamiento con bacteriófagos con la concentración de CaCl₂ 20 mM.

Conclusiones. La cepa AF1Q presenta una tasa de crecimiento bacteriano mucho más rápida. La cepa CIAT 1008 es más susceptible a los bacteriófagos dependiendo a las concentraciones de CaCl₂ que se encuentren.

*Grupo de Inmunología Molecular (GYMOL). Universidad del Quindío. Carrera 15 Calle 12 Norte. Armenia, Quindío, Colombia.

TLP83. Alotipos de la proteína priónica modulan la transmisión de la Enfermedad Caquetizante de los Ciervos en modelos murinos transgénicos

Camilo Duque*, Chiye Kim†, Allen Herbst*, Nathalie Daude‡, Judd Aiken*, Debbie Mckenzie†

Introducción. La Enfermedad Caquetizante de los Ciervos (ECC) es una encefalopatía espongiiforme transmisible o enfermedad priónica que afecta poblaciones silvestres y cautivas de la familia *Cervidae* en Norte América. Los priones son agregados protéicos transmisibles que pueden causar enfermedad neurodegenerativa en humanos y animales. A diferencia de otros agentes transmisibles, la replicación de los priones depende del plegamiento anormal y polimerización de la proteína priónica celular (PrP^C) del huésped. La susceptibilidad de varias especies de mamíferos a la enfermedad por priones es influenciada principalmente por la secuencia de aminoácidos de PrP^C. En poblaciones de ciervos de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) afectadas por la ECC, existen variantes alélicas de PrP^C que afectan la presentación y progresión de la enfermedad. Ciervos de genotipos (*Prnp*) que expresan la isoforma Q95G96 (*Prnp^m*) de la PrP^C son altamente susceptibles, mientras que las isoformas Q95S96 (*Prnp^{S96}*) y H95G96 (*Prnp^{H95}*) están asociadas a largos períodos de incubación. Ciervos homocigotos para el alelo S96 son considerados parcialmente resistentes en comparación con homocigotos *wt*.

Objetivo general. Considerando la naturaleza protéica de los priones, nos preguntamos si cambios en la estructura primaria de la PrP^C, pueden afectar la transmisión experimental del agente contagioso del ciervo.

Metodología. Para evaluar nuestra hipótesis, se utilizaron cuatro homogenizados cerebrales de ECC de diferentes alotipos (*wt/wt*, *wt/S96*, *wt/H95*, *S96/H95*) y se inocularon en dos líneas de ratones transgénicos para los alelos *Prnp^m* y *Prnp^{S96}* del ciervo.

Resultados. Los ratones de la línea *Prnp^m* fueron altamente susceptibles a los cuatro alotipos priónicos, mientras que los animales *Prnp^{S96}* únicamente sucumbieron a los alotipos H95.

Conclusiones. Nuestros hallazgos indican que los cambios estructurales asociados al polimorfismo H95 favorecieron la adaptación de un agente priónico capaz infectar ambos genotipos. Y sugieren que algunas isoformas de PrP^C pueden influir en la transmisibilidad del prion de la ECC en ciervos y otras especies de mamíferos potencialmente susceptibles.

*Centre for Prions and Protein Folding Diseases, Department of Agriculture Food and Nutritional Sciences, University of Alberta, Edmonton, AB T6G 2M6 Canada. †Centre for Prions and Protein Folding Diseases, Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, AB, T6G 2M6 Canada. ‡Centre for Prions and Protein Folding Diseases, Department of Medicine, University of Alberta, Edmonton, AB, T6G 2M6 Canada.

TLP84. Caso confirmado de mortalidad por fiebre amarilla en Caquetá, Colombia 2013

Martha Gracia R.*, Lissethe Pardo*, Edgar Parra†, Pilar Zambrano‡, Andrés Páez*

Introducción. La fiebre amarilla presenta 30.000 muertes anuales en el mundo. En Suramérica ocurren aproximadamente 2.000 casos anuales y existe la posibilidad de urbanización de la enfermedad ya que el vector *Aedes aegypti*, habita en cascos urbanos, algunos de estos vecinos a áreas enzooticas.

Objetivo general. Describir un caso de fiebre amarilla, ocurrido en Paujil, Caquetá, Junio de 2013, las técnicas diagnósticas utilizadas y la investigación de campo. Analizar su significado epidemiológico e implicaciones en salud pública.

Metodología. El diagnóstico por histopatología se realizó sobre tejido hepático en parafina, por inmunquímica se realizó utilizando anticuerpos anti virus amarillo. El diagnóstico virológico se realizó sobre suero por RT-PCR y ELISA.

