

---

#### **IMAGEN ORIGINAL DE LA CUBIERTA**

Imagen de la Cápside el Virus de la Hepatitis E modelada 3D con el software de gráficos moleculares Qtemol<sup>®</sup> y VMD<sup>®</sup>. La imagen fue creada a partir de las coordenadas del Protein Data Bank (PDB id: 2ZTN) en la base de datos Viperdb. El Virus de Hepatitis E se compone de sesenta subunidades que forman la cápside icosaédrica con una simetría T=1. Datos originales de la cristalografía de rayos X: Yamashita T, Mori Y, Miyazaki N, Cheng RH, Yoshimura M, Unno H, Shima R, Moriishi K, Tsukihara T, Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y. Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106 (31):12986-91.

#### **CORTESÍA**

Jean-Yves Sgro, Ph.D.

Institute for Molecular Virology, University of Wisconsin-Madison, United States of America.



# Revista **HECHOS** **Microbiológicos**

## Suplemento

Memorias del IV Simposio Nacional de Virología

Publicación Científica Oficial

Escuela de Microbiología - Universidad de Antioquia

Volumen 1 – Número 2 – Suplemento 1 – Noviembre – 2011

<http://www.udea.edu.co/hm>



**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**  
1 8 0 3





UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA  
1803



#### **RECTOR**

Alberto Uribe Correa

#### **VICERRECTOR GENERAL**

Martiniano Jaime Contreras

#### **VICERRECTOR DE DOCENCIA**

Óscar Sierra Rodríguez

#### **VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

Rubén Alberto Agudelo García

#### **VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN**

Jairo Humberto Restrepo Zea

#### **VICERRECTORA DE EXTENSIÓN**

María Elena Vivas López

#### **SECRETARIO GENERAL**

Luquegi Gil Neira

#### **DIRECTORA**

Liliana Marcela Ochoa Galeano

#### **SUBDIRECTORA**

Gladys García Restrepo

#### **JEFE DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN**

Diana Escudero Cardona

#### **JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN ACADÉMICA**

Lida Arias Marín

#### **COORDINADOR DE EGRESADOS**

Paola Andrea Acevedo Toro

#### **COORDINADORA DEL PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA**

Hortensia Vásquez Camargo

#### **COORDINADOR DEL SISTEMA DE CALIDAD**

María Esperanza Arenas Hernández

#### **COORDINADOR DEL LABORATORIO DOCENTE ASISTENCIAL E INVESTIGATIVO**

Julio César Fernández Chica

#### **COORDINADOR DEL LABORATORIO IPS UNIVERSITARIA CLÍNICA LEÓN XIII**

Óscar Omar Gaviria Cortés

#### **COORDINADOR DEL BANCO DE SANGRE IPS UNIVERSITARIA CLÍNICA LEÓN XIII**

Grisel Amparo Vásquez Builes

#### **COORDINADOR DE POSGRADOS**

Juan Álvaro López Quintero

#### **COORDINADOR DE BIENESTAR UNIVERSITARIO**

Olga Cecilia Estefan Upegui

#### **COORDINADOR DE RELACIONES INTERNACIONALES**

Laura Castañeda Sandoval

#### **COORDINADORA DE PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA Y BIOANÁLISIS**

Mónica María Cortés Márquez

#### **COORDINADORA DE PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL**

Ricardo Velasco Vélez

#### **GESTORA DE EMPRENDIMIENTO**

Gladis del Socorro García Restrepo

#### **ASESOR FINANCIERO**

Alfredo García Quintero

#### **COMUNICADOR SOCIAL**

Gabriel Jaime González Flórez



# Revista **HECHOS** Microbiológicos

### **DIRECTOR**

Leonardo Alberto Ríos Osorio, BSc., Esp., PhD.

### **SUBDIRECTOR CIENTÍFICO**

Ángel González Marín, BSc., MSc., PhD.

### **SUBDIRECTOR EDITORIAL**

Juan Carlos Gómez Hoyos, MD., Esp.

### **SUBDIRECTORA ADMINISTRATIVA**

Diana Escudero Cardona, BSc., MSc.

### **COMITÉ EDITORIAL**

Liliana Marcela Ochoa Galeano, BSc, MSc.

Luz Elena Cano Restrepo, BSc., MSc., PhD.

Beatriz Lucía Gómez, BSc., PhD.

Jhon Carlos Castaño Osorio, MD., MSc., PhD.

Jorge Enrique Gómez Marín, MD., MSc., PhD.

Luis Miguel Gómez Osorio, MV., MSc.

Ángela María Arango Rave, BSc., MSc.

### **COMITÉ CIENTÍFICO**

Agostinho Joao Romalho de Almeida, PhD. (Portugal)

Leonardo Martín Pérez, MSc., PhD. (Argentina)

Jordi Morató Farreras, PhD. (España)

Gabriel Antonio Trueba, MV., MSc., PhD. (Ecuador)

Fidel Ángel Nuñez Fernández, Esp., PhD. (Cuba)

Ana María Cepero García, MSc., PhD. (Colombia)

Luis Raymond Sarmiento Pérez, MSc., PhD. (Cuba)

### **ASESORA CIENTÍFICA**

Ángela Restrepo Moreno, PhD.

### **DISEÑADORA GRÁFICA**

Diana Cecilia Molina Molina

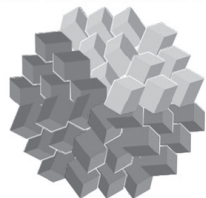
### **COMUNICADOR SOCIAL**

Gabriel Jaime González Flórez, CSP, Esp.

### **AUXILIAR ADMINISTRATIVO**

Yesenia Valencia Rodríguez

Red Colombiana de



Virología

### PATROCINADORES

Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia  
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia  
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia  
Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia  
EcosNord-Colciencias-Universidad de Antioquia  
Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET  
Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá- TWAS.  
Universidad El Bosque-Colciencias  
Université Paris Diderot-Institut Jacques Monod  
University of Maryland  
US Naval Medical Research Unit 4, Peru  
Instituto Tecnológico Metropolitano  
Asociación Colombiana de Infectología-Junta Directiva Nacional.  
A&M Ltda  
Annar Diagnostica Import  
Biología Molecular Ltda  
Bristol Myers Squibb  
Gentech  
Medellín Convention & Visitors Bureau

### COMITÉ ORGANIZADOR

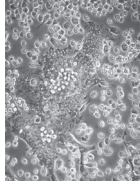
Marlén Martínez Gutierrez. Universidad de Antioquia. Medellín.  
Fabián Cortés Mancera. Universidad de Antioquia. Medellín.  
Julián Ruiz Sáenz. Universidad de Antioquia. Medellín.  
María Cristina Navas. Instituto Tecnológico Metropolitano. Medellín.

### COMITÉ CIENTÍFICO

Raquel Ocazonez. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.  
Jaime Castellanos. Universidad El Bosque. Bogotá.  
Juanita Ángel. Universidad Pontificia Bolivariana. Bogotá.  
Mónica Guzmán. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.  
Juan David Rodas. Universidad de Antioquia. Medellín.  
Andrés Páez. Instituto Nacional de Salud. Bogotá  
Oscar Oliveros. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.  
Gloria Ramírez Nieto. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.  
Jairo Méndez. Instituto Nacional de Salud. Bogotá.

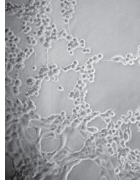
### APOYO LOGÍSTICO

Diana Carolina Quintero Gil



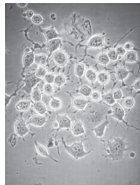
### **EDITORIAL - PÁGINA 11**

Células C6/36 (Derivadas *Aedes albopictus*) infectadas con virus dengue serotipo 1. Se observa el efecto citopático caracterizado por la formación de un sincitio. Cortesía de Luisa Arbeláez y Diana Carolina Quintero. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET. Universidad de Antioquia. 2011.



### **TRABAJOS LIBRES - PÁGINA 15**

Cultivo de células MDBK inoculadas con Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1). Se observa el efecto citopático característico de la Infección. Cortesía de Julián Ruiz-Saenz. Grupo de Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Colombia. 2010.



### **CONFERENCIAS MAGISTRALES - PÁGINA 57**

Neuronas CAD-R1 infectadas con virus dengue serotipo 2. Cortesía de Xiomara Gutierrez y Carolina Hernández. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET. Universidad de Antioquia. 2011.

©2011 por la Universidad de Antioquia. Reservados todos los derechos. Los conceptos y las opiniones expresadas en cada artículo son responsabilidad exclusiva del autor. Ni la Universidad de Antioquia, ni el equipo editorial, se hacen responsables del uso de la información aquí publicada, ni de los resultados que se obtenga con ella.

La revista Hechos Microbiológicos es la publicación científica oficial de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia. Se publica en formato digital e impreso con periodicidad semestral. Su misión es difundir los conocimientos científicos relacionados con la práctica y los procesos en Microbiología y Bioanálisis, y de otras disciplinas afines con las áreas de la salud, la industria, el ambiente y la educación en Microbiología. Busca mantener una vía de intercambio de conocimientos y experiencias con disciplinas que tengan su centro de acción en la investigación básica y aplicada.

#### **PÚBLICO OBJETIVO**

Esta publicación está dirigida a todos los profesionales de la salud con interés en la Microbiología, el bioanálisis y sus aplicaciones básicas, clínicas, ambientales e industriales. Adicionalmente, sirve a los estudiantes y profesionales de la salud cuya formación involucre, directa o indirectamente, conceptos de la Microbiología.

#### **OBTENCIÓN Y REPRODUCCIÓN DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS EN HECHOS MICROBIOLÓGICOS**

Los artículos pueden obtenerse mediante la suscripción a la versión impresa o de manera gratuita, con previo registro, a través de la versión digital en: <http://www.udea.edu.co/hm/>

#### **REVISTA HECHOS MICROBIOLÓGICOS**

Publicación semestral  
Escuela de Microbiología  
Universidad de Antioquia  
Volumen 1 - Número 2 - Suplemento 1 – Noviembre - 2011

#### **ISSN**

2145-8898

#### **NOMBRE ABREVIADO**

Hechos Microbiol.

#### **IMPRESIÓN Y TERMINACIÓN**

Legis S.A.

#### **CANJES**

Universidad de Antioquia, Biblioteca Central  
Calle 67 #53-108, Bloque 8, Teléfono +57 (4) 2195148  
Selección y adquisición, canje y donación  
Contacto: William Giovanni Zuluaga Serna  
[canjebc@biblioteca.udea.edu.co](mailto:canjebc@biblioteca.udea.edu.co)

#### **CORRESPONDENCIA**

Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología  
Calle 70 # 52 - 72, Piso 6, Oficina 606, Teléfono: 2195482  
Centro de Investigación y Extensión  
[hechosmicrobiologicos@gmail.com](mailto:hechosmicrobiologicos@gmail.com)  
<http://www.udea.edu.co/hm>  
Medellín, Colombia

## CONTENIDO

### EDITORIAL

#### IV Simposio Nacional de Virología: Un esfuerzo mancomunado

11

Marlén Martínez, Fabián Cortés Mancera, María Cristina Navas, Julián Ruiz Sáenz

### TRABAJOS LIBRES

15

Comité Organizador del IV Simposio Nacional de Virología

### CONFERENCIAS MAGISTRALES

57

Comité Organizador del IV Simposio Nacional de Virología

## ÍNDICE DE AUTORES

Adalucy Álvarez Aldana.....	30	Carolina Lopez Uran.....	42
Adrian Farias.....	29	Carolina Quintero Gil.....	28, 50, 53
Adriana Delfraro.....	58	Catalina Villa Sanchez.....	40
Adriana O'Byrne.....	23	Christian M. Probst.....	58
Akio Kanaï.....	34	Cinthy Jimenez.....	17
Alan Rothman.....	19	Clara Berron.....	46
Alba Cotes Prado.....	43, 47	Claudia Duarte Dos Santos.....	58, 60
Alba Marina Cotes.....	47	Consuelo Santamaria.....	23
Alba Téllez.....	47	Cristian Guzmán Santofimio.....	48
Alberto Fereres Castiel.....	50	Cristian Zuleta Zuluaga.....	56
Alberto Laguna-Torres.....	49, 60	Cyntia Vasquez.....	58
Alejandra Botero Zapata.....	40	Daicy García.....	29
Alejandra Giraldo.....	27	Daniel Miranda-Esquivel.....	17, 52
Alejandro Martínez.....	35	Daniela Vanegas-Otálvaro.....	53
Alexander Uribe Yepes.....	50, 53	David Espinal.....	49
Alfonso Casas Martínez.....	26	David Tate.....	43
Almazán F.....	18, 32	Dean Erdman.....	38, 39
Amanda Mejía.....	45	Diana Álvarez Espejo.....	31
Ana Arango Restrepo.....	49	Diana di Filippo Villa.....	24
Ana Low-Calle.....	31, 32	Diana Giraldo Giraldo.....	22
Ana Luiza P. Mosimann.....	58	Diego Alvarez.....	17, 18, 32
Anais Castellar Martínez.....	55	Dioselina Peláez.....	35, 55
Anamaria Arrunategui.....	23	Doris Salgado García.....	19
André Báfica.....	58	Efraín Alvarez.....	42
Andrea Trujillo-Correa.....	33, 52	Eicke Latz.....	28
Andrés Castillo.....	21, 45	Elizabeth Gil.....	47
Andrés Londoño Barbarán.....	54	Elkin Galeano.....	35
Andres Paez Martinez.....	49	Eric Halsey.....	49
Andres Velasco-Villa.....	49	Esteban Arroyave Sierra.....	54
Andrés Visintin.....	46	Esteban Lopera Maya.....	44
Ángela Martínez-Betancur.....	26	Esteban Marín.....	50, 53
Ángela Zapata.....	40	Fabián Cortes Mancera.....	19, 22, 24, 25
Anne-Lise Haenni.....	59	Fanny Guzmán.....	42
Anngie Hernández Guzmán.....	37	Fanor Mejía.....	25
Antonio Caruz Arcos.....	40	Félix Delgado.....	33, 34
Antonio Jose Reyes.....	23	Fernando García-Arenal Rodríguez.....	50
Arianis Ramírez Pineda.....	41	Fernando Medina.....	25
Armando Baena.....	23, 40, 41, 42, 44	Fernando Venezuela.....	29
Armando Cortez.....	23	Flor Pujol.....	19, 22
Arnold Zea.....	43	Florencia Meyer.....	58
Astrid Bedoya.....	40, 41, 43, 44	Francisco Díaz.....	25, 27, 28, 50, 53, 54
Astrid Rios.....	25	Fredy Rojas.....	43
Aurora Fraile Perez.....	50	Fredyc Díaz Castillo.....	23, 33, 41, 52
Ayda Ortiz-Báez.....	52	Fulgencio Espejel.....	56
Beatriz Lopera.....	25	Gabriel Andres Giraldo.....	42
Berta Restrepo Jaramillo.....	30	German Osorio.....	23
Carlos Córdoba.....	43, 44	Gina Castiblanco.....	26
Carlos Espinel Correal.....	36, 43, 47	Giovanni Chaves-Bedoya.....	51, 56
Carlos Guerrero.....	42	Gloria Barrera Cubillos.....	36, 47, 48
Carlos Medina Londoño.....	24	Gloria Cardona.....	18, 32
Carlos Montoya.....	24	Gloria Corredor.....	45
Carlos Moreno Velandía.....	47	Gloria Ramirez.....	31, 51
Carlos Narváez Rojas.....	19, 20, 44	Gloria Rey.....	27, 38, 39
Carlos Sierra.....	44	Gloria Sanchez.....	23, 40, 41, 42, 43, 44
Carmen Loureiro.....	22	Gonzalo Batallán.....	46
Carolina Arboleda.....	45	Gonzalo Correa Arango.....	25
Carolina Echeverri.....	41	Guilherme F. Silveira.....	58
Carolina Hernández.....	23, 26, 35, 41	Gustavo Cuello.....	23