Resultados. Datos clínicos: paciente masculino de 35 años, procedente de Paujil en Caquetá. Los síntomas incluían: fiebre, cefalea, escalofrío, gingivorragia, ictericia, dolor retroocular, hemoptisis, hiperemia conjuntival, epistaxis, mialgia con hemorragia de vías digestivas y dificultad respiratoria. Antecedentes epidemiológicos: no refiere antecedente de desplazamiento ni de vacunación contra la fiebre amarilla en historia clínica. Diagnóstico: el hígado presenta severa metamorfosis grasa, la lesión primordial tiene la imagen usual en fiebre amarilla, compromiso de la banda periportal y pericentral. Presencia en suero de anticuerpos IgM anti-fiebre amarilla. No se detectó ácido nucleico del virus de la fiebre amarilla. Durante la investigación de campo no se evidenciaron factores de riesgo para fiebre amarilla por la ausencia de reservorios y vectorres En la búsqueda activa de casos no se encontraron pacientes febriles y las personas entrevistadas refirieron no conocer al paciente.

Conclusiones. Se confirmó por laboratorio la muerte por fiebre amarilla. Los resultados de RT-PCR fueron negativos posiblemente debido a que el virus y su ácido nucleico fueron destruidos y degradados por la respuesta inmune. A pesar de la existencia de vacuna, la fiebre amarilla continua siendo una amenaza para la salud pública en Colombia.

*Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. – Colombia. †Grupo de Patología, Dirección de Redes en Salud Pública, Subdirección Red Nacional de Laboratorios. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. – Colombia. ‡Grupo de ETV, Dirección de Vigilancia y Análisis de Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C. – Colombia.

TLP85. Detección y caracterización de begomovirus en plantas del género *Capsicum* colectadas en Venezuela

Julianh Pérez*; María Santana*; Doris Chirinos†, Francis Geraud†

Introducción. Los begomovirus (familia *Geminiviridae*) son virus de DNA transmitidos exclusivamente por *Bemisia tabaci* de manera circulativa; su genoma es circular de cadena única ambisentido, el cual puede ser monopartita o bipartita; su replicación se lleva a cabo en el núcleo de la célula infectada por el mecanismo del círculo rodante; son virus con efectos devastadores en algunos cultivos debido a su dispersión potenciada por insectos vectores, produciendo en muchos casos, pérdidas de hasta 100%. La alta expansión de estas enfermedades causadas por begomovirus ha sido relacionada a una mayor población de insectos vectores virulíferos y a la aparición de nuevas cepas de virus. Actualmente, se han reportado muchas variantes de virus, con diferentes grados de severidad en los cultivos. De esta problemática, se desprende la necesidad del desarrollo y mejoramiento de las técnicas de diagnóstico de begomovirus.

Objetivo general. En este sentido, el presente trabajo de investigación va dirigido a detectar y caracterizar begomovirus presentes en muestras de campo de campo colectadas a partir de plantas de ají y pimentón (*Capsicum chinense* Jacq y *Capsicum annuum* L.).

Metodología. Para alcanzar los objetivos se recolectaron muestras de hojas, con aparentes síntomas virales, en diferentes regiones productoras del país, se aisló ADN a partir de las muestras colectadas y se amplificaron mediante la PCR y cebadores generales, fragmentos de ADN de las partículas virales. Los mismos fueron clonados y secuenciados.

Resultados. Las secuencias fueron analizadas, y se identificaron 2 muestras (60 y 944) con la presencia del virus *Tomato venezuela virus* (ToVEV) y una muestra (2240) con el *Potato yellow mosaic virus* (PYMV). Este es el primer reporte en Venezuela de ToVEV en pimentón y PYMV en ají.

Conclusiones. Los resultados de este trabajo podrán ser utilizados para mejorar los métodos diagnósticos de enfermedades causadas por este género de virus en nuestro país como base para mejorar el manejo y producción de estas especies.

*Laboratorio de Biotecnología Agrícola, Departamento de Biología Celular, Universidad Simón Bolívar, Caracas- Venezuela. Contacto: pierisbrassica@gmail.com †Unidad Fitosanitaria, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo-Venezuela.