Harold Cuello.....	23	Maria Angelica Calderon.....	24
Harry Greenberg .....	19, 20	María Duarte Rodríguez.....	29
Helene Norder.....	19, 22	María E Sepúlveda Hincapié.....	25
Henry Puerta-Guardo.....	25	María González.....	27
Hernando Estrada Pacheco .....	40	María González.....	36
Homer Corrales Aldana.....	55	María Gutierrez.....	42, 47
Homero San Juan Vergara .....	48	María Guzmán Barney.....	37
Irene Correa.....	25	María Hoyos.....	25
Isabel Rodríguez.....	17	María Navas Navas.....	19, 24, 25
Isabelle Chemin.....	59	María Patricia Arbeláez4.....	25
Ivony Agudelo Salas.....	30	María Rugeles López.....	40, 45
Jaime Castellanos.....	18, 20, 24, 26, 31, 32, 33, 34, 37, 38	María Velásquez López.....	25
Jaime Lopera-Madrid .....	18, 32	Mario Ardila.....	55
Jairo Jaime .....	31, 51	Marisol Pérez.....	33
Jairo Méndez .....	38, 39, 55	Marisol Uribe .....	22
Jairo Rodríguez Rodríguez .....	19	Marlén Martínez-Gutierrez .....	23, 26, 28, 33, 35, 41, 50, 52, 53
Jane Ríos.....	49	Marta Contigiani.....	29, 46
Javier Jaimes-Olaya .....	31	Marta Ospina.....	19, 28, 50
Jazmín Murcia Garzón .....	48	Martha Vega Gutierrez.....	19
Jeanette Prada-Arismendy.....	20, 31, 32	Mary Uribe Rios.....	41, 42, 44
Jennifer Buitrago Cuellar.....	20	Mauricio Borrero.....	43
Jessica Beltrán .....	20	Mayra Téllez.....	47
Jhon Castaño.....	27, 36	Miguel López Ferber.....	43, 47
Johanna Arroyave Ospina.....	19, 22	Milían Pacheco .....	29
Johanna Rodríguez.....	55	Moises Carrascal Medina.....	23, 33, 41, 52
Jorge Castaño.....	41	Mónica Betancourt Vásquez.....	50, 56
Jorge Castillo Ramírez .....	27	Mónica Gaviria Calle .....	41
Jorge Cerón Pérez .....	48	Muhammad Anwar .....	21
Jorge Donado.....	49	MWim Quint.....	23
Jorge Osorio.....	28, 30, 50	Myriam Velandia .....	18, 24, 37
Jose Usme-Ciro.....	18, 32	Nadia Gutiérrez.....	42
Jovanny Zabaleta.....	43	Natalia Campillo-Pedroza.....	21, 34
Juan Carlos Restrepo Gutierrez .....	25	Nathalia Cardona Chorro.....	29
Juan Castrillón Betancur .....	46	Ningguo Feng.....	20
Juan Gallego-Gomez.....	17, 18, 21, 32, 34, 36	Nora L Yepes Palacio.....	25
Juan Hernández.....	22, 28	Norma Coluchi.....	58
Juan Hernández Vela.....	56	Nubia Muñoz.....	23
Juan Ludert .....	25	Olga Lucía Chavarro.....	20
Juan Olarte.....	22	Olga Rojas Vasquez.....	44
Juan Rodas González .....	54	Olivier Thomas .....	35
Juan Sepúlveda Arias .....	30	Orozco-García E.....	18, 32
Juan Ulloa .....	42, 47	Oscar Oliveros Garay .....	54
Juana Angel Uribe.....	19, 20, 44	Paola Cuartas Otálora .....	36, 47, 48
Judith Guevara Agudelo .....	36	Paola Pulido.....	38, 39
Julia Pérez Jiménez .....	55	Patricia Olaya-García.....	53
Julian Ruiz-Saenz .....	51	Pedro Blanco Tuirán .....	55
Juliana Barbosa.....	38, 39	Piedad Agudelo-Flórez.....	54
Juliana Duque Rodriguez.....	30	Raquel Ocazonez Jiménez .....	17, 52
Juliana Gómez Valderrama .....	36, 43, 47	René Pareja .....	43
Juliano Bordignon.....	58	Ricardo Alcála Briceño .....	56
Julio Cesar Reina.....	23	Roberto Jaramillo.....	23
Julio Rendón Londoño .....	24, 25	Rolando Herrero .....	43
Kahori Takane.....	34	Rosa Del Angel .....	25
Karen Vega Guerrero .....	47	Ruth Arboleda Pulgarín .....	40
Katherine Quintero .....	23, 41, 42, 44	Ruth Ramírez .....	30
Lady Contreras Gómez.....	35	Sandra Carmona Gutiérrez .....	56
Lady Gómez Duque.....	56	Sara Robledo-Restrepo .....	33, 52
Laura Flórez Sampedro.....	45	Sergio Jaramillo .....	49
Laura Silva.....	51, 56	Sergio Jaramillo Velasquez .....	25
Laura Tauro.....	29, 46	Silvana Levis.....	54
Laura Villamizar Rivero.....	36, 43, 47, 48	Silvia Barrientos Sánchez .....	26
Leidy Bastidas.....	18	Silvio Urcuqui Inchima .....	22, 28, 46
Leidy Piedrahita Espinosa .....	30	Sonia Ampuero .....	49
Leonardo Padilla.....	27, 36	Sonia Bohórquez Ávila .....	26
Leonor Correa.....	25	Steven Arroyo Mejía.....	55
Lercy Álvarez.....	55	Suminori Akiba.....	21, 45
Liliana Franco-Lara .....	37	Susana Ruiz.....	51
Lina Marín-Gallón .....	26	Teresa Peret .....	38, 39
Lina Orozco Marín.....	45	Victor Flórez García .....	40, 41, 44
Lina Orrego.....	26	Victor Quiroz .....	54
Lisandro Pacheco Lugo.....	48	Victor Vera Alfonso.....	31, 51
Lorena Spinsanti.....	29	Viviana Camelo.....	54
Lucelly Ríos.....	25	Viviana RÉ.....	46
Lucía Rocha.....	55	Viviana Rodríguez.....	47
Luis Rodríguez.....	58	Walter Almiron.....	46
Luis Sarmiento.....	27	Wbeimar Aguilar-Jiménez.....	40
Luisa Arbeláez García.....	28, 35, 41, 50, 53	Wildeman Zapata Builes .....	40, 45
Luz Gordillo Alarcón.....	54	Wilson Ríos Ocampo .....	24
Luz Rodríguez Camacho.....	19, 44	Xavier Léry.....	43, 47
Manuel Franco Cortés .....	19, 20, 44	Yaneth Estepa Avellaneda.....	35
Marcel Marín- Villa.....	26	Yirys Diaz Olmos.....	48
Marco Guevara Vega.....	55	Yoshito Eizuru .....	21, 45
Margarita Insuasty Enriquez.....	24		



The background of the page is a grayscale microscopic image showing a dense population of cells, likely from a tissue section. The cells are mostly rounded and contain internal structures like nuclei and organelles. On the left side of the image, there is a prominent, thick, light blue wavy graphic that curves from the top to the bottom of the page. The word "Editorial" is centered in the middle of the page in a bold, blue, sans-serif font.

# Editorial





## IV Simposio Nacional de Virología: Un esfuerzo mancomunado

Marlén Martínez<sup>\*†</sup>, Fabián Cortés Mancera<sup>‡§</sup>, María Cristina Navas<sup>§</sup>, Julián Ruiz Sáenz<sup>||</sup>

“There is an intrinsic simplicity of nature and the ultimate contribution of Science resides in the discovery of unifying and simplifying generalization, rather than in the description of isolated situation-in the visualization of simple, overall patterns rather than in the analysis of patchworks”  
Luria's Credo, 1955

La Universidad de Antioquia se complace en abrir sus puertas para la realización del IV Simposio Nacional de Virología. Damos la más cordial bienvenida a este evento, que será el espacio ideal para debatir, conceptualizar y repensar el estatus actual de la Virología en Colombia. La participación de destacados conferencistas nacionales e internacionales e investigadores y estudiantes de pre y posgrado de las principales ciudades del país, es un garante del excelente nivel académico del encuentro, además de ser prueba del fortalecimiento de la comunidad de investigadores cuyo objeto de estudio son las diferentes áreas de la Virología.

El programa del evento fue construido con base en los resúmenes sometidos al comité científico. Estos trabajos originales representan los resultados de proyectos de investigación de más de 250 autores de importantes instituciones académicas y gubernamentales a lo largo y ancho del territorio colombiano; y por primera vez el Simposio Nacional de Virología cuenta con la participación de investigadores extranjeros como ponentes de trabajos originales, hecho que ratifica la importancia y la trascendencia de la realización de este evento científico y académico.

El principal reto para la comunidad de Virólogos que participará en el evento es sin duda la consolidación de redes de trabajo, para así lograr establecer convenios y proyectos en conjunto que permitan el avance técnico y científico de los grupos de investigación. Adicionalmente, trabajar en la participación en las políticas de salud, prevención y erradicación de enfermedades causadas por virus. Y de esta manera convertir el Simposio Nacional de Virología como el evento más relevante de la investigación en Virología en el país.

Invitamos a todos y cada uno de los participantes del IV Simposio Nacional de Virología a trabajar en el fortalecimiento de la investigación en Virología en Colombia y en la región, a la discusión académica y colaboración científica, al establecimiento de redes y lo más importante a lograr que este esfuerzo mancomunado trascienda en la calidad de vida de nuestra población.

Muchas gracias a todos por vincularse de una u otra forma a este evento y bienvenidos de nuevo a Medellín.

\*Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada. Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia. †Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET. Universidad de Antioquia. ‡Grupo Synergia. Instituto Tecnológico Metropolitano. §Grupo de Gastrohepatología. Universidad de Antioquia CENTAURO. ||Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Antioquia.



The background of the slide is a grayscale microscopic image showing a complex network of biological cells. The cells are interconnected, with some appearing as small, rounded clusters and others as larger, more elongated structures. A prominent blue shape, consisting of two curved, overlapping bands, is positioned on the left side of the slide, partially overlapping the microscopic image. The text 'Trabajos libres' is centered in the middle of the slide, overlaid on the microscopic image.

## **Trabajos libres**





## TL01. Análisis filogenético del virus del dengue tipo 4 del oriente de Colombia

Cinthy Jiménez\*, Daniel R. Miranda-Esquivel†, Raquel E. Ocazionez Jiménez‡

**INTRODUCCIÓN.** Existen 4 serotipos del virus del dengue (DEN-1, 2, 3 y 4) y cada uno corresponde a una población de cepas agrupadas en varios genotipos. La cocirculación de genotipos y la resurgencia de linajes distintos de alguno de ellos son factores que favorecen el mantenimiento en la naturaleza de cada serotipo del virus del dengue. En Colombia, el dengue es altamente endémico y se reconoce la circulación de los cuatro serotipos. En el Departamento de Santander el VDEN-4 fue el serotipo que menos se aisló entre los años 1998 y 2008; pero entre el 2000 y 2001 y nuevamente en el 2004 fue el segundo más predominante. En los otros años no se detectó. Se desconoce la estructura genética de la población del VDEN-4 en Colombia y por lo mismo es difícil inferir sobre los factores determinantes del mantenimiento del virus.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar las relaciones filogenéticas y la divergencia genética del virus del dengue tipo 4 que circuló en el oriente de Colombia en el período entre los años 2000 y 2004.

**METODOLOGÍA.** Se secuenciaron 10 cepas de los departamentos de Santander y Norte de Santander del gen E (gen codificador de la envoltura viral), las cuales fueron seleccionadas del banco del Laboratorio de Arbovirus (CINTROP-UIS) y, junto a 249 secuencias disponibles de este gen en la base de datos del GenBank, se realizó un alineamiento. Posteriormente se reconstruyeron las relaciones filogenéticas bajo el criterio de Parsimonia, Análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, y se determinaron las distancias genéticas.

**RESULTADOS.** Los resultados mostraron que el VDEN-4 se agrupa en 4 genotipos (I, II, III y selvático) con clados fuertemente conservados y tendencias de agrupamiento geográfico. Las cepas colombianas se agruparon en el genotipo II, igual que cepas de países de América; estrechamente relacionadas con cepas de Venezuela, Puerto Rico y México; y distantes a cepas de Brasil. Adicionalmente, se identificó una agrupación distinta entre cepas de los dos departamentos. Con respecto a las de Santander, las de los años 2000 a 2001 formaron un linaje diferente a las cepas aisladas en el año 2004, ya que a pesar de encontrarse en el clado junto con cepas de Venezuela se forman grupos diferentes por temporalidad.

**CONCLUSIONES.** Sólo un genotipo estuvo presente en la población del VDEN-4 del oriente colombiano del período entre los años 2000 y 2004. La resurgencia de un linaje distinto podría haber contribuido al segundo período de predominancia del virus y, como resultado, a su permanencia en la región. La ruta Puerto Rico-Venezuela parece ser una vía de entrada del virus a Colombia.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Filogenética. Fenotipos.

\*Universidad Industrial de Santander. †Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP). ‡Laboratorio de Sistemática y Biogeografía (LSB). Contacto: raqueocacaz@gmail.com

## TL02. Muerte celular inducida por la proteína viral NS4B del virus dengue en cultivos celulares

Isabel C. Rodríguez\*, Diego A. Álvarez\*, Juan C. Gallego-Gómez\*

**INTRODUCCIÓN.** Los diferentes eventos desencadenados durante una infección viral pueden defender al hospedero, pero también amplificar la replicación y dispersión viral, con repercusiones en la gravedad de la enfermedad.

A la proteína NS4B del Virus Dengue (DENV), se le ha asignado un rol en la respuesta mediada por interferón (IFN), obstaculizando la fosforilación de STAT1 e interrumpiendo la transcripción de genes responsables del estado antiviral de la célula. Por otro lado, además de potencializar la replicación del virus, NS4B también está relacionada con la secreción de IL-6, IL-8, IP-10 y IFN $\gamma$ , marcadores característicos del dengue grave. Ensayos previos en nuestro laboratorio, muestran que la expresión de NS4B en células Vero, a las 48 horas postranfección (hpt) desencadena muerte celular. Estos antecedentes hacen de NS4B un candidato ideal para dilucidar los mecanismos relacionados con la patología grave del dengue y un potencial biomarcador que permita diagnóstico temprano de las formas graves.

**OBJETIVO GENERAL.** Dilucidar el papel de la proteína NS4B en la biología del DENV y su posible relación en la inducción de muerte celular.

**METODOLOGÍA.** Se clonó el gen que codifica la proteína NS4B del dengue, en dos sistemas de expresión eucariota, los cuales expresan la proteína recombinante con GFP y con una etiqueta de FLAG. Se transfectaron células Vero y Huh-7 con los diferentes plásmidos recombinantes, 48 y 72 horas postranfección las células fueron fijadas en paraformaldehído al 3,8% en buffer de citoesqueleto. Posteriormente se realizaron inmunofluorescencias, marcando con fluoróforos: actina, microtúbulos y la etiqueta de Flag, todo se realizó en condiciones preservantes del citoesqueleto. Adicionalmente se realizaron registros de células en vivo con la proteína unida a GFP, a diferentes intervalos de tiempo. Se tomaron fotos de 30 campos de tres repeticiones de cada inmunofluorescencia para determinar estadísticamente la muerte celular en cultivos celulares, posteriormente se realizó citometría de flujo para determinar el tipo de muerte celular evaluando diferentes marcadores.