TLP86. Análisis cuantitativo de la productividad en virología en Colombia, 2000-2013

Julián Ruiz-Saenz*, Marlén Martínez-Gutiérrez†

Introducción. La virología es una rama de la microbiología que estudia un amplio grupo de agentes/enfermedades que son causa de considerable morbilidad y mortalidad en el mundo tanto en poblaciones humanas como animales y vegetales. Previos análisis han mostrado una importante tendencia de América latina al incremento en el número de artículos de virología en revistas indexadas; sin lograr relevancia a nivel global en los índices de productividad científica

Objetivo general. Evaluar la productividad científica colombiana en las diversas áreas de la virología en términos de publicaciones en revistas indexadas.

Metodología. Se realizó un estudio retrospectivo documental con los artículos publicados entre enero de 2000 y junio de 2013. Los datos bibliográficos se obtuvieron de las bases de datos: MedLine, SciELO, LILACS y Scopus®. Se calcularon diversos índices de análisis cuantitativo, de cooperación y de visibilidad de la productividad.

Resultados. Se evidenció una fuerte tendencia al crecimiento en la productividad total con un promedio de 59% de publicaciones en revistas extranjeras. 95% de las publicaciones fueron en coautoría. La mediana del número de autores fue de 5 (rango, 1-38). En promedio, los artículos con diez o más autores aparecieron en revistas con factor de impacto superior. El 35% de artículos incluyeron coautoría internacional y obtuvieron significativamente mayores factores de Impacto en comparación con artículos sin esta. La mayoría de las publicaciones no se encuentran en revistas de virología y las investigaciones en HIV/SIDA, Dengue y Papiloma cuentan por cerca del 50% de la productividad global mientras que la investigación en virus de importancia en veterinaria y plantas aportan solo cerca del 15% entre ambos.

Conclusiones. Hace falta mayor cohesión con la virología mundial. Es necesario crear y fortalecer redes de trabajo internacional que permitan mejorar visibilidad e impacto de la investigación en virus/enfermedades virales que se produce en Colombia.

*Grupo de Investigación CENTAURO, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas – CCBB, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

TLP87. Efecto inhibitorio de antibióticos licenciados sobre la replicación *in vitro* del VDEN-2 y la secreción de interleuquina 8 por la célula infectada

María Camila Flechas*, Raquel E. Ocazonez*

Introducción. Se requiere una droga para el tratamiento del dengue que disminuya la viremia y los efectos adversos de las citoquinas. Los antibióticos licenciados podrían ser una alternativa por su efecto inmunomodulador y además anti-dengue según análisis *in silico*.

Objetivo general. Investigar *in vitro* la actividad inhibitoria de antibióticos sobre virus dengue y la IL-8.

Metodología. Se analizaron los antibióticos Rifampicina, Tetraciclina hidrociorada y Doxiciclina (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, colectando el sobrenadante a las 72 h para cuantificar NS1 e IL-8 por ELISA.

Resultados. La CMNT fue de 6.8 hasta 72.3 µg/mL. En cultivos infectados con 3.16 CCID₅₀ y tratados con rifampicina se redujo NS1 en 68.9% y con los otros antibióticos no se observó actividad significativa (reducción 0%). En cultivos infectados con 10 veces más la cantidad de virus (31.6 CCID₅₀) no se observó actividad notoria de la rifampicina (NS1 reducida en 25.2%). Se observó reducción de IL-8 desde 54.2 hasta 69.9% con los tres antibióticos. Cuando se incrementó el virus a 316 CCID₅₀ y se disminuyó tres veces la concentración de rifampicina (16.5 µg/mL) se observó reducción de IL-8 en 60.9%. Este mismo antibiótico a CMNT redujo NS1 en 32% por tratamiento en las primeras 12 h, mientras no hubo diferencia con respecto al control (no-tratado) cuando se trató a las 24 y 48 h.

Conclusiones. Los antibióticos analizados presentan potencial farmacológico *in vitro* como inmunomoduladores y la rifampicina además como antiviral. La acción antiviral parece ser inhibiendo etapas tempranas de la replicación del virus. 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 Guitiguará, Universidad Industrial de Santander, Piedecuesta.

TLP88. Virus dengue e imagenología de células vivas

Hamlet Acevedo*, Isabel Rodríguez*, Juan Gallego*

Introducción. Para la biología celular de la infección viral, la célula es la unidad funcional y estructural de la infección, siendo clave para entender la interacción virus-célula, pero sin desmantelar molecularmente los eventos. Para ello se usan líneas celulares estables, sobreexpresando proteínas fluorescentes de compartimientos celulares, que pueden ser seguidas mediante imagenología de células vivas.

Objetivo general. Generar una línea celular estable sobreexpresando proteínas fluorescentes residentes de mitocondrias, para realizar estudios de Biología celular de la infección viral.