**RESULTADOS.** En cultivos celulares a las 24 hpt hay expresión de la proteína recombinante NS4B-EFGP, a las 48 hpt se observaron núcleos compatibles con apoptosis, y a las 72 hpt el número de células muertas se incrementa. Este comportamiento es similar entre células tranfectadas con los dos tipos de constructos (NS4B-EFGP y NS4B-FLAG). Se espera determinar qué tipo de muerte está induciendo esta proteína, por citometría de flujo fuera del contexto de infección, y sus posibles interacciones con proteínas hospederas.

**CONCLUSIONES.** Nuestros resultados en el modelo *in vitro* sugieren la proteína NS4B estimula la muerte celular, lo cual podría ser extrapolable a un mecanismo de muerte celular durante la infección por DENV. Posiblemente este mecanismo esté relacionado con dispersión viral o estrategias para evadir la respuesta inmune, lo cual contribuye al desarrollo de formas graves de la enfermedad. Esclarecer papeles adicionales de la proteína NS4B aportará conocimientos y herramientas para establecer una estrategia terapéutica eficaz en el bloqueo de la infección. Además, nuestros resultados suman evidencias para proponer esta proteína como un biomarcador, que permita un diagnóstico temprano de la enfermedad.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. NS4B. Infección. Muerte celular.

\*Viral Vector Core and Gene Therapy del Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Contacto: juanc.gallegomez@gmail.com

### TL03. Diseño, construcción y evaluación de un cDNA infeccioso del virus dengue clonado en cromosoma artificial bacteriano bajo el control de un promotor eucariota

Usme-Ciro JA\*, Lopera-Madrid JA\*, Orozco-García E\*, Álvarez-Díaz DA\*, Cardona-Gómez GP\*, Almazán F†, Gallego-Gómez JC\*

**INTRODUCCIÓN.** Los clones infecciosos de diversos virus RNA se han convertido en una importante herramienta en virología desde los años noventa. Sin embargo, en la construcción de tales clones, se han utilizado tradicionalmente plásmidos estándar de bajo número de copias y cromosomas artificiales de levadura, en los cuales se advierte gran inestabilidad de los genomas clonados, generando rearrreglos y pérdida de la capacidad para replicarse. En los últimos años, los cromosomas artificiales bacterianos (BAC) han permitido superar dicha limitación, al facilitar la clonación estable de grandes genomas como el de los coronavirus (aprox. 30 kb). La construcción de clones infecciosos de diversos flavivirus como el Virus Kunjin (KUNV), Virus de la Encefalitis Transmitida por Garrapatas (TBEV), Virus del Nilo Occidental (WNV), Virus de la Encefalitis Japonesa (JEV), Virus de la Fiebre Amarilla (YFV) y Virus Dengue (DENV), ha permitido dilucidar gran parte de su biología, no solamente la función de las diferentes proteínas virales en el ciclo replicativo, sino también su interacción con elementos celulares.

**OBJETIVO GENERAL.** Diseñar, construir y evaluar un clon infeccioso del Virus Dengue serotipo 2 en BAC, bajo el control transcripcional del promotor eucariota de Cytomegalovirus (CMV).

**METODOLOGÍA.** Para la clonación estable del genoma completo del DENV, se usó el sistema BAC (pBeloBAC11). Por medio de PCR y PCR solapante se fusionó el promotor CMV con el extremo 5'-UTR del DENV. Del mismo modo se fusionó el extremo 3'-UTR del DENV con la secuencia de ribozima (RZ) del Virus de la Hepatitis Delta y las señales de terminación y poliadenilación del gen de la Hormona de Crecimiento Bovina (BGH). El genoma viral se dividió en cuatro segmentos, los cuales fueron clonados independientemente, secuenciados y posteriormente ensamblados en una misma molécula. Paralelamente se llevó a cabo la inserción del gen reportero EGFP como proteína de fusión del gen de la envoltura, el cual permitirá el seguimiento de las partículas virales infecciosas en las diferentes etapas de su ciclo infeccioso en ensayos *in vitro* e *in vivo*. Para la evaluación del clon infeccioso se utilizó RT-PCR en tiempo real, *Western Blot*, inmunofluorescencia e imagenología de células vivas (LCI).

**RESULTADOS.** Previo a la obtención del clon infeccioso (pBAC-DENV-FL) se generaron los clones intermedios pBAC-CMV-DEN2 5', pBAC-DENV1385-4701 y pBAC-DENV4702-8834, los cuales fueron secuenciados y posteriormente ensamblados mediante pasos secuenciales de subclonación (pBAC-CMV-DEN2 5'-3'-BGH y pBAC-DENV-First). El genoma completo clonado se introdujo en células Vero, mediante transfección y varios pases ciegos realizados para facilitar el rescate del virus. Por otro lado, para la inserción del gen reportero EGFP, se generaron los clones intermedios pBAC-NS1/3, pBAC-ENV-NS1/3 y pBAC-ENV-GFP-NS1/3. Este último fue subclonado en la región correspondiente de pBAC-DENV-FL, generando pBAC-DENV-FL-GFP.

**CONCLUSIONES.** Los clones infecciosos se convierten en una oportunidad única para evaluar el efecto sobre la replicación y propagación (virulencia) de mutaciones presentes en cepas naturales, aportando nueva información sobre el potencial epidémico de las diferentes cepas y la gravedad de la enfermedad.

**PALABRAS CLAVES.** cDNA infeccioso. Virus dengue. Cromosoma artificial bacteriano. Genética reversa.

\*Viral Vector Core and Gene Therapy, Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, SIU, Universidad de Antioquia. †Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC Darwin, Campus Universidad Autónoma, Cantoblanco, Madrid – España. Contacto: jnanc.gallegomez@gmail.com

### TL04. La neuroinfección experimental *in vivo* con el virus dengue D4MB-6 induce cambios en la expresión de TNF alfa, IL-10 y MCP-1

Myriam L. Velandia\*, Leidy Y. Bastidas\*, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** Cada vez y con mayor frecuencia se reportan manifestaciones neurológicas en pacientes diagnosticados con dengue o dengue severo, sin embargo no se conocen los mecanismos que favorecen la infección y los daños estructurales y funcionales del sistema nervioso durante la infección. Recientemente hemos desarrollado un modelo de neuroinfección *in vivo* por virus dengue para estudiar la neuropatología de la infección.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar los cambios en la expresión (mRNA y proteína) de TNF-alfa, IL-10 y MCP-1 durante la neuroinfección experimental por dengue en ratones de diferentes edades.

**METODOLOGÍA.** Grupos de 8 a 10 ratones Balb/C de 2, 7, 14 y 21 días de edad se inocularon intraperitonealmente con virus dengue neuroadaptado (D4MB-6). A los 6 días postinfección los animales se sacrificaron, se homogenizó el cerebro y se purificaron RNA y proteínas solubles para cuantificar por PCR en tiempo real los diferentes mRNA para mediadores inmunes y por citometría de flujo empleando un inmunoensayo basado en perlas (BD™ CBA Cytometric Bead Array).

**RESULTADOS.** En ninguno de los animales de los grupos control (sin infección o virus inactivado) se detectaron las citocinas, aunque se encontraron niveles basales de MCP-1 de 150 pg/mL. En las cuatro edades evaluadas se encontró significativamente aumentada la expresión del mRNA para TNF-alfa, IL-10 y MCP-1, comparados con sus respectivos controles. De igual forma se observó que la expresión de cada una de las proteínas aumentó significativamente en todos los grupos, aunque con variaciones debidas a la edad y el estado del desarrollo de los animales infectados.

**CONCLUSIONES.** La expresión de TNF-alfa, IL-10 y MCP-1 en los animales infectados varió según la edad, lo cual puede estar asociado al desarrollo inmune y neurológico de los animales; por lo tanto, el aumento en la expresión de estos mediadores en el tejido nervioso sugiere un papel importante en la respuesta inmune local y evidencia la encefalitis causada por el virus neuroadaptado.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue virus. Neuroinfección. Neuropatología.

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Contacto: mlvelandiaro@gmail.com

## TL05. Detección del virus GB tipo C en individuos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana

Johanna C. Arroyave Ospina\*†, Marta C. Ospina Ospina‡, Helene Norder§, Flor H Pujol||, María C. Navas Navas†, Fabián M. Cortés Mancera\*†

**INTRODUCCIÓN.** El virus GB tipo C (GBV-C), inicialmente llamado virus de la hepatitis G, pertenece a la familia *Flaviviridae*. Diversos estudios epidemiológicos evidencian una alta tasa de coinfección del GBV-C (14% al 45%) con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), asociándose con un mejor pronóstico de los pacientes, con mayores recuentos de linfocitos CD4+, menor carga viral (HIV) y menor progreso a sida. En Colombia no existen datos sobre la infección por el GBV-C en esta población de pacientes.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la presencia del virus GBV-C en muestras de plasma de pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

**METODOLOGÍA.** Un total de 19 muestras de plasma de pacientes HIV confirmados se recolectaron en el Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia entre febrero y agosto del año 2011. A partir de estas muestras, se hizo la extracción del ARN viral (Qiamp Viral RNA Kit, Qiagen), y mediante RT-PCR se realizó la amplificación de la región NS5A-NS5B del GBV-C; para confirmar el estado de coinfección, los productos amplificados fueron sometidos a secuenciación directa. Después del ensamble y edición de las secuencias (SeqMan) se realizó el alineamiento de las mismas utilizando herramientas Bioinformáticas (BLAST; Clustal).

**RESULTADOS.** Del total de muestras analizadas, en 4/19 (21%) se logró detectar el genoma del GBV-C; con el análisis bioinformático de las secuencias obtenidas se pudo confirmar la coinfección, al determinarse una alta homología con secuencias prototipos disponibles en GenBank. En los estudios de coinfección GBV-C/HIV reportados, se observa que el porcentaje varía según la distribución geográfica, encontrándose RNA del GBV-C entre el 14% y el 45% de los pacientes infectados con HIV. En el caso de Brasil y Argentina se han reportados frecuencias entre el 24% y el 13,5%, respectivamente.

**CONCLUSIONES.** El presente trabajo corresponde al primer reporte de Coinfección del GBV-C en población de pacientes HIV en Colombia; es necesario secuenciar otras regiones del genoma como E2 y 5' UTR para determinar el genotipo infectante del GBV-C en las muestras estudiadas. Actualmente nuestro grupo está desarrollando una aproximación *in vitro* que pretende evaluar la existencia de interacción viral directa entre estos dos virus.

**PALABRAS CLAVES.** GBV-C. HIV. Coinfección. Genotipo.

\*Grupo de Investigación e Innovación Biomédica SINERGLA, Instituto Tecnológico Metropolitano, Institución adscrita a la Alcaldía de Medellín. †Grupo de Gastropatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ‡Sección de Virología, Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia. §Departamento de Virología, Instituto Sueco para el Control de Enfermedades Infecciosas (Smittdydsinstitutet, SMI), Solna, Suecia. ||Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela. Contacto: [fabiancortes@itm.edu.co](mailto:fabiancortes@itm.edu.co)

## TL06. Caracterización de las células secretoras de anticuerpos totales y específicas inducidas por la infección con virus dengue en niños y su asociación con la severidad

Doris M. Salgado García\*, Martha R. Vega Gutiérrez\*, Jairo A. Rodríguez Rodríguez\*, Luz S. Rodríguez Camacho†, Juana Ángel Uribe‡, Manuel A. Franco Cortés‡, Alan L. Rothman‡, Harry B. Greenberg§ y Carlos F. Narváez Rojas\*

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es una enfermedad febril asociada a vector causada por la infección con el virus dengue (VD) y responsable de 21,000 muertes en el mundo anualmente. Los anticuerpos (Ac) cumplen un papel dual: Ac neutralizantes homotípicos han sido propuestos como mecanismo protector crítico contra la infección. Por otro lado, la presencia de Ac heterotípicos no neutralizantes se considera un factor de riesgo para sufrir formas severas de la enfermedad. Aunque los Ac séricos en niños con dengue han sido extensamente estudiados, las características de las células secretoras de anticuerpos (CSA) inducidas por VD son desconocidas. El estudio de las CSA podría identificar características de la inmunidad contra el serotipo actualmente infectante a diferencia del análisis clásico de los Ac en suero, en el cual hay acumulados Ac generados en infecciones pasadas.

**OBJETIVO GENERAL.** Caracterizar a las CSA circulantes totales y específicas de VD inducidas por la infección natural y su asociación con la severidad clínica en niños.

**METODOLOGÍA.** Niños de entre 1 mes y 14 años se clasificaron en 3 grupos de acuerdo con los criterios de la OMS: i. Niños con dengue sin signos de Alarma. ii. Niños con dengue y signos de alarma. iii. Niños sanos. A los niños infectados se les tomó muestra de sangre en fase aguda y convalescente y se aislaron las células mononucleares de sangre periférica. Las CSA fueron detectadas por ELISPOT de dos colores y para identificar CSA VD-específicas se usó proteína E recombinante de los 4 serotipos en el ELISPOT. Para comparar, células circulantes totales con el fenotipo de plasmablastos fueron identificados por citometría de flujo. La tipificación viral se realizó por RT-PCR convencional.

**RESULTADOS.** Se encontró que el 85% de los niños padecieron una infección secundaria y en el 45% de los casos se logró tipificar el VD con una frecuencia mayor de VD-3 >VD-2 >VD-1 >VD-4. El pico en el número de CSA totales y específicas en niños infectados fue al 5 día de iniciada la fiebre y el isotipo predominante fue la IgG. La infección con VD indujo un incremento de 15 a 100 veces en la frecuencia de CSA totales y una mediana (rango) del 35% (16-75) de las CSA que circulaban eran VD-específicas. Durante la fase aguda de 3 niños infectados con un serotipo identificado previamente, se probó la reactividad de las CSA a las proteínas E recombinantes de cada uno de los 4 serotipos por separado, encontrándose una alta reactividad cruzada para todos los casos. No existió diferencia en la frecuencia de CSA totales o VD-específicas entre niños clasificados como dengue sin o con signos de alarma.

**CONCLUSIONES.** La infección con VD induce un fuerte respuesta de CSA totales y específicas de isotipo IgG, con un pico al 5 día del inicio de la fiebre. Se identificó una alta reactividad cruzada de las CSA entre el serotipo actualmente infectante y los otros 3 serotipos circulantes.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue, Células secretoras de anticuerpos (CSA), ELISPOT.

\*Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia. †Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. ‡University of Rhode Island, Providence, U.S.A. §Stanford University, Stanford, U.S.A. Contacto: [cfnarvaez@usco.edu.co](mailto:cfnarvaez@usco.edu.co)



## TL07. Evaluación del valor diagnóstico de la detección de NS1 en pacientes con dengue agudo

Jeanette Prada-Arismendy\*, Jenniffer A Buitrago Cuellar†, Jessica Beltrán‡, Olga Lucía Chavarro‡, Jaime E Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es endemo-epidémico en Colombia y gran parte de nuestra población está en riesgo. Uno de los principales problemas en el manejo del dengue es la dificultad para distinguir tempranamente este arbovirus de otras causas de síndrome febril agudo, ya que la enfermedad presenta un cuadro clínico de evolución variada e inespecífica, por lo cual se hace indispensable contar con herramientas diagnósticas rápidas y efectivas. De rutina, se realiza la detección de IgM específicos en el suero agudo, aunque esta prueba tiene baja sensibilidad en los primeros 3 días de fiebre (0% al 50%) aunque aumenta después del cuarto día de evolución. Para la confirmación de los casos se recomienda hacer aislamiento viral, RT-PCR, detección de antígeno viral, o ambos, en el suero, que tienen mayor sensibilidad pero son más costosas y requieren personal especializado y equipos de mayor complejidad. Sin embargo, para evitar o disminuir la presentación de complicaciones propias de la enfermedad, se requiere un diagnóstico oportuno.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar las pruebas de laboratorio IgM específica y detección del antígeno viral NS1 como herramientas para la confirmación de casos probables de dengue.