Metodología. La línea celular Vero con proteínas mitocondriales fluorescentes fue obtenida, mediante lipotransfección de plásmidos recombinantes y selección con G-418 y FACs sorting.

Se probaron diferentes métodos de preservación/fijación celular: Paraformaldehído (PFA) en PBS, buffer de citoesqueleto con sacarosa (CBS), y Metanol-Acetona, porque se requería evidenciar la conservación, de organelos subcelulares y elementos del citoesqueleto, imprescindibles en un abordaje científico como el presente.

Stock viral DENV-2 fue obtenido en células C6-36, para estudiar dinámica de crecimiento sincronizado en células Vero, para definir los puntos del ciclo vital decisivos, para la imagenología de células vivas infectadas, usando microscopio confocal de disco giratorio (Olympus IX-81-DSU) con cámara CCD-Hamamatsu y el software de imágenes Xcellence.

Resultados. La línea celular obtenida, expresa mitocondriales fluorescentes en rojo, de manera estable en tiempo y con sucesivos pases. De los 3 tratamientos de preservación/fijación el que mejor preservó las diferentes estructuras celulares fue PFA en CBS. Se determinan las diferentes etapas del ciclo replicativo del virus, y durante la fase de eclipse se observa un cambio en el patrón de distribución mitocondrial.

Conclusiones. La generación de líneas celulares recombinantes para estudiar la biología celular de la infección viral es un método idóneo, pues sobre-expresando proteínas fluorescentes mitocondriales, hay cambios en la distribución subcelular de mitocondrias, inducido durante la infección del virus.

*Grupo de Medicina Molecular y de Traslación, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

TLP89. La investigación científica en dengue: evaluación bibliométrica de las contribuciones de la literatura colombiana

Alfonso J. Rodríguez-Morales*, Andrés García-Cuevas*, Christian David Arroyave*

Introducción. El dengue es un importante problema de salud en Colombia (116,5 casos/100.000 hab., 2008), por lo cual se requiere intensificar más acciones en salud y en investigación.

Objetivo general. Realizar una evaluación bibliométrica de las contribuciones de la literatura colombiana sobre dengue para determinar el nivel de producción en la materia.

Metodología. Estudio bibliométrico en las bases MEDLINE/GOPUBMED (1809-2012), Scopus (1959-2012), SCIELO (2004-2012) y Redalyc (1969-2012). Se incluyen todos los tipos de estudios, caracterizándolos por años, cooperación internacional (CI), ciudad de origen (COP), revista de publicación (RP) y autores con mayor contribución (AMC).

Resultados. En MEDLINE se encontraron 136 artículos (1,24% del total; 2,92/1.000.000 hab.) (55,1% en 2008-2012, promedio $15 \pm 4,3$ /año). La CI se observó en 29,4%. Instituciones de Bucaramanga, Bogotá, Medellín y Barranquilla publicaron 50,74% de los artículos; 16,91% en Biomédica, 14,7% en Revista de Salud Pública y 6,62% en Am J Trop Med Hyg. En MEDLINE el AMC es F. Díaz-Quijano (Bucaramanga). En Scopus los resultados son similares ($n=157$, 1,09%). El h index de Colombia en dengue es $h\text{ index}=17$. Se recibieron 1513 citas. El artículo más citado es Rico-Hesse et al. *Virology* 1997;230(2):244-251 (353 citas, 23,3% de todas las citas de artículos colombianos). En SCIELO sólo existen 87 registros (de 1175, 7,40%) y en Redalyc solo 62.

Conclusiones. La producción científica en dengue en Colombia es baja, no solo al compararla con países desarrollados (EUA, 4,65 artículos/1.000.000 hab.) sino con otros en Latinoamérica incluso de menor incidencia como Paraguay (34,7 casos/100.000 hab., 2008) pero con productividad 1,08 veces mayor (3,15 artículos/1.000.000 hab.). Mayor fomento de la investigación, una mayor interacción entre organismos públicos y privados, así como mayor cooperación académica e internacional, podrían permitir disminuir dichas brechas, incrementar la publicación y la aplicación de dichos conocimientos contribuyendo a mejorar la epidemiología y otros aspectos de la enfermedad.