**METODOLOGÍA.** Se determinó la presencia de la proteína no estructural NS1 del virus del dengue mediante el uso del kit Pan-E (Pan-Bio) en suero de pacientes que contaban previamente con prueba de ELISA para IgM, realizado en el Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca entre los meses de enero y agosto de 2010. Estas muestras pertenecían a 88 pacientes que habían consultado por síndrome febril agudo en el departamento de Cundinamarca. Se seleccionaron las muestras, de tal manera que la mitad fuera IgM dengue específica positiva y la otra mitad no lo fuera.

**RESULTADOS.** El análisis permitió dividir las muestras en tres grupos: En el primero se encuentran los casos confirmados de dengue agudo, en el que hay 38 muestras con una prueba positiva de ELISA para NS1, aunque 15 de ellas fueron negativas en el ensayo de IgM. Todas estas pertenecían a pacientes que habían consultado antes del quinto día de enfermedad. En el segundo grupo los pacientes con diagnóstico negativo para dengue, en el que se encontraron 28 muestras con pruebas negativas de ELISA para NS1 e IgM y se clasificaron como síndrome febril agudo de etiología desconocida. Entre estos dos primeros grupos (casos confirmados frente a casos negativos) se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de *rash*, diarrea y leucopenia. Finalmente, en el tercer grupo, se encontraron 23 muestras con diagnóstico indefinido ya que fueron negativas para NS1, pero positivas para IgM, lo que no permite hacer un diagnóstico preciso, por la ausencia de la prueba en muestras convalecientes.

**CONCLUSIONES.** La prueba de detección de la proteína no estructural NS1 de virus del dengue tiene un gran valor diagnóstico en los tres primeros días de inicio de la fiebre en pacientes con sospecha de dengue agudo permitiendo así un diagnóstico y tratamiento oportunos en comparación con la prueba de ELISA para IgM cuya mayor utilidad está después del quinto día de inicio de la fiebre, lo cual deja por fuera al 25% de los pacientes positivos diagnosticados entre el primer y tercer día de inicio de los síntomas. Sin embargo, la prueba de IgM en muestra única, es empleada como método diagnóstico para dengue en los laboratorios de salud pública, por lo tanto se requieren establecer estrategias adecuadas para el diagnóstico de esta enfermedad.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. Proteína NS1. ELISA.

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque. †Laboratorio de Salud Pública, Secretaría Departamental de Salud Cundinamarca. Contacto: castellanosjaime@unbosque.edu.co

## TL08. Papel de las células B de memoria IgM humanas en la respuesta inmune al rotavirus *in vivo*

Carlos F. Narváez Rojas\*†‡, Ningguo Feng‡, Harry B. Greenberg‡, Juana Ángel Uribe\* y Manuel A. Franco Cortés\*

**INTRODUCCIÓN.** Los rotavirus (RV) son importantes patógenos intestinales que causaban la muerte de 600.000 niños anualmente antes de la introducción de las vacunas. Aunque actualmente dos vacunas están disponibles, su eficiencia en países en vía de desarrollo, lugar en donde se concentra la mayor mortalidad por RV, ha sido cercana al 50%. Los linfocitos B (LB) juegan un papel central en el aclaramiento y la protección frente a la reinfección con RV. En el humano, la mayoría de los LB de memoria (LBm) RV-específicos están contenidos en los LBm IgM+IgD+, conocidos como LBm IgM. El origen, desarrollo y diferenciación de los LBm IgM es controversial y el papel de los LBm IgM RV-específicos en la respuesta inmune al RV *in vivo* se desconoce.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar el papel de las células B de memoria IgM humanas en la respuesta inmune al rotavirus *in vivo*.

**METODOLOGÍA.** LBm totales y RV-específicos fueron cuantificados en LB purificados o subpoblaciones de LB aisladas por FACS usando un ensayo de citometría de flujo (CF) multiparamétrica y por análisis de dilución límite (ADL) después de estimulación policlonal con un protocolo optimizado. La capacidad de diferenciación de los LBm IgM totales y RV-específicos a célula secretora de anticuerpos (CSA) IgM, IgG o IgA *in vitro* fue evaluada por CF, ADL y ELISPOT usando a los LB vírgenes y LBm conmutada (IgG+ o IgA+) como controles. Para determinar su papel en la inmunidad contra RV *in vivo*, LBm IgM humanos altamente purificados por FACS se transfirieron adoptivamente a ratones inmunodeficientes NOD/Shi-scid IL-2R $\gamma$ null infectados oralmente con RV murino virulento. La presencia de IgM, IgG e IgA humana total y RV-específica, además del nivel de Ag viral en suero y material fecal se evaluó por ELISA en varios tiempos postinfección.

**RESULTADOS.** Los LBm IgM tuvieron una menor capacidad de diferenciación a CSA en comparación con los LBm conmutada. Una fracción importante de los LBm IgM totales y RV-específicos hicieron cambio de isotipo a IgG *in vitro* (63% y 20%, respectivamente) y en menor medida a IgA (29% y 15%, respectivamente). De manera consistente, ratones NOD/Shi-scid IL-2R $\gamma$ null infectados con RV y transferidos adoptivamente con LBm IgM humanos, desarrollaron altos títulos de IgM e IgG en suero y controlaron significativamente el nivel de Ag de RV circulante, aunque en ellos no se modificó la cantidad de Ag en materia fecal, hecho que se asoció al poco paso de inmunoglobulinas humanas totales y RV-específicas a la luz intestinal.

**CONCLUSIONES.** Los LBm IgM tienen una menor capacidad de diferenciación a CSA que la subpoblación clásicamente definida de LBm conmutada. Los LBm IgM totales y RV-específicos humanos tienen el potencial de hacer conmutación de isotipo en especial a IgG *in vitro* e *in vivo* y pueden mediar en la inmunidad contra el virus. El estudio en detalle de esta particular subpoblación de LB es necesario para el desarrollo de nuevas vacunas contra RV.

**PALABRAS CLAVES.** Linfocitos B (LB). Rotavirus (RV). Linfocitos B de Memoria IgM (LBm IgM). Análisis de dilución límite (ADL).

\*Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. †Department of Microbiology & Immunology, Stanford University Medical School, Stanford, U.S.A. ‡Facultad de Salud, Programa de Medicina, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia. Contacto: cfnarvaez@usco.edu.co



## TL09. Detección del VPH en cánceres de la cavidad oral, la amígdala y el esófago, un estudio multigeográfico

Andrés Castillo<sup>\*†‡</sup>, Muhammad Anwar<sup>†</sup>, Yoshito Eizuru<sup>†</sup>, Suminori Akiba<sup>†</sup>

**INTRODUCCIÓN.** Recientemente, estudios moleculares y epidemiológicos han demostrado un papel etiológico del virus del papiloma humano (VPH) en un subconjunto de cánceres de las vías aero-digestivas superiores (UADT) en mujeres y hombres.

**OBJETIVO GENERAL.** En el presente estudio se examinaron muestras de bloques de parafina de cánceres de la lengua (N = 37), otras regiones de la cavidad oral (N = 34), y el esófago (N = 166) diagnosticados en Japón, Pakistán y Colombia.

**METODOLOGÍA.** El ADN viral se detectó usando la técnica de PCR con cebadores genéricos SPF10 que amplifican 65 pares de bases del gen L1. El VPH fue genotipificado usando el kit de INNO-LiPA HPV genotyping v2 kit (Innogenetics NV, Belgium). Posteriormente la técnica de PCR en tiempo real se usó para determinar el estado físico de los genomas virales como el número de copias de las partículas virales. Por último, se empleó la técnica de inmuno-histoquímica para relacionar la presencia de los virus con la presencia de proteínas involucradas con el ciclo celular, tales como p53 y p16.

**RESULTADOS.** HPV-16 fue el tipo de VPH más frecuentemente detectado en los tres países, y se detectó en 20 carcinomas de la lengua, 20 carcinomas de la cavidad oral distinta a los de lengua y 31 carcinomas de esófago. El VPH se detectó con menor frecuencia en carcinomas de esófago que en orales (P < 0,001). VPH-16 fue el único tipo de alto riesgo que se detectó en las muestras de cáncer oral. En carcinomas de esófago, aunque el VPH-16 se detectó con más frecuencia, otros tipos de VPH de alto riesgo, como el VPH-18, -45 y -51 también se detectaron. Las infecciones múltiples de diferentes tipos de VPH se encontraron en 13 carcinomas de esófago, pero no en cánceres orales. La diferencia entre los carcinomas de esófago y los orales con respecto a las frecuencias de infección múltiple fue estadísticamente significativa (p=0,001). Las medias geométricas de la carga viral para VPH-16 en el carcinoma de lengua, otros carcinomas orales y carcinomas de esófago fueron 0,03, 0,12 y 0,12 copias por célula, respectivamente. El genoma del VPH-16 se encontró integrado en el genoma del huésped, en todos menos en cuatro carcinomas de VPH-16-positivo. Además, se analizaron 21 muestras de bloques de parafina de cáncer de amígdala encontrando una infección positiva para VPH en la mitad de los casos, siendo el genotipo maligno VPH-16 el más prevalente sin confección de otros genotipos virales. Su carga viral fue elevada en comparación con los VPH que se detectaron en los otros sitios anatómicos estudiados, en donde su estado físico se integró predominantemente en el genoma del huésped. La expresión de las proteínas p53 o p16INK4a no se vio afectada por la presencia de VPH en los carcinomas orales, ni de amígdala, ni de esófago. No hubo una predisposición de variante gene *E6* del VPH-16 por un particular tipo de carcinoma.

**CONCLUSIONES.** La infección con el tipo de alto riesgo VPH-16 es el genotipo más prevalente de los genotipos de VPH detectados en la mayoría de los cánceres orales. Por lo tanto, la vacuna profiláctica en contra del VPH-16 podría ser útil para prevenir el cáncer oral si la vacuna es capaz de prevenir la infección oral por VPH. Así, estos resultados han creado nuevas oportunidades potenciales para la prevención primaria del cáncer oral.

**PALABRAS CLAVES.** Virus del papiloma humano. Carcinogénesis. Carcinomas de células escamosas. Tracto aerodigestivo superior.

<sup>\*</sup>Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Valle, Cali-Colombia, <sup>†</sup>Division of Oncogenic and Persistent Viruses, Center for Chronic Viral Diseases, <sup>‡</sup>Department of Epidemiology and Preventive Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima-Japan. Contacto: andresg76@hotmail.com

## TL10. Ecología del paisaje, dengue y el mar de Caña de María

Juan C. Gallego-Gómez\*, Natalia Campillo-Pedroza\*

**INTRODUCCIÓN.** Desde los años noventa, la ecoepidemiología ha sido la aproximación científica novedosa para abordar enfermedades infecciosas en un contexto supuestamente ecológico. Sin embargo, revisando diversos trabajos, no existen muchos datos ecológicos con distribución y abundancia de organismos, asumiéndose que la alteración ambiental es motivo de emergencias virales. Intentando explicar una estasis evolutiva de genotipos del Virus Dengue (DENV), en la historia filogenética de nuestro país para dos serotipos distintos, se encontró que una aproximación historiográfica de fenómenos culturales podrían estar correlacionados con la llegada del DENV a Colombia a comienzos del XX.

**OBJETIVO GENERAL.** Explicar, mediante herramientas de los estudios sociales de la ciencia, el posible origen de datos experimentales encontrados en un repositorio histórico de DENV.

**METODOLOGÍA.** Partiendo de investigaciones propias sobre la historia filogenética del DENV en Colombia que se hicieron mediante análisis cladístico e inferencia bayesiana, respectivamente, se encontraron cepas del DENV cuyas secuencias nucleotídicas eran casi iguales a las ancestrales. Otros grupos externos de Brazil hallaron resultados bastante concordantes, suponiéndose que la probabilidad de una contaminación de laboratorio no era la explicación. Basados en criterios de filosofía de la ciencia, sobre explicaciones científicas acudiendo a terrenos entre-campos, se buscaron datos históricos coincidentes con el hallazgo de cepas DENV similares a las de Japón de principios del siglo XX. Suponiendo un hecho cultural de alteración de ecosistemas, se buscaron datos sobre alteraciones ecológicas, en la zona de la cepa japonesa del DENV que coincidiera con esos años. Con los pocos datos obtenidos se hizo una interpretación distinta de los hechos (aproximación historiográfica), que explicara fenómenos aparente disyuntos, el hallazgo de cepas del DENV iguales a las de hace unos 40 años, la perturbación del paisaje ecológico del Valle del Cauca y las emigraciones japonesas que empezaron en 1929.

**RESULTADOS.** Existen posiblemente asociaciones fuertes entre los hechos histórico-culturales, donde coinciden las cinco emigraciones japonesas, la industrialización del Valle del Cauca, la intervención y cambio del paisaje ecológico de humedales a cañaduzales, una de las primeras novelas románticas de Colombia y la llegada del DENV a Colombia empezando la década de los 1920.

**CONCLUSIONES.** Los estudios sociales de la ciencia o CTS (Ciencia, Tecnología y Sociedad), no sólo son útiles para que los humanistas investiguen sobre procesos científicos en el contexto cultural, sino que también podrían ser claves, como en el presente caso, en la explicación cultural de un fenómeno médico, como es el origen, llegada y dispersión del DENV en Colombia.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. Ecología del paisaje. Historia filogenética. Migraciones japonesas. CTS.

<sup>\*</sup>Viral Vector Core and Gene Therapy del Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquía. Contacto: juanc.gallegomez@gmail.com

## TL11. Evaluación de la expresión y función de los PRR en neutrófilos, estimulados con VIH-1 *in vitro*

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

**INTRODUCCIÓN.** Los polimorfos nucleares neutrófilos (PMNN) además de ser críticos en el desarrollo de la respuesta inflamatoria, expresan un número importante de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), tales como TLR, NLR y RLR. Los PRR reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), e inducen la expresión de citocinas proinflamatorias e interferón, contribuyendo al control de las infecciones y establecimiento de la respuesta adaptativa. Es muy poco lo que se conoce del papel de los PMNN a nivel de las infecciones virales, pero existe evidencia que indica que juegan un papel muy importante. Al estimular PMNN con virus influenza o con el virus sincitial respiratorio, conlleva a un incremento en la producción de citoquinas proinflamatorias; igualmente se ha observado que al estimularlos con poly(I:C) (RNA de doble cadena) induce la producción de INF $\alpha/\beta$  y citocinas proinflamatorias. En el caso de la infección por VIH-1 no se conoce muy bien el papel de los PMNN ante la infección; en particular, el efecto en la modulación de la expresión y función de PRR. Por tanto, es de vital importancia poder determinar el rol de los PMNN en la infección por VIH-1.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la modulación de la expresión y función de receptores de la inmunidad innata, receptores tipo toll-TLR y receptores tipo RNA helicasas-RLR, en neutrófilos estimulados, o no, con VIH-1 o componentes virales.

**METODOLOGÍA.** Una vez estandarizada la técnica, se lograron obtener neutrófilos con una pureza entre el 95% y 97% y una viabilidad mayor al 95%. Los neutrófilos fueron estimulados por 8 horas con sobrenadantes de células H9 infectadas crónicamente con VIH-1; con RNA viral, y proteínas Rev y gp160. El efecto de dichos estímulos se evaluó cuantificando la producción IL-6 por ELISA. En el caso del estímulo con proteínas se usó simultáneamente polimixina B, para inhibir posibles endotoxinas contaminantes.

**RESULTADOS.** Al estimular los neutrófilos con proteínas virales como Rev y gp160, se observó un incremento en la producción de IL-6; el mayor efecto se observó con gp160. Un resultado similar se observó cuando los neutrófilos fueron estimulados con RNA viral, o con sobrenadantes de células H9. En todos los casos, la producción de IL-6 se comparó con los controles sin estímulo o con sobrenadantes de células H9 sin infectar.

**CONCLUSIONES.** El conjunto de resultados obtenidos hasta el momento sugieren que los neutrófilos pueden jugar un papel importante en la infección por VIH-1, ya que al ser estimulados con el virus o con componentes virales como proteínas o el mismo genoma (RNA), conlleva a la producción de IL-1. Nuestro paso siguiente será determinar si receptores de la inmunidad innata como TLR y RLR, están o no implicados en mediar en el reconocimiento del virus o sus componentes y así poder determinar si los neutrófilos contribuyen o no en la inmunopatogénesis del VIH-1.

**PALABRAS CLAVES.** Neutrófilos. PRR. Inmunidad innata. VIH.

\*Grupo Inmunovirología, Sede de Investigación Universitaria, Medellín. Contacto: [diana2@gmail.com](mailto:diana2@gmail.com)

## TL12. Caracterización molecular de la infección por el virus de la Hepatitis B en donantes de sangre HBsAg negativo/Anti-HBc positivo

Johanna C. Arroyave Ospina\*<sup>†</sup>, Carmen L. Loureiro<sup>‡</sup>, Flor H. Pujol<sup>‡</sup>,  
Helene Norder<sup>§</sup>, Marisol Uribe<sup>||</sup>, Juan C. Olarte<sup>||</sup>, Fabián M. Cortés Mancera\*\*

**INTRODUCCIÓN.** La tamización de la infección por el virus de la hepatitis B (HBV) en donantes de sangre se basa en la determinación del antígeno de superficie (HBsAg), mediante la técnica de ELISA. Sin embargo, durante la Infección oculta por el Virus de la Hepatitis B (OBI), no hay detección de este marcador serológico a pesar de la presencia de ADN viral en suero o tejido hepático; anticuerpos contra la proteína Core del HBV (Anti-HBc) están presentes en el 80% de los casos de OBI, por lo que este marcador se está implementado para mejorar el cribado en los bancos de sangre. Actualmente, no están claros todos los factores virales y del hospedero implicados en OBI, sin embargo se cree que mutaciones en el gen S podrían estar asociados.

**OBJETIVO GENERAL.** Caracterizar molecularmente la infección por el Virus de la Hepatitis B en una población donante de sangre HBsAg negativo/ Anti-HBc positivo.

**METODOLOGÍA.** Durante el período Junio-Diciembre de 2009 se recolectaron un total de 207 muestras de suero HBsAg (-)/Anti-HBc (+) en el Banco de Sangre de la Cruz Roja, Seccional Antioquia; todas las muestras fueron negativas para otros marcadores de Infección (HCV, HIV, Sífilis, Chagas). Una vez extraído el ADN de las muestras (Qiamp DNA Blood Minikit, QIAGEN), se realizó la amplificación de la región S del HBV mediante dos estrategias diferentes de PCR anidado (Schaeffer y col. 2003, Zeng y col. 2004). De las muestras que se obtuvo amplificación, se realizó la secuenciación directa del producto para confirmar el caso de HBoc (Blast), determinar el genotipo infectante (MEGA) y analizar la presencia de sustituciones en el gen S (Bioedit).

**RESULTADOS.** En un total de 7/207 (3,4%) muestras se obtuvo amplificación del genoma de HBV. De estos amplificados, hasta el momento en tres casos se logró secuenciar la región S, permitiendo confirmar OBI en estos donantes. Al realizar el análisis filogenético, una secuencia se agrupó dentro del genotipo C y las dos restantes correspondieron a genotipo F. En las secuencias analizadas, se encontraron diferentes sustituciones (I110L; S113N; S114T; T126S; Y134F; A159G); sin embargo, ninguna correspondió a mutación de variantes de escape.

**CONCLUSIONES.** Se logró detectar el genoma del HBV en donantes de sangre de Antioquia con el perfil HBsAg (-)/Anti-HBc (+), en un porcentaje similar a lo reportado en otros países de la región como Brasil (3,3%). Estos resultados constituyen el primer reporte de OBI en Colombia, confirmado mediante secuenciación y análisis filogenético. Aunque en todas las secuencias del gen S se evidenció la presencia de múltiples sustituciones, estudios futuros deberán ser adelantados con el fin de dilucidar el efecto que en conjunto pueden tener sobre la detección del HBsAg. Es necesario extender los análisis de diversidad genética del HBV, para determinar el papel del genotipo infectante en OBI.

**PALABRAS CLAVES.** HBsAg. ELISA. Genotipo. Infección oculta por el virus de la Hepatitis B.

\*Grupo de Investigación e Innovación Biomédica SINERGLA, Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM), Institución Adscrita a la Alcaldía de Medellín. <sup>†</sup>Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. <sup>‡</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela. <sup>§</sup>Departamento de Virología, Instituto Sueco para el Control de Enfermedades Infecciosas (Smittskyddsinstitutet, SMI), Solna, Suecia. <sup>||</sup>Banco de Sangre, Cruz Roja Seccional Antioquia. <sup>\*\*</sup>Profesor Facultad de Ingeniería, Programa Ingeniería Biomédica, Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM), Institución Adscrita a la Alcaldía de Medellín. Contacto: [jabiancortes@itm.edu.co](mailto:jabiancortes@itm.edu.co)

### TL13. Selectividad diferencial de extractos derivados de *Pedilanthus tithymaloides* y *Eryngium foetidum* sobre la infección por virus dengue

Carolina Hernández Castro\*, Moisés Carrascal Medina†, Fredyc Díaz Castillo‡, Marlén Martínez Gutierrez\*‡

**INTRODUCCIÓN.** La búsqueda de potenciales antivirales contra el Virus Dengue (DENV), involucra el uso de un modelo celular adecuado que permita la replicación eficiente del virus sin que se afecte la viabilidad celular. Varias líneas celulares son altamente permisivas a la infección por DENV y en algunos casos se ha demostrado que el efecto antiviral de algunos compuestos es selectivo dependiendo de la línea celular en la cual se realice la evaluación. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado recientemente que algunos extractos obtenidos a partir de plantas de la Región Caribe Colombiana son capaces de inhibir la replicación del virus en células tipo fibroblástico (VERO), pero teniendo en cuenta los antecedentes mencionados, es necesario evaluar si la efectividad se conserva en otras líneas celulares, sobre todo aquellas derivadas de células que son blanco directo del virus en la infección natural, como los monocitos.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar los índices de selectividad de 12 extractos derivados de plantas de la región Caribe Colombiana en dos líneas celulares de diferente origen: U937, linaje humano monocito/macrófago y VERO, fibroblastos de mono verde africano.

**METODOLOGÍA.** Empleando el método de MTT (3-(4,5 dimetil tiazole-2yl)-2,5 difeniltetrazoliumbromide), se determinó la viabilidad en los cultivos celulares tratados con los diferentes extractos en concentraciones desde 7,8 µg/mL hasta 1000 µg/mL, para determinar posteriormente la Concentración Citotóxica 50 (CC50). Por otro lado, se determinó la Concentración Efectiva 50 (CE50) para cada uno de los extractos, evaluando concentraciones desde 7,8 µg/mL hasta 250 µg/mL, por medio de un ensayo de inhibición de la producción de partículas virales infecciosas utilizando la técnica de plaqueo. Para todas las infecciones se utilizó la cepa de referencia Nueva Guinea (NG) perteneciente DENV serotipo 2. Finalmente se calcularon los Índices de Selectividad (IS) para cada extracto en cada línea celular (IS: CC50/CE50).

**RESULTADOS.** Al comparar la citotoxicidad de los extractos derivados de las plantas *Hyptis capitata* y *Momordica charantia*, encontramos que la toxicidad de ambos extractos es menor en células VERO (CC50 aproximado de 1500 µg/mL) que en células U937 (CC50 aproximado de 400 µg/mL). Al evaluar la efectividad encontramos que algunos extractos como la corteza derivada de la planta *Tabernaemontana arboraea* a una concentración de 15,6 µg/mL, muestra porcentajes de inhibición de la producción de partículas virales infecciosas del 81,1% en células VERO, mientras que en la células U937 la inhibición es del 35,9%. Otros extractos derivados de plantas como *Pedilanthus tithymaloides* son efectivos únicamente en las células VERO, mientras que los derivados de *Eryngium foetidum* es efectivo solamente en células U937. Cuando se calcularon los IS encontramos que el extracto derivado de *Eryngium foetidum* es quien mostró el IS mas alto en las células U937 (IS: 131,5) siendo este valor casi diez veces menor en células VERO (IS: 15,0); mientras que el extracto derivado de *Pedilanthus tithymaloides* es quien demostró el IS mas alto en células VERO (IS: 111,7) comparado con las células U937 (IS: 8,6), siendo este valor catorce veces mayor.

**CONCLUSIONES.** En general la línea celular derivada de monocitos humanos (U937) responde de manera más efectiva ante los tratamientos con los extractos mostrando índices de selectividad más altos con respecto a las células VERO. Sin embargo, en algunos casos encontramos que el efecto antiviral de ciertos extractos es dependiente del tipo de células en donde se realice la evaluación. Estudios en curso nos permitirán definir qué pasos del ciclo replicativo están siendo afectados por el tratamiento con aquellos extractos que han demostrado un efecto antiviral selectivo dependiendo de la línea celular evaluada.

**PALABRAS CLAVES.** Virus Dengue. Citotoxicidad. *Eryngium foetidum*. *Pedilanthus tithymaloides*.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Laboratorio de Investigaciones Fitotómicas y Farmacológicas (LIFFUC), Universidad de Cartagena-Hospital Universitario del Caribe, Cartagena, Colombia. ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: mmartinez@udea.edu.co

### TL14. Detección de genotipos del virus del papiloma humano en papilomatosis respiratoria recurrente en Colombia

Gloria I. Sanchez\*, Roberto Jaramillo†, Gustavo Cuello‡§, Katherine Quintero\*, Armando Baena\*, Adriana O´Byrne‡, Antonio Jose Reyes‡, Consuelo Santamaria‡, Harold Cuello‡, Anamaria Arrunategui†, Armando Cortez\*\*, German Osorio††, Julio Cesar Reina‡||, Wim G.V. Quint‡‡, Nubia Muñoz§§

**INTRODUCCIÓN.** El estudio de la infección por VPH y sus genotipos en casos de papilomatosis respiratoria recurrente (PRR) es de utilidad para valorar el posible impacto de la vacunación por VPH que incluya estos genotipos.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la prevalencia del virus del papiloma humano (VPH) en casos de PRR en Colombia y explorar su asociación con variables demográficas.

**METODOLOGÍA.** Estudio descriptivo de corte transversal realizado en 3 centros clínicos de Cali y 2 laboratorios de patología de Medellín. Se recolectaron 189 casos de PRR diagnosticados entre 1985 y 2009. La detección del VPH en bloques de parafina fue realizada utilizando SPF10.

**RESULTADOS.** De los 189 casos identificados con PRR, se les recuperó bloques de parafina a 140. Un caso fue excluido por considerarse inadecuado después de la evaluación histológica, y 9 por ser β-globina negativo. La edad mediana de los 130 casos incluidos en el análisis fue de 33 años, 46% tenían 17 o más años de edad en el momento del diagnóstico y 60% fueron hombres. El 95% de los casos presentaron infección por VPH, 68% fueron VPH6 y el 27% VPH11. Se encontraron 9 casos (7%) positivos para VPH16, un caso para VPH52, y uno para VPH54. Once casos tuvieron múltiples infecciones, todas con el genotipo 6.

**CONCLUSIONES.** El 95% de los casos de PRR en Colombia presentan infección con genotipos 6 y 11 del VPH. La vacunación contra el VPH que incluya estos dos genotipos puede tener un impacto importante en la incidencia de PRR en el país.

**PALABRAS CLAVES.** Papilomatosis respiratoria recurrente. Papilomavirus humano. Vacuna. Colombia.

\*Infection and Cancer Group, School of Medicine, University of Antioquia, Medellín, Colombia. †Department of Pathology, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia. ‡Centro Médico Imbanaco, Cali, Colombia. §Department of Otorhinolaryngology, Facultad de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia. || Department of Pediatrics Facultad de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia. \*\*Department of Pathology, Hospital Universitario del Valle, Facultad de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia. ††Department of Pathology, School of Medicine, University of Antioquia, Medellín, Colombia. ‡‡DDL Diagnostic Laboratory, Voorburg, The Netherlands. §§Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá Colombia. Contacto: sanchez@medicina.udea.edu.co



## TL15. El virus dengue neuroadaptado (D4MB-6) induce la expresión de proteínas del citoesqueleto de neuronas y astrocitos

Myriam L. Velandia\*, María Angelica Calderón\*, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** Nuestro grupo desarrolló un modelo *in vivo* de neuroinfección con una variante de DENV-4 que induce la infección de neuronas y células de la microglía y estimula la activación de las células de la glía; sin embargo, no se conocen los mecanismos que favorecen la infección, ni cuales son los cambios estructurales y funcionales que se presentan en el sistema nervioso durante la infección con esta variante viral.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la expresión de los transcritos para algunas moléculas del citoesqueleto de las células neuronales y no neuronales como Nestina, Tubulina Beta III y GFAP durante la neuroinfección experimental por la variante de dengue D4MB-6 en ratones de diferentes edades.

**METODOLOGÍA.** Grupos de 8 a 10 ratones Balb/C de 2, 7, 14 y 21 días de edad fueron inoculados intraperitonealmente con virus dengue neuroadaptado (D4MB-6). A los 6 días postinfección los animales se sacrificaron, se homogenizó el cerebro y se purificó el RNA con el fin de cuantificar por PCR en tiempo real los transcritos para Nestina, Tubulina Beta III y GFAP usando la herramienta geNorm.

**RESULTADOS.** Los resultados demostraron que la infección indujo una sobre-expresión del mRNA para Nestina, Tubulina Beta III y GFAP (entre 2 y 5 veces), en las cuatro edades evaluadas comparadas con sus respectivos controles y usando beta actina y GAPDH como genes de referencia. Por microscopia confocal, se evidenciaron cambios en la morfología celular y número de astrocitos y células de la microglía.

**CONCLUSIONES.** Estos cambios sugieren que las células del tejido nervioso, como las neuronas y las células de la glia, durante la infección *in vivo* por D4MB-6 modifican su estructura como respuesta al estrés celular. Los cambios moleculares fueron consistentes con los cambios en la morfología y estructura celular observada, permitiendo sugerir que estas proteínas pueden actuar como elementos citoprotectores que buscan controlar la infección y eventualmente favorecer la regeneración del tejido nervioso.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue Virus. Neuroinfección. Neuropatogenia. Citoesqueleto.