*Grupo de Investigación SIDA y Otras Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

TLP90. Hallazgos clínicos y de laboratorio de una serie de pacientes con diagnóstico presuntivo de dengue. Quindío, Colombia

Carlos Rodríguez*†, Jhon Castaño*, Delia Recalde*, María González*, Juan Gallego‡

Se realizó un estudio prospectivo de casos con diagnóstico presuntivo de Dengue durante los meses de enero a julio del año 2013. Previo consentimiento informado se tomó datos clínicos y muestra de sangre venosa, se realizó diagnóstico mediante pruebas rápidas para: Dengue NS1, IgG/IgM (SD, Bioline), HbsAg (SD, Bioline), Leptospira IgG/IgM (SD, Bioline), Malaria AgP.f/Pan (SD, Bioline), y paraclínicos como: cuadro hemático, Proteína C Reactiva, bilirrubinas, transaminasas. Muestras positivas para dengue se les realizó clasificación clínica, aislamiento en células C6/36HT, plaqueo viral en células BHK-21 y RT-PCR para serotipificación del DENV infectante que circula en el departamento.

Se presentaron 148 casos, el 60% consultaron los primeros 5 días empezado el cuadro febril, 55% masculinos, 45% femeninos. Los síntomas más frecuentes fueron: fiebre 96,53%, cefalea 48,97%, mialgias 42,07%, artralgias 39,3%, los menos frecuentes: melenas 4,8%, hematemesis 4,8%, ictericia 1,41%. Hubo trombocitopenia, leucopenia y hemoglobina baja, proteína C reactiva alterada en 55,17%, bilirrubinas 61,27%. Transaminasas alteradas principalmente en muestras con dengue. Diagnósticos: Dengue: los resultados indican que solo un 43,24% de las muestras fueron positivas para dengue (3 casos NS1; 2 NS1/IgM; 3 NS1/IgG; 19 NS1/IgM/IgG; 33 IgM/IgG; 22 IgG, un caso IgM con IgG Leptospira); de estos 68,2% sin signos de alarma (81,39% con infección previa), 23,8% con signos de alarma (80% presentaron infección secundaria), 9,5% dengue-grave (todos con segunda infección). 3% requirieron manejo en UCI y la letalidad de la presente serie de casos fue del 1,5% relacionada con dengue. 5 aislados plaquearon en células BHK-21. RT-PCR positiva antes del quinto día de enfermedad, encontrando a la fecha DENV 2, DENV 3 y DENV 4. Leptospira: 4,5% de las muestras (40% fatales). Malaria: 0,67% de las muestras, (un caso con IgG dengue). HBsAg: 0,67% de las muestras (un caso, con IgG dengue). Hepatitis B: 0,67% de las muestras. Del total el 51,35% de las muestras con enfermedad febril fueron negativas a todas las pruebas diagnósticas Dengue, Malaria, Hepatitis B, Leptospira.

La presentación clínica del Dengue en el departamento del Quindío está acorde a lo reportado en otras latitudes. Se evidenció co-circulación de virus dengue de los serotipos 2, 3 y 4. Solo el 43,24% de los casos presuntivos se confirmaron como verdaderas infecciones por virus dengue, lo que demuestra que los criterios médicos sin un diagnóstico adecuado conllevan a errores en el manejo hospitalario del consultante. En los casos de dengue se logró evidenciar un aumento sobre los valores normales de las transaminasas.

*Grupo de Inmunología molecular (GYMOL) Universidad del Quindío, Armenia, Quindío. †Grupo de Inmunovirología Universidad de Antioquia Medellín, Colombia. ‡Contacto: carodriguez@uniquindio.edu.co

TLP91. Diagnóstico de *Enterovirus* por PCR en tiempo real y tipificación mediante secuenciación de regiones VP-1 y 5' UTR

Silvana Ifrán^{*§}, Silvana Pereyra^{*}, Susana Boschi^{*}, María Noel Zubillaga^{*},
Mónica Cappetta^{*}, Rosario Uriarte^{*}, Ricardo Recarey[†], Juan Cristina[‡], Rodney Colina[‡]

Los *Enterovirus* son un grupo de agentes virales que habitan en el intestino, siendo los responsables de enfermedades en humanos. Están comúnmente implicados en meningitis y miocarditis agudas. El género *Enterovirus* pertenece a la familia *Picornaviridae*. El genoma ARN, simple hebra de polaridad positiva, se compone de 7500 nucleótidos. Existen más de 90 serotipos de *Enterovirus* humanos, agrupados en 4 especies principales (A-D).

En el laboratorio de la Asociación Española, desde 1998 se han utilizado diferentes técnicas de diagnóstico de dichos agentes, tales como hibridación, RT-nested PCR y desde hace unos años PCR en tiempo real. Esta última nos ha conducido a reducir notablemente los tiempos de diagnóstico.