Grupo de Virología, Universidad El Bosque. Contacto: mlvelandia@elbosque.edu.co

## TL16. Estudio de la infección por el virus de la Hepatitis B en población a riesgo de Quibdó y Apartadó

Julio C. Rendón Londoño\*, Diana C. di Filippo Villa\*, Margarita R. Insuasty Enriquez\*, Wilson A. Ríos Ocampo\*, Carlos A. Medina Londoño\*, Carlos J. Montoya†, Fabián M. Cortés Mancera\*, María C. Navas Navas\*

**INTRODUCCIÓN.** Según los registros oficiales, Colombia presenta un patrón heterogéneo de prevalencia de infección por el virus de la Hepatitis B (VHB); adicionalmente se ha reportado la circulación de diferentes genotipos. El genotipo/subgenotipo F3 es el más frecuente en las poblaciones evaluadas, provenientes de diversas regiones geográficas; también han sido reportados otros genotipos como A, C, D, G y el subgenotipo F1b en ciudades como Bogotá, Bucaramanga, Huila, Nariño y Boyacá. Por otro lado, el genotipo E se identificó en muestras obtenidas de pacientes afroamericanos de Quibdó.

**OBJETIVO GENERAL.** Dada la limitada información existente hasta la fecha de la infección por el VHB en las poblaciones de Quibdó y Apartadó, se llevó a cabo el presente estudio con el objetivo de caracterizar los genotipos de VHB presentes en la población de estas dos comunidades colombianas.

**METODOLOGÍA.** Entre septiembre y noviembre del año 2009 en las poblaciones de Quibdó y Apartadó se entrevistaron 800 individuos asintomáticos, que presentaban factores de riesgo para la infección por el VHB y que aceptaron voluntariamente participar en el estudio. Mediante una prueba rápida para la detección del antígeno de superficie (HBsAg) se identificaron los individuos con infección por VHB; de estos se obtuvo una muestra de sangre para la confirmación del HBsAg por la técnica de ELISA. Adicionalmente estas muestras fueron sujetas a extracción de ácidos nucleicos, amplificación de una región de 585 nucleótidos del genoma del VHB correspondiente a la región S y posterior secuenciación; las secuencias obtenidas fueron analizadas con respecto a 225 secuencias referencia de VHB disponibles en GenBank para la determinación del genotipo viral.

**RESULTADOS.** De los 800 individuos incluidos en el estudio (381 en Quibdó y 419 en Apartadó), 17 (2,12%) presentaron prueba rápida positiva. El promedio de edad de los 17 individuos fue 39,5 años (16,7 DE), 5 (29,4%) fueron mujeres y 12 (70,6%) hombres y el grupo racial fue 11 (64,7%) afrodescendientes y 6 (35,3%) mestizos. Las 17 muestras, 8 de Apartadó (1,9%) y 9 de Quibdó (2,4%), fueron confirmadas por la técnica de ELISA para HBsAg. Es de anotar que de los 8 individuos positivos en Apartadó, 5 pertenecían a un mismo núcleo familiar (madre e hijos).

De las 17 muestras positivas para la detección del HBsAg, en 8 se logró amplificar y secuenciar la región del gen S; los análisis filogenéticos de las secuencias obtenidas mostraron que 4 de las secuencias correspondientes a muestras de Apartadó pertenecían al genotipo A, mientras que las restantes 2 secuencias de Apartadó y las 2 de Quibdó fueron identificadas como genotipo F.

**CONCLUSIONES.** En los estudios en población donante de sangre de distintas regiones del país, más del 80% de las muestras evaluadas han sido caracterizadas como genotipo F; aunque en un estudio realizado en mujeres embarazadas de Quibdó se identificó el genotipo E en todas las muestras analizadas. Según estas descripciones, son interesantes los resultados del presente trabajo, en el que los genotipo A y F fueron identificados en iguales proporciones. Dados los resultados obtenidos en este estudio y la evidencia de la circulación del genotipo E en Quibdó, es posible hipotetizar que la variación en los genotipos de VHB circulantes en esta población sea mayor a la observada en otras regiones del país. Sin embargo, son necesarios estudios adicionales con muestras representativas para evidenciar la dinámica de la infección y de los genotipos de VHB circulantes en estas comunidades.

**PALABRAS CLAVES.** Hepatitis B. Genotipos. Colombia.

\*Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, †Fundación Antioqueña de Infectología. Contacto: mcnavasn@gmail.com

## TL17. Primer reporte de la infección por el virus de la Hepatitis E en Colombia

Julio C. Rendón Londoño\*, María C. Hoyos\*, María M. Velásquez López\*, Fabián M. Cortes Mancera\*, Gonzalo Correa Arango\*†, Francisco J. Díaz Castrillón‡, María Patricia Arbeláez§, María E. Sepúlveda Hincapié\*†, Nora L. Yepes Palacio\*†, Juan Carlos Restrepo Gutiérrez\*†, Sergio Jaramillo Velásquez†, Lucelly Ríos ||, Fanor Mejía\*\*, Leonor Correa\*\*, Irene Correa\*\*, Beatriz Lopera\*\*, Astrid Ríos\*\*, María C. Navas Navas\*

**INTRODUCCIÓN.** La infección por el Virus de la Hepatitis E (VHE) es considerada un importante problema de salud pública en el mundo y el principal agente etiológico de la hepatitis viral aguda no A no B de transmisión entérica. En Latino América se ha demostrado la circulación del HEV en países con condiciones socioeconómicas similares a las de Colombia; infortunadamente son escasos los estudios en los que se han evaluado tanto marcadores serológicos como marcadores moleculares de la infección por el HEV. Esto se evidencia, además, por el número reducido de secuencias suramericanas del HEV en reportadas en el GeneBank.

**OBJETIVO GENERAL.** El presente estudio se desarrolló con el propósito de demostrar la circulación de VHE en una población colombiana con diagnóstico de hepatitis aguda.

**METODOLOGÍA.** En el período comprendido entre abril de 2008 y julio de 2009, se recolectaron muestras de materia fecal y sangre de pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis aguda y que voluntariamente aceptaron participar en el estudio. Los pacientes fueron reclutados en los centros de atención en salud de la red pública hospitalaria del municipio de Medellín (San Cristóbal, Santo Domingo, Santa Cruz, Buenos Aires y Castilla). Las muestras de suero fueron evaluadas para determinar la presencia de anticuerpos Anti-HEV tipo IgG e IgM, utilizando estuches ELISA comerciales (Diapros, Italia) y siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. Las muestras de materia fecal fueron evaluadas para determinar la presencia del genoma del VHE por PCR anidada de la región ORF2-3 (nucleótidos 5258-5395) y ORF1 (nucleótidos 29-200); a partir de las muestras positivas se realizó el secuenciado directo de los productos obtenidos. Las secuencias fueron alineadas junto con 49 secuencias del VHE disponibles en GenBank y los análisis filogenéticos se realizaron utilizando las metodologías de Neighbor Joining, Máxima Parsimonia y Maximum likelihood contenidos en el software Mega 5.0.

**RESULTADOS.** Del total de pacientes reclutados, el 61,4% correspondían a pacientes de sexo masculino y el 38,6% a pacientes de sexo femenino, con un promedio de edad de 27 años. Los signos y síntomas más frecuentes fueron ictericia (94,28%), coluria (84,3%), Fiebre (74,3%) y náuseas (54,3%). El análisis serológico de las 70 muestras recolectadas demostró la presencia de anticuerpos anti-VHE tipo IgM en una muestra (1,4%) y de anticuerpos anti-VHE tipo IgG en 4 muestras (5,7%). Ninguna muestra presentó los dos marcadores serológicos en forma simultánea. De las 40 muestras de materia fecal analizadas, 12 fueron positivas para la amplificación de las regiones genómicas ORF1 y ORF2/3; 9 de las cuales fueron confirmadas por secuenciación. Los análisis filogenéticos de las 9 secuencias correspondientes al ORF2-3, demostraron agrupamiento junto con secuencias del genotipo 3, con valores de bootstrap superiores a 90. Actualmente está en desarrollo el intento de aislamiento del VHE en la línea PLC/PRF/5 a partir de una muestra de materia fecal proveniente del caso que presentó marcadores serológicos y moleculares positivos.

**CONCLUSIONES.** Este proyecto representa la primera exploración de la infección del VHE en Medellín y en Colombia. Según los resultados del estudio se presenta evidencia serológica y molecular de la infección por VHE genotipo 3 en la población de estudio. Según lo reportado en regiones endémicas, el genotipo 3 podría estar implicado en transmisión zoonótica a partir de ganado porcino.

**PALABRAS CLAVES.** Hepatitis aguda. Hepatitis E. Genotipos. Colombia.

\*Grupo de Gastropatología, Universidad de Antioquia, †Hospital Pablo Tobón Uribe. ‡Grupo Inmunovirología, Universidad de Antioquia, §Grupo de Epidemiología, Universidad de Antioquia, ||Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia, \*\*Unidades de atención en Salud Atención San Cristóbal, Santo Domingo, Santa Cruz, Buenos Aires y Castilla. Metrosalud. Contacto: mcnavas@gmail.com

## TL18. Respuesta diferencial en la producción de citocinas a partir de macrófagos infectados con el virus dengue en presencia o ausencia de anticuerpos facilitadores

Henry N. Puerta-Guardo\*, Fernando Medina\*, Juan E. Ludert\*, Rosa M. Del Angel\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus dengue es el agente causal de tres manifestaciones clínicas conocidas como fiebre por dengue, fiebre hemorrágica por dengue y síndrome de choque por dengue. Actualmente, los mecanismos inmunológicos asociados a la aparición de las distintas manifestaciones clínicas así como de la patogénesis de la forma hemorrágica no son claros. El mecanismo de Amplificación Dependiente de Anticuerpos (ADE) de la infección por dengue en células que expresan receptores Fc (p. ej., macrófagos y células dendríticas) podría jugar un papel importante en la patogénesis de la enfermedad severa. Asociado a esto, la activación de monocitos y la producción aberrante de citocinas inducidas durante la infección por dengue ha sido relacionada con la patogénesis de la enfermedad hemorrágica.

**OBJETIVO GENERAL.** Este estudio busca comparar la respuesta de citocinas de una línea celular monocítica humana (U937) a la infección por dengue en presencia y ausencia de anticuerpos facilitadores.

**METODOLOGÍA.** Cultivos de células U937 fueron infectados con el virus dengue serotipo 4 o con complejos inmunes preformados del virus dengue con anticuerpos anti-dengue, diluidos a concentraciones decrecientes ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Finalmente, los sobrenadantes de cultivo, fueron recolectados a distintos tiempos postinfección y las citocinas secretadas fueron evaluadas por citometría de flujo (Cytometric Bead Array, BMS).

**RESULTADOS.** Para sobrenadantes recolectados a 48 horas postinfección, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-12p70 mostraron un incremento significativo a partir de cultivos infectados en presencia de anticuerpos facilitadores en comparación con aquellos infectados directamente (en ausencia de anticuerpos). Ningún cambio significativo fue evidenciado en citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-8 e IL-10. Contrario a esto, el uso de anticuerpos a concentraciones neutralizantes redujo la concentración de las citocinas secretadas.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados sugieren que la infección de monocitos humanos por el virus dengue en presencia de anticuerpo facilitadores genera diferencias cualitativas y cuantitativas en la producción de agentes vasoactivos e inmunomoduladores que podrían estar asociados al desarrollo de las manifestaciones severas de la enfermedad.

**PALABRAS CLAVES.** ADE. Células U937. Citocinas.

\*Laboratorio de virología, Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F., México. Contacto: jeludert@gmail.com

## TL19. Comparación de la expresión de proteínas de células de mamífero infectadas con cepas de referencia de virus dengue serotipo 2

Ángela Martínez-Betancur\*, Carolina Hernández-Castro\*, Lina Orrego\*, Marcel Marín-Villa\*†, Marlén Martínez-Gutiérrez\*‡

**INTRODUCCIÓN.** El virus dengue (DENV) es el agente causal de la patología denominada dengue y de su forma grave. Aunque se sabe que factores virales y del hospedero contribuyen a la patogénesis y progresión hacia el dengue grave, los mecanismos moleculares aún no están totalmente entendidos. Una de las maneras de mejorar la comprensión de la interacción virus-hospedero es determinar las proteínas celulares cuya expresión es alterada en presencia del virus; sin embargo, pocos estudios han evaluado el perfil proteico de células infectadas con DENV.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar la expresión de las proteínas de células VERO y U937 infectadas con dos cepas de referencia de DENV serotipo 2 para dengue y dengue grave.

**METODOLOGÍA.** Se infectaron cultivos celulares de VERO y U937 con las cepas Nueva Guinea (dengue) o 16681 (dengue grave) a una MOI de 10. A las 48 horas postinfección (hpi) se recolectaron los sobrenadantes para realizar cuantificación de las partículas virales infecciosas por plaqueo. En las monocapas celulares se determinó la viabilidad celular por MTT, se cuantificó el genoma viral por RT-qPCR y se detectó antígeno viral por inmunofluorescencia (IF). Posteriormente, se infectaron células VERO y U937 con las dos cepas de DENV-2 a una MOI de 1 y a las 48 hpi las células fueron lisadas para obtener muestras proteicas. Proteínas derivadas de cultivos control sin virus (CSV) e infectados con cada una de las cepas de DENV-2 fueron separadas en una electroforesis bidimensional, y a continuación se compararon los perfiles proteicos de las células bajo las diferentes condiciones de infección.

**RESULTADOS.** Ninguna de las cepas de DENV-2 disminuyó la viabilidad celular después de 48 horas postinoculación. Al comparar el antígeno viral por IF y el número de copias genómicas virales se encontró que la replicación de la cepa 16681 fue mayor en ambos tipos de células comparado con la replicación de la cepa Nueva Guinea (NG). Sin embargo, al cuantificar el número de partículas virales infecciosas liberadas, se encontró que fue mayor en las células VERO infectadas con la cepa 16681, mientras que en las células U937 fue mayor al ser infectadas con la cepa NG. Al realizar la comparación de las proteínas expresadas por las células VERO en los geles bidimensionales se encontraron 15 proteínas con expresión diferencial entre los cultivos CSV y los cultivos infectados con NG; 15 entre CSV y 16681; y 23 entre NG y 16681. Con respecto a la comparación en las células U937, se encontraron 10 proteínas con expresión diferencial entre las condiciones CSV y NG; 13 entre CSV y 16681; y 7 entre NG y 16681. Actualmente estamos realizando espectrometría de masas para identificar las proteínas que se expresan diferencialmente en cada una de las condiciones experimentales.

**CONCLUSIONES.** En este estudio se determinaron las condiciones adecuadas para realizar la infección de los cultivos celulares con DENV-2 sin inducir muerte celular. Se encontraron diferencias en la capacidad replicativa de la cepa viral dependiendo de la línea celular. Adicionalmente se estableció que la infección con DENV modifica de manera diferencial la expresión de algunas proteínas de la célula, siendo mayor el efecto sobre la línea celular VERO que sobre U937. Estas moléculas podrían representar proteínas blanco que pueden ser empleadas para interrumpir el ciclo replicativo del virus y, por lo tanto, podrían ser evaluadas en el desarrollo de estrategias antivirales.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Proteómica. Líneas celulares.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: mmartinezg@udea.edu.co

## TL20. Correlación entre el estado de infección por HSV-1 y células inflamatorias en ganglios trigeminales humanos

Gina A. Castiblanco\*, Lina M. Marín-Gallón\*, Sonia Bohórquez Ávila\*, Alfonso Casas Martínez†, Jaime E. Castellanos\*, Silvia Barrientos Sánchez\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) es un patógeno humano común que causa infecciones altamente prevalentes y complejas en la superficie de la mucosa y región perioral. Luego de la primoinfección, la progenie viral viaja a través de las terminaciones nerviosas sensitivas hacia el ganglio trigeminal (GT) estableciendo infecciones latentes, dándose solo la transcripción de transcritos asociados a latencia (LAT). Tras situaciones de estrés, inmunosupresión, trauma o exposición a rayos UV del hospedero, se reactiva la replicación viral desencadenando infecciones recurrentes. Durante las infecciones virales se ha descrito en los GT la presencia de macrófagos, células NK, linfocitos T CD4 y CD8, linfocitos B, y citoquinas (TNF-alfa, IL-1, IL-6 e interferones).

**OBJETIVO GENERAL.** Realizar la descripción histológica y molecular de 33 GT de 20 cadáveres con respecto a la presencia de DNA viral, LAT, antígenos virales, y correlacionar estos hallazgos con el fenotipo de células inflamatorias presentes en estos GT de una muestra de cadáveres de Bogotá.

**METODOLOGÍA.** Previo aval del Comité de Ética, se recolectaron GT de cadáveres frescos donados en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Bogotá. De cada donador, un GT fue procesado para histología e inmunohistoquímica para detectar antígenos virales, y en cortes contiguos se buscaron linfocitos T CD4+ y CD8+ con anticuerpos específicos. El segundo GT fue dividido para extracción de DNA y RNA, y procesado por PCR y RT-PCR para la amplificación del DNA y transcritos virales.

**RESULTADOS.** Se recolectaron 66 GT de 33 cadáveres. A 25 muestras se les realizó RT-PCR para HSV-1 y LAT, en ninguna se pudo amplificar el mensajero para la DNA polimerasa viral; 56% fueron positivas para el gen LAT. De las 31 muestras analizadas por PCR para detectar DNA viral, 48% fueron positivas. No se encontró marcaje específico para CD4 en los ganglios procesados. La inmunohistoquímica para detectar linfocitos CD8+ en tejidos de GT humano mostró un marcaje de estas células alrededor de las neuronas del GT. De 21 muestras analizadas para la expresión de mRNA para CD4 y CD8, 48% fueron positivas para CD4, mientras que 76% lo fueron para CD8. Los hallazgos reflejan el predominio de infiltrado inflamatorio tipo linfocitos CD8+ durante la infección latente; mientras que los Linfocitos CD4+ se encuentran con mayor frecuencia acompañando infecciones activas o en las que no se ha iniciado la transcripción de genes asociados a latencia.

**CONCLUSIONES.** Este estudio establece las pautas para estimar la prevalencia de infección por HSV-1 en Bogotá, y para correlacionar el estadio de la infección (activa o latente) con el tipo de infiltrado inflamatorio (linfocito CD4+ y CD8+) presente en el GT humano mediante RT-PCR, PCR e inmunohistoquímica, determinando la importancia de este infiltrado infamatorio en la respuesta inmune ante la infección por HSV-1.

**PALABRAS CLAVES.** Herpes simplex virus tipo 1. Ganglio trigeminal humano. Infiltrado inflamatorio.

\*Grupo de Patogénesis Viral, Universidad Nacional de Colombia. †Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Bogotá, Colombia. Contacto: sbohórquez@unal.edu.co



## TL21. Detección de circulación de poliovirus vacunal, en departamentos con bajas coberturas de vacunación en Colombia 2010

María M. González de S.\*, Jhon C. Castaño\*, Luís Sarmiento†, Gloria Rey‡, Leonardo Padilla\*, Alejandra M. Giraldo\*

**INTRODUCCIÓN.** Cuando la Asamblea Mundial de la Salud (AMS) lanzó Iniciativa para la Erradicación de la Poliomielitis (GPEI) en 1988, más de 125 países fueron considerados como endémicos para la enfermedad; la aplicación de las estrategias para la erradicación como la vacuna oral antipolio permitieron que para 1991 se diera el último caso de polio en las Américas y para el 1994, la región de las Américas se consideró libre de polio. Para el 2004 se había erradicado el polio virus salvaje tipo 2; una disminución del 99% en la incidencia anual de la enfermedad en el mundo y la eliminación de los restantes serotipos salvajes del virus en cuatro países donde todavía están circulando estos serotipos (Afganistán, Pakistán, Nigeria e India). La vacunación oral contra el virus de la poliomielitis ha constituido una óptima estrategia; sin embargo, recientemente, se demostró que los virus derivados de la vacuna han revertido a una forma virulenta y han causado epidemias de poliomielitis en países como República Dominicana, Haití, Filipinas, Madagascar, Estados Unidos de América y China. Estos hallazgos apuntan hacia la necesidad de reforzar la vigilancia ambiental de la circulación de poliovirus, ya que la detección temprana de poliovirus derivados de la vacuna es crítica para lograr una respuesta efectiva para la prevención de estos brotes y ofrecer una información muy valiosa sobre la circulación de estos en la comunidad, si se tiene en cuenta que cantidades abundantes de poliovirus son excretadas en las heces de las personas inmunizadas y las aguas residuales pueden actuar como un vehículo de infección con las cepas vacunales. La vigilancia ambiental ha sido exitosa en el monitoreo de virus entéricos y para la vigilancia de brotes de polio derivado de cepas vacunales circulantes en poblaciones específicas en muchos países donde la notificación de parálisis flácida aguda es insuficiente; por lo tanto, constituye una herramienta importante para el monitoreo poliovirus derivado de la vacuna y la vigilancia de la inmunidad poblacional cuando se inicie la suspensión con de la vacuna de polio oral (VPO) y se implemente la vacunación con vacuna de polio inactivada (PVI).

**OBJETIVO GENERAL.** Caracterizar los poliovirus circulantes en aguas residuales de departamentos en los cuales la cobertura de vacunación para polio ha sido menor del 80% en los últimos cuatro años.

**METODOLOGÍA.** Se realizó una encuesta de prevalencia en los sitios finales de descarga del alcantarillado de los departamentos de Colombia que han tenido coberturas vacunales de vacuna de polio oral inferiores al 80%, mediante toma de muestras de agua. se colectaron 55 muestras de aguas residuales. Los virus fueron inicialmente concentrados por el método que utiliza polietilenglicol y cloruro de sodio. La identificación final de poliovirus se realizó mediante dos métodos de detección: el aislamiento en cultivos de células VERO, RD y L20B, y la amplificación de ácidos nucleicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) empleando cebadores genéricos, específicos de grupo, de serotipo y de las cepas vacunales Sabin

**RESULTADOS.** Los aislamientos virales fueron confirmados como enterovirus mediante la amplificación del genoma con cebadores genéricos de enterovirus. Ninguno de los aislamientos obtenidos son Poliovirus. En los siguientes departamentos se aislaron enterovirus: Caldas: CB1, E11; Vichada: Enterovirus no Polio, Eco virus 30; Nariño: Enterovirus no polio, Guainía: Enterovirus no polio.

**PALABRAS CLAVES.** Poliovirus. Poliomielitis. Vacuna anti polio oral. Vacuna contra poliovirus.

\*Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío †Departamento Virología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Konri, La Habana, Cuba. ‡Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. Contacto: yiyuma@yaboo.com

## TL22. Polimorfismos en el gen NS4B del virus dengue 2 y su relación con la gravedad de la enfermedad

Jorge Castillo Ramírez \*‡, Francisco Díaz†‡

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es la enfermedad viral transmitida por vectores de mayor importancia en el mundo. Es causada por el virus dengue (DENV) llevando a enfermedades como dengue clásico (DC) y formas severas como dengue hemorrágico/síndrome de choque por dengue (DH/SCD). Debido a la falta de un modelo animal, el mecanismo por el cual el DENV causa una enfermedad grave no se conoce. Sin embargo, se ha determinado por estudios clínicos y epidemiológicos que tanto factores inmunológicos como genéticos, ambientales y virales pueden determinar la gravedad del dengue. En los últimos años se ha descrito que varias proteínas del DENV como la proteína NS4B tienen la capacidad de inhibir la respuesta antiviral del interferón tipo I.

**OBJETIVO GENERAL.** Identificar polimorfismos presentes en el gen NS4B de cepas de DENV-2 aisladas de casos clínicos de DC y DH/SCD que se asocian con el desenlace clínico.

**METODOLOGÍA.** Se utilizaron cepas de DENV-2 que corresponden a casos de dengue ocurridos en Antioquia, Santander y Norte de Santander desde 1998 hasta 2007. Cada cepa de DENV-2 fue propagada en cultivo celular y luego se procedió a extraer el RNA viral para la amplificación del gen NS4B por RT-PCR. Los productos de PCR fueron secuenciados para su posterior análisis. Mediante análisis bioinformáticos se identificaron los polimorfismos presentes en este gen y se buscó su asociación con la severidad del cuadro clínico utilizando la prueba de Fischer y el valor OR con su intervalo de confianza.

**RESULTADOS.** En total se identificaron 19 polimorfismos de los cuales 10 se encontraban en un número suficiente de aislados. De estos, 5 polimorfismos ubicados en las posiciones 6909, 7191, 7200, 7353, 7411 del genoma viral estuvieron estadísticamente asociados con DH/SCD. Sin embargo, estos polimorfismos se relacionaron más significativamente con la procedencia de las cepas. De estos, 2 polimorfismos generaron una mutación proteica en las posiciones 19 y 113 de la proteína NS4B. Los análisis filogenéticos mostraron una fuerte segregación de las cepas tanto por la procedencia como por el desenlace clínico, indicando ambas variables están estadísticamente asociadas. Como hallazgo incidental, se encontró que en todas las cepas la secuencia consenso BC box está altamente conservada en el gen NS4B. Esta secuencia se ha visto implicada en la degradación de STAT2, intermediario de la señalización del IFN-I por parte del virus respiratorio sincitial (VRS).

**CONCLUSIONES.** La asociación encontrada entre los polimorfismos del gen NS4B de DENV-2 y el desenlace clínico podría sugerir que algunos de ellos tienen una incidencia directa sobre la virulencia de la cepa viral. Alternativamente, pueden estar actuando como marcadores indirectos de una mayor virulencia del linaje de DENV-2 circulante en el Departamento de Antioquia.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Patogénesis. Polimorfismo. NS4B. IFN-I.

\*Estudiante de Microbiología y Bioanálisis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Profesor e Investigador, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ‡Grupo de Inmunología. Sede de Investigación Universitaria (SIU), Universidad de Antioquia. Contacto: castillo22@gmail.com

## TL23. Los cuatro serotipos del virus dengue se replican diferencialmente en células derivadas de mosquito y mamífero

Carolina Quintero Gil\*, Luisa F. Arbeláez García\*, Francisco Díaz†, Marta Ospina‡, Jorge E. Osorio§, Marlén Martínez-Gutiérrez\* ||

**INTRODUCCIÓN.** El virus dengue (DENV) es el agente causal de la principal enfermedad arboviral en el mundo. En Colombia, el aumento en el número de casos tanto de dengue como de dengue grave se puede ver asociado con la circulación simultánea de los cuatro serotipos del virus (DENV-1 a DENV-4), puesto que las formas severas de la enfermedad están asociadas tanto a la inmunopatogénesis causada por potenciación dependiente de anticuerpos (en la que anticuerpos no neutralizantes contra un serotipo pueden favorecer la entrada de un serotipo diferente durante una infección secundaria), y por la infección con cepas más virulentas que sean capaces de replicarse más eficientemente en el vector, y por tanto aumenten las probabilidades de ser transmitidas. Por lo anterior, estudios básicos que permitan conocer las diferencias en la replicación de los diferentes serotipos en células tanto del vector como de mamífero, aportarán a la comprensión de los patrones de transmisión de los diferentes serotipos y por tanto a entender la epidemiología de la enfermedad.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar las diferencias en la replicación, formación de placa y efecto sobre la viabilidad celular de cepas de referencia y aislados clínicos de cada serotipo del DENV, en células de insecto (C6/36 HT) y en células de mamífero (VERO).

**METODOLOGÍA.** Células VERO y C6/36 HT fueron infectadas con 1x10<sup>5</sup> copias genómicas/mL de cada una de las cepas de referencia de DENV (DENV-1, West Pac 74; DENV-2, S16803; DENV-3, CH53489 y DENV-4, TVP360) y con cepas provenientes de aislamientos clínicos de la ciudad de Medellín. Se recolectaron sobrenadantes a los días 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días postinoculación para evaluar por PCR en tiempo real el número de copias genómicas y por titulación por plaqueo el número de Unidades Formadoras de Placa. Adicionalmente durante ese mismo tiempo se evaluó la viabilidad celular por la técnica de MTT.

**RESULTADOS.** En los cultivos infectados con las cepas de referencia se encontró que DENV-2 fue el que causó menor pérdida de viabilidad celular (con viabilidad de 41,7%) comparado con DENV-1, DENV-3 y DENV-4 (porcentajes de viabilidad de 26,8%, 26,7% y 25,3%, respectivamente) a los 8 días postinfección. Con el ensayo de titulación por plaqueo, se encontraron patrones diferentes de placa entre los serotipos. En los cultivos infectados con DENV-1 y DENV-3 las placas fueron muy pequeñas, siendo las placas formadas por DENV-3 más definidas; mientras que en los cultivos infectados con DENV-2 y DENV-4, las placas fueron más grandes y bien definidas. Al comparar la capacidad de replicación se encontró que DENV-2 fue el serotipo que se replicó de manera más eficiente durante los días evaluados, mientras que DENV-1 fue el serotipo que presentó una menor replicación. Finalmente, en los cultivos infectados con las cepas proveniente de aislamientos clínicos, se encontró que los serotipos 1 y 2 causan mayor pérdida de la viabilidad celular con porcentajes de viabilidad de 80% y 70% respectivamente, mientras que para los serotipos 3 y 4 la viabilidad se mantuvo por encima del 90%. Cuando se compararon los niveles de replicación; las cepas de DENV-2 fueron más eficientes seguidas de las cepas de DENV-4 y DENV-1. En ninguno de los cultivos infectados con los aislados clínicos hubo formación de placas.

**CONCLUSIONES.** Tanto en células derivadas del vector como en células de hospedero vertebrado, el serotipo 2 se replicó con mayor eficiencia que los demás, lo cual podría sugerir que este serotipo puede ser transmitido con mayor eficiencia que los demás. Adicionalmente estos hallazgos concuerdan con resultados reportados previamente en donde se encontró que este mismo serotipo, se replica de manera más eficiente en mosquitos *Aedes aegypti* infectados en condiciones de laboratorio.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Serotipos. Capacidad replicativa. Formación de placas.

\*Programa de estudio y control de enfermedades tropicales –PECEET, Universidad de Antioquia. †Grupo de Inmunología, Universidad de Antioquia. ‡Laboratorio Departamental de Salud de Antioquia. §Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin. Madison, WI, United States. ||Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: mmartinez@udea.edu.co

## TL24. El VIH-1 induce la primera señal de activación del inflamasoma NLRP3

Juan C. Hernández\*, Eicke Latz†‡, Silvio Urcuqui-Inchima\*

**INTRODUCCIÓN.** Los inflamasomas son complejos multimoleculares citosólicos que regulan la activación de caspasa-1 y la maduración proteolítica de pro-IL-1 $\beta$  y pro-IL-18. Su activación requiere dos señales, la primera para inducir la producción de las proformas de las citocinas y la segunda para su maduración proteolítica. Cuatro inflamasomas han sido identificados (NLRP1, NLRP3, NLRC4 y AIM2), pero el inflamasoma NLRP3 es el mejor caracterizado y es el más importante, dada su asociación con la patogénesis de varios síndromes autoinflamatorios. Además participa activamente en la defensa del hospedero durante las enfermedades infecciosas. A la fecha, existe poca evidencia que relacione el inflamasoma NLRP3 con las infecciones virales, particularmente en la infección por VIH-1.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la capacidad del VIH-1 para estimular las señales de activación del inflamasoma NLRP3.