Está descrito que casos de meningitis por *Enterovirus* Humano (EVH) ocurren frecuentemente en verano u otoño. Ello coincide con nuestros hallazgos de laboratorio donde la presencia del genoma de *Enterovirus* fue demostrada a partir de muestras de LCR en pacientes con diagnóstico clínico de encefalitis o meningitis. También hemos encontrado casos positivos desde el comienzo de la primavera y otros en forma esporádica en los meses de junio-julio. Los resultados de este estudio mostraron: en el año 2010, 14 LCR positivos en 157 casos totales (14+/157); año 2011 (4+/93) y año 2012 (25+/163).

El trabajo en conjunto con el laboratorio de la Regional Norte Facultad de Ciencias, nos ha permitido identificar cuales serotipos se encuentran circulando en la población. Mediante la secuenciación de la región VP-1 se identificaron varios serotipos circulando en el período 2005-2010: E4, CVB2, CVB4, CVA9. En el corriente año, la Regional Norte se encuentra trabajando en la tipificación de los casos positivos desde el año 2010 en adelante.

En suma: el diagnóstico de *Enterovirus* por PCR en tiempo real junto con la tipificación de los EVH circulantes, son fundamentales en la rápida orientación clínica y epidemiológica.

*Laboratorio de Biología Molecular, Asociación Española Primera de Socorros Mutuos, Montevideo, Uruguay. †Laboratorio de Virología Molecular CIN, Facultad de Ciencias-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ‡Laboratorio de Virología, Regional Norte-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. §Contacto: siltyifran@adinet.com.uy

TLP92. Clinical Clearance after Applying Autologous Hemolimmunotherapy in a High Risk Human Papilloma Virus Carrier Woman with Uterine Cervical Dysplasia. A Case Report based on Comparative Virology

Ricardo Andrés Roa-Castellanos^{*}

A 31 years old woman, smoker since her 17, mother of a 4 years old child, after having 5 months of continuous uterine bleeding is diagnosed, at colposcopy, with inflammatory papilloma. Histopathology evaluation is performed on an abnormal acetic-white epithelium revealing a low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) that concurs with cytopathic changes induced by Human Papilloma Virus (HPV) along with symptoms worsening. Two samples were taken for biopsy and PCR –*Amplicon*[®] HPV- was carried out twice to differentiate diagnosis. Lab results showed Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)-II and genomic presence of carcinogenic high risk HPV strain(s) endemic for the country (types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 58 & 59). IL-10 has been found increased in women with LSIL. By the same token, Th1 cytokines known as IL-2 and IL-12 are deficiently produced by cancer and CIN tissues. It is proved that IL-10 is up-regulated in CIN patients. This impaired immune response, created by some viruses (retroviridae and papilloma families) along their physiopathology, seems to promote cancer progression also for other neoplasms. On the other hand, Autologous Hemotherapy (AH) has been useful for integument diseases like herpetic infections, atopic dermatitis and scleroderma. It stimulates innate immunity by means of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) through Th1 eliciting factors such as TNF-alpha currently involved in fibrinolysis. Systemic levels of monocytes, for instance, augment up to 22% during the following week once self blood is injected to patients. Informed consent was signed for the patient in order to be submitted to intramuscular AH. After initial 3 administrations, chronic hemorrhage ceased. This therapy was complemented with using of a commercial vaccine. Four months post-treatment initiation, colposcopy and PCR were run again. Tissues revealed normality. PCR developed three times after treatment was negative even one year after therapy. Uterine Cervical Cancer (UCC) is the most frequent cancer in Colombia for female population. Its adjusted disease prevalence oscillates around 36,8 by 100.000 inhabitants. Mortality only in Bogotá DC, showed 366 deaths per year due to this cause. At the extent, this is the first cause of death for women between 25 to 69 years old. This situation is similar in other developing countries.

*MSc (c) on Virology, Universidad Complutense de Madrid; Diego De La Torre MD-Pharmaceutical Chemist UNal, Bogotá DC, Colombia.

TLP93. Máster Oficial en Virología de la Universidad Complutense de Madrid

Ricardo Roa Castellanos*†, Esperanza Gómez-Lucía*

El Máster en Virología está coordinado por la UCM conjuntamente con la Universidad Politécnica de Madrid, y por la Sociedad Española de Virología (SEV). Persigue el objetivo de formar profesionales de la Virología en sus diferentes ámbitos y disciplinas. El Máster cuenta con el apoyo implícito de instituciones públicas y privadas de investigación, incluyendo al Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Agropecuarias (INIA), el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), y el Centre de Recerca en Sanitat Animal de Catalunya (CRESA). Esta nutrida participación, junto con la colaboración de numerosos profesores, asegura la completa formación teórica y práctica de los alumnos. De hecho, una de las características del Máster es que cada tema es impartido por el máximo especialista español del mismo, lo que, aunque suponga un gran esfuerzo de coordinación, redundará indudablemente en la calidad del mismo. Consta de cuatro asignaturas obligatorias (en las que se aprende sobre los virus, sus características, su estudio, su relación con el hospedero, y sus aplicaciones) y se han de elegir tres asignaturas que definen los itinerarios de Virología Humana, Virología Veterinaria, y Virus de Plantas. Además hay una asignatura optativa de Investigación en Virología y otra de Virus de Microorganismos. Más información en www.ucm.es/mastervirologiaucm/

*Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid (UCM) 28040 Madrid - España. †Contacto: duato@ucm.es

TLP94. Angiomatosis bacilar y linfoma de Hodgkin en un paciente VIH/SIDA de Sincelejo, Sucre, Colombia. Reporte de caso y revisión de la literatura

Willmer Willamil-Gómez*, Edgar Parra*, Lia Jiménez*, Fredy Baleta Rivera*, Elizabeth Monterroza Carriazo*, Jhon Torres Vanegas*, Alfonso J. Rodríguez-Morales*

La angiomatosis bacilar es una infección oportunista característica de los pacientes con inmunosupresión severa, como ocurre en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Sus manifestaciones clínicas son muy variadas, pudiendo afectar cualquier área corporal y siendo comúnmente asociado a linfadenopatías locales. Cuando las lesiones angioproliferativas comprometen órganos internos, como el hígado o el bazo, se habla de peliosis bacilar o peliosis hepática, considerada como una complicación de la angiomatosis bacilar. Su presentación conjuntamente con neoplasias o linfomas es infrecuente, aún en pacientes con SIDA. Caso: Se trató de un paciente masculino de 45 años de edad, con 4 años con diagnóstico de infección por VIH (cuenta de CD4: 400 células/mm³ y CV indetectable en tratamiento con Efavirenz 600 mg VO día, Tenofovir 1 tableta cada 24 horas), procedente y residente en Sincelejo, Sucre, Colombia, cuadro clínico de 4 meses de evolución de evolución caracterizado por fiebre (38,9°C) acompañada de deposiciones líquidas, adenopatías cervicales, adinamia, anorexia. Ingresó con Hb 5,8 g/dl, leucocitos 4200/mm³, 15,2% de linfocitos y 78,8% de granulocitos. Clínica e imagenológicamente se evidencia hepatoesplenomegalia. PCR para VHB y VHC negativos. Se realiza biopsia hepática que sugiere hepatitis crónica. A nivel cervical presenta masa cervical región lateral, de la cual se toma muestra de biopsia. A la biopsia se realiza PCR para *Mycobacterium tuberculosis* que resulta negativa. En el tejido se aprecian numerosas células de aspecto histiocítico y epitelioides con formación de pseudogranulomas, hay esporádicas células gigantes multinucleadas, histiocitos vacuolados e hiperplasia endotelial capilar, también se reconoce población linfoide intersticial residual de aspecto maduro. La tinción de Warthin Starry permite observar esporádicos microorganismos con forma de bacilos intracelulares, sugestivos de angiomatosis bacilar. En el tejido cervical se observan también hallazgos morfológicos sugestivos de Enfermedad de Hodgkin. Se inició tratamiento de la angiomatosis bacilar con eritromicina 500 mg cada 8 horas por 3 meses. El paciente evolucionó favorablemente, con regresión progresiva de síntomas en pocos días. Discusión: La angiomatosis bacilar es una enfermedad poco frecuente, secundaria a la infección por dos especies de bacilos Gram negativos del género *Bartonella*: *Bartonella henselae* y *Bartonella quintana*. Su patogenia se relaciona con una proliferación vascular anómala, que afecta principalmente piel y linfonodos. Fue descrita por primera vez en pacientes infectados con el VIH, siendo frecuente en etapas avanzadas, con recuento de linfocitos CD4 <200 células/mm³, aunque también se han reportado casos en pacientes inmunocompetentes. Es importante sospechar esta enfermedad en pacientes con cuadros clínicos sugerentes.

*Hospital Universitario de Sincelejo, Sincelejo, Sucre, Colombia. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. Clínica Santa María, Sincelejo, Sucre, Colombia. Grupo de Investigación SIDA y Otras Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

TLP95. Virópolis: un juego para aprender más sobre virología

R. Roa Castellanos*, E. Gómez-Lucía*, L. Benítez†, M. Blanco*, M.T. Cutuli*, A. Doménech*,
R. Flores‡, J. García-Costa§, J. Quer||, J. Romero**, A. Talavera††

Jugando a Virópolis los estudiantes aprenden lo que son los virus y las enfermedades que producen, su tratamiento, diagnóstico y prevención, y disfrutan conociendo más sobre los mismos, sin olvidar que los virus también pueden ser manipulados para estudiar diferentes fenómenos biológicos, o ser utilizados como vehículos vacunales. Para conseguir este objetivo, profesores de la Universidad Complutense de Madrid e investigadores virólogos hemos desarrollado un juego de ordenador, con pruebas objetivas de autoevaluación. En el juego, de estructura similar al Monopoly, hay que proteger a una Comunidad (“Virópolis”) de las infecciones víricas. Para ello hay que fundar hospitales, laboratorios, empresas farmacéuticas y organizaciones de control y prevención de enfermedades víricas humanas, animales y de plantas. La dinámica está pensada para varios jugadores, que avanzan por un tablero virtual distribuido en casillas según el número que indique un dado virtual. Al comenzar, los jugadores disponen de un número de puntos, que van incrementando o perdiendo a medida que transcurre el juego. Las casillas consecutivas están agrupadas de tres en tres, con temática similar. Los temas son “Enfermedades víricas humanas”, “Enfermedades víricas animales”, “Enfermedades víricas de plantas”, “Investigación”, “Diagnóstico”, “Antivirales y vacunas”, y “Prevención y control”. Los jugadores ven de forma inmediata si la pregunta ha sido respondida correctamente, junto con una explicación adicional que aclara la solución. Gana el que más puntos alcance. Se ha elaborado un número elevado de preguntas (más de 300) para que haya pocas probabilidades de que a lo largo de cada partida se repitan y la mayoría de ellas ofrecen información adicional. Las preguntas son de diferentes tipos tales como respuesta múltiple, verdadero-falso, emparejar cartas, relacionar las opciones de dos columnas, completar esquemas, o completar rompecabezas. Se puede jugar en la página <http://www.cbm.uam.es/sev/>

*Departamento de Sanidad Animal, Fac. Veterinaria – UCM. †Departamento de Microbiología III, Fac. CC. Biológicas – UCM. ‡Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (UPV-CSIC), Valencia. §Centro Hospitalario Cristal Piñor, Orense. ||Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona. **Laboratorio de Virología Vegetal, Departamento de Protección Vegetal, INIA, Madrid. ††Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, Cantoblanco, Madrid. Contacto: duato@ucm.es

TLP96. Climate change and its impact on viral diseases

Alfonso J. Rodriguez-Morales*

Climate change, defined as a shift of climate which is attributed directly or indirectly to human activity that alters the composition of global atmosphere and which is in addition to natural climate variability observed over comparable time periods, is associated with a considerable number of variations in multiple environmental conditions that can be induced by anthropogenic factors. This lead to multiple impacts on the human society. In the context of the multiple impacts that climate change can pose in the World and the society, growing evidence include direct and indirect influences on human health. Good health of the population depends in large magnitude of the delicate balance or interaction between ecological, physical and socioeconomical systems of the biospheres. From last two decades, climate changes impact on infectious diseases, has been recognized as one of the major threats in human and animal health. However in the scope of them, impact of climate change on viral diseases has been considerably neglected. Although these emerging conditions are very prone to increase due to shifts in the distribution and behavior of vectors and animal species, which indicates that biologic systems are already adapting to ecological variations, more research is still necessary to fully understand their interacting roles as well how control them. Among the diseases impacted by climate change, particularly vector-borne and zoonotic viral diseases are susceptible to be modified their epidemiological patterns. Recent studies in South East Asia, Africa and Latin America have evidenced significant impacts of climate change on dengue, yellow fever, Rift Valley fever, St. Louis encephalitis, Japanese encephalitis, Murray Valley encephalitis, Ross River virus, West Nile virus, among many others. Probably many other viral diseases should be listed, but more studies are necessary to evidence the impact of climate change on these viruses. Finally, developing appropriate models we furtherly be able to generate early warning systems and better epidemiological surveillance systems for such diseases incorporating climatic data to prevent and mitigate their effects.

*MD, MSc, DTM&H, FRSTM&H(Lon), FFTM RCPS(Glasg), PhD(c). Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.