**METODOLOGÍA.** Macrófagos derivados de monocitos primarios humanos (MDM) fueron infectados con VIH-1 (300.000 unidades de transcriptasa reversa). Dos tipos de virus fueron usados: silvestre (VIH-1pNL4-3) o VIH-1 deficiente en el gen env, pseudovirus con la glicoproteína de envoltura del virus de estomatitis vesicular (VIH-1pNL4-3.VSV-G), en presencia o ausencia de los activadores clásicos del inflamasoma NLRP3. La producción de IL-1 $\beta$  fue cuantificado por ELISA, como indicador de la activación del inflamasoma NLRP3.

**RESULTADOS.** En el presente trabajo se presenta evidencia que el VIH-1, a través de la vía de señalización asociada a NF- $\kappa$ B, estimula la primera señal de activación del inflamasoma NLRP3 en MDM. La activación del inflamasoma NLRP3 en respuesta a VIH-1, no es dependiente de la presencia de la envoltura viral, ya que no se observaron diferencias significativas entre lo observado con el virus silvestre y el pseudotipo (sin el gen env).

**CONCLUSIONES.** Estos hallazgos sugieren que la infección por el VIH-1 puede activar múltiples vías inflamatorias, incluyendo la del inflamasoma NLRP3, lo que podría contribuir con la progresión de la infección a la fase de sida.

**PALABRAS CLAVES.** VIH-1. Inflamasoma NLRP3. IL-1 $\beta$ . Caspasa 1.

\*Grupo Inmunología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Department of Infectious Diseases and Immunology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA, USA. ‡Institute of Innate Immunity, University Hospitals, University of Bonn, Bonn, Germany. Contacto: juanbernandez@gmail.com



## TL25. Infección por virus Bunyamwera (familia *Bunyaviridae*) en humanos con síndrome neurológico en Córdoba, Argentina

Laura Tauro\*, Lorena Spinsanti\*, Fernando Venezuela\*, Adrian Farias\*, Marta Contigiani\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus Bunyamwera -BUNV- (Familia *Bunyaviridae*, Género *Orthobunyavirus*) incluye 27 cepas /aislamientos alrededor del mundo. En EE.UU. la infección por BUNV en humanos se encuentra asociada a la producción de malformaciones congénitas (síndrome de artrogriposis con hidrocefalia, tortícolis, escoliosis, microcefalia, hipoplasia muscular / cerebral) y abortos. Además, se han reportado casos de encefalitis y meningitis producidos por este virus. En Argentina han sido aisladas dos cepas, CbaAr-426 de mosquitos *Aedes albifasciatus* (Córdoba 1964-1965) y AG83-1746 (Santa Fe, 1982). Encuestas serológicas realizadas en Argentina detectaron anticuerpos contra BUNV en animales domésticos y silvestres. En humanos se encontró una prevalencia de infección del 5,72 % en el 2005 en la ciudad de Córdoba.

**OBJETIVO GENERAL.** Estudiar la infección por BUNV en pacientes con síndrome febril indiferenciado y meningoencefalitis de etiología viral.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron 217 muestras únicas de sueros recolectadas entre los años 2005 -2008 almacenadas en el laboratorio de Arbovirus del Instituto de Virología, de pacientes con meningoencefalitis de etiología viral (0 a 60 años), que dieron negativos para los virus St. Luis Encefalitis (SLEV), Dengue (DENV) y West Nile (WNV). Por otra parte se analizaron muestras pareadas de suero de 16 pacientes con síndrome febril (18-58 años) tomadas entre Marzo y Abril del 2009 en el marco de un brote de Dengue que se produjo en la ciudad de Córdoba y que fueron negativas para Dengue y otros flavivirus relacionados. La detección de anticuerpos se realizó por medio de la prueba de neutralización por unidades formadoras de placas en células Vero bajo agarosa utilizando la cepa viral Cba Ar 426.

**RESULTADOS.** La prevalencia de infección de pacientes con síndrome neurológico fue del 11,5% (10/87) -2005-, 13,9 % (9/65)-2006-, 8,3% (3/36)-2007-, 0% (0/29)-2008-. Los títulos de anticuerpos variaron entre 1/20-1/160. Si bien la prevalencia de infección en el grupo con síndrome neurológico en los años 2005 a 2006 fue significativamente mayor que la encontrada en el año 2005 en la población general, no podemos asociar el síndrome neurológico a la infección por BUNV.

Por otra parte, de los 16 pacientes con síndrome febril, sólo uno mostró seroconversión para BUNV. El mismo presentó fiebre, mialgia, artralgia, dolor retroocular en el momento de la toma de la primera muestra la cual resulto ser negativa. La segunda muestra obtenida a los 15 días de la primera fue positiva con un título de 1 / 160. Estos resultados no sólo confirman la circulación de BUNV en la ciudad de Córdoba durante el año 2009 si no que ponen en evidencia una posible asociación de infección por BUNV con la producción de síndrome febril.

**CONCLUSIONES.** Estos hallazgos muestran la importancia de intensificar la vigilancia ecoepidemiológica de BUNV especialmente en nuestro país donde circulan conjuntamente DENV, SLEV y WNV, también asociados a síndromes febriles y neurológicos por lo que es indispensable realizar un diagnóstico diferencial para poder determinar el verdadero agente etiológico.

**PALABRAS CLAVES.** Bunyavirus. Síndrome neurológico. Argentina.

\*Instituto de Virología "Dr. J.M. Varella", Facultad de Ciencias Médicas – Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Contacto: laura9505@yahoo.com.ar

## TL26. Situación clínica de los pacientes con hepatitis B en el estado Amazonas, Venezuela

Nathalia E. Cardona Chorro\*, María C. Duarte Rodríguez\*, Daicy M. García\*, Milian C. Pacheco\*

**INTRODUCCIÓN.** Las prevalencias encontradas para Hepatitis B en población indígena del estado Amazonas indican el carácter hiperendémico de la transmisión. El genotipo circulante prevalentemente en FIII. No se conoce el impacto clínico de la enfermedad.

**OBJETIVO GENERAL.** Conocer la situación clínica de los pacientes con hepatitis B en el Estado Amazonas.

**METODOLOGÍA.** Se establecieron pautas para diagnóstico y seguimiento de la hepatitis B. Se capacitó al personal de salud. Se estableció una consulta de hepatitis para el seguimiento, evaluación y tratamiento de pacientes. A todos los pacientes referidos se les realizó estudio de factores de riesgo, evaluaciones para conocer el estatus de la infección, seguimiento clínico y de laboratorio. Se presentan los datos del período 2008-2010.

**RESULTADOS.** Se han evaluado 41 pacientes portadores crónicos de Antígeno de superficie de Hepatitis B (AgsHB). Sólo el 26,8% de los pacientes ha manifestado síntomas. Todos presentaron Ictericia, seguido de hepatomegalia y cirrosis 14,63%, hígado graso 12,19%, ascitis, varices y edema en 4,87%. Al evaluar los criterios de laboratorio para inicio de tratamiento, 12 pacientes (29,3%) han presentado Alaninotransferasa (ALT) 2 veces por encima del valor normal, 4 pacientes (2,9%) son Antígeno e (AgeHB) positivo y solo un individuo ha resultado con carga viral elevada (>2000 UI/mL). Hasta 2010 ingresaron 6 pacientes a tratamiento con Baraclude 0,5/1 mg, de los cuales 5 fallecieron en virtud de que el inicio del tratamiento se efectuó en un estadio avanzado de la enfermedad clínica.

**CONCLUSIONES.** En los últimos 6 años, 20% a 25% de los pacientes con hepatitis viral corresponden a pacientes con diagnóstico serológico de portador crónico de Hepatitis B. Mas del 70% de los portadores crónicos de Hepatitis B no manifiestan alteraciones clínicas y de laboratorio. El abordaje oportuno mediante las pautas diagnósticas establecidas permitirá el éxito de los nuevos tratamientos iniciados. El seguimiento de las hepatitis virales y las actividades educativas han traído como beneficio el aumento significativo de la referencia de pacientes, aumentando la cobertura de pacientes diagnosticados e iniciando control y tratamiento de hepatitis B por primera vez, en una región con limitado acceso a atención médica especializada y donde los niveles de prevalencia sobrepasan a los del resto del país.

**PALABRAS CLAVES.** Hepatitis B. Amazonas. Síntomas.

\*Servicio Autónomo Centro Amazónico para la Investigación y Control de Enfermedades Tropicales. Contacto: cnatcard@botmail.com

## TL27. Caracterización de la infección por dengue en escolares de tres instituciones educativas de Medellín, Colombia

Leidy D. Piedrahita Espinosa\*, Jorge E. Osorio†, Juliana Duque Rodríguez\*, Ivony Agudelo Salas\*, Ruth Ramírez\*, Berta N. Restrepo Jaramillo\*

**INTRODUCCIÓN.** Dengue es la arbovirosis de mayor impacto en salud pública. En Colombia en el 2010 se notificaron 151.774 casos de dengue. Uno de los pilares para su control es el conocimiento de la magnitud. El estudio de su comportamiento en escolares puede reflejar lo que está ocurriendo en la comunidad.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la incidencia, seroprevalencia y serotipos circulantes de dengue en escolares de tres instituciones educativas (IE) de Medellín.

**METODOLOGÍA.** Se realizaron dos estudios descriptivos, uno de corte y otro longitudinal. La población de estudio estuvo constituida por 2.340 escolares de primaria y bachillerato de dos Instituciones Educativas oficiales y una no oficial. En el estudio de corte se tomó una muestra de sangre para la determinación de anticuerpos IgM contra el virus dengue. El estudio longitudinal consistió en la vigilancia del ausentismo escolar por síndrome febril de 7 o menos días de evolución en los niños inscritos en el estudio de corte. A estos escolares se les realizó evaluación médica y toma de muestra de sangre en fase aguda y convaleciente para detección de la infección por dengue mediante la detección de anticuerpos IgM contra el virus dengue y detección del antígeno viral por RT-PCR. La participación fue voluntaria.

**RESULTADOS.** En las tres IE ubicadas en los barrios de San Javier, Laureles y Poblado ingresaron 2.340 escolares, de los cuales el 53% correspondió al sexo femenino. Hubo representación de todos los grados escolares. En el estudio de corte fueron detectados 69 (2,9%) escolares con anticuerpos IgM positivos. La edad promedio fue 11,4 años (rango= 5 a 19 años). La distribución de los casos por sexo fue igual. En el estudio longitudinal fueron captados por ausentismo escolar con síndrome febril 146 participantes de los cuales 12 (8,2%) fueron presentaron anticuerpos IgM contra dengue y en tres de ellos se detectó el serotipo 1 por RT-PCR. En el estudio de corte fueron detectados 2,9% escolares con anticuerpos IgM. La edad promedio fue 11,4 años (5-19 años). La mayor frecuencia fue detectada en la IE del barrio San Javier, 3,9%; seguido por la del barrio Laureles, 3,4%. En el estudio longitudinal fueron captados por ausentismo con síndrome febril, 146 participantes de los cuales 12 (8,2%) presentaron anticuerpos IgM y en tres de ellos se detectó el serotipo DENV-1 por RT-PCR. En esta primera etapa del proyecto se observó una elevada incidencia del dengue en los escolares. Lo cual puede ser el reflejo de la epidemia del año 2010.

**PALABRAS CLAVES.** Anticuerpos IgG e IgM. Epidemiología. Incidencia. Serotipos dengue.

\*Instituto Colombiano de Medicina Tropical – Universidad Ces, Sabanaeta, Antioquia, Colombia. †Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, WI, USA.  
Contacto: brestrepo@ces.edu.co

## TL28. Comparación de cinco protocolos de extracción de ADN a partir de tejido incluido en parafina para la detección del virus del papiloma humano

Adalucy Álvarez Aldana\*, Juan Carlos Sepúlveda Arias\*

**INTRODUCCIÓN.** La detección de la infección por el virus del papiloma humano (VPH) se realiza mediante los exámenes citológico o histopatológico, los cuales no permiten la tipificación viral. Los métodos moleculares, permiten la detección y tipificación viral. Los tejidos incluidos en parafina son ideales para estudios retrospectivos, debido a la facilidad de almacenamiento y preservación del tejido, a pesar de que los ácidos nucleicos extraídos de este material tienen menor calidad que los extraídos de tejidos frescos.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar cinco métodos de extracción de ADN a partir de tejidos incluidos en parafina que permitan la detección del ADN del VPH mediante PCR y su tipificación.

**METODOLOGÍA.** Se realizó raspado del sitio de la lesión en los cortes de 5 mm de 32 biopsias de cuello uterino incluidas en parafina (16 de lesiones preinvasivas y 16 de invasivas). Cada una de las muestras se sometió a extracción de ADN por cinco protocolos (a-e) que se diferenciaban en: el proceso de desparafinado, la obtención de un extracto crudo o purificado y el método de purificación. Se realizaron 160 extracciones de ADN y el material se sometió a PCR para amplificar beta globina humana, con dos parejas de cebadores que generan fragmentos de diferente tamaño (110 pb y 209 pb), y para la detección del VPH con una pareja de cebadores que amplifica una región de 150 pb del gen L1. Las muestras positivas para el gen L1 se sometieron a una PCR que genera un fragmento de 228-268 pb para detección de una secuencia consenso de algunos de los genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 45 y 58).

**RESULTADOS.** Con respecto a los diferentes protocolos utilizados para la extracción de ADN para el fragmento de 110pb por el protocolo “a”, “b”, “c”, “d” y “e” se obtuvieron respectivamente 29, 29, 25, 23 y 28 muestras positivas, mientras que para el fragmento de 209 pb el número de muestras positivas fue menor, 4, 8, 5, 8 y 12 respectivamente. De las 32 muestras sólo tres fueron positivas para el VPH y pertenecían a lesiones invasivas. Estas tres muestras fueron positivas únicamente con los protocolos “a” y “e”, aunque la intensidad del amplicon fue menor por el protocolo “a”. Además, en estas tres muestras se amplificó el fragmento de 110 pb por ambos protocolos, pero para el fragmento de 209 pb hubo amplificación por el protocolo “e” pero solo una por el protocolo “a”. Estas tres muestras fueron positivas para la secuencia consenso de los genotipos de alto riesgo por ambos protocolos.

**CONCLUSIONES.** La baja detección del fragmento de 209 pb con respecto al de 110 pb podría explicarse por la fragmentación que se presenta en el ADN debido a entrecruzamientos de las hebras en presencia de formaldehído. El hecho de que se asegure una buena calidad del ADN de este tipo de tejidos al someter las muestras previamente a amplificación de un gen humano como es el caso de la beta globina, no asegura la positividad al VPH. La ausencia de amplificación del gen de la beta globina, empleado como control de calidad del ADN no necesariamente indica que las muestras deban eliminarse, dado que, como lo observamos en el estudio, algunas muestras negativas para beta globina fueron positivas para el VPH. El protocolo “a” podría ser mejor ya que el protocolo “e” es comercial y por lo tanto de alto costo con respecto al “a”.

**PALABRAS CLAVES.** VPH. PCR. Extracción de ADN. Tejidos incluidos en parafina.

\*Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira. Contacto: aldanaadalucy@utp.edu.co

## TL29. Evaluación prospectiva del virus vacunal de bronquitis infecciosa aviar en una granja avícola de pollo de engorde del departamento de Cundinamarca, Colombia

Diana C. Álvarez Espejo\*, Javier A. Jaimés-Olaya†, Jairo Jaime Correa\*, Gloria C. Ramírez Nieto\*, Víctor J. Vera Alfonso\*

**INTRODUCCIÓN.** La Bronquitis infecciosa aviar (IBV) se encuentra entre las enfermedades respiratorias de mayor importancia en pollo de engorde siendo la causa de múltiples pérdidas económicas debido a efectos tales como disminución en la ganancia de peso, aumento de conversión alimenticia y presencia de contaminación secundaria por bacterias como *E. coli*, *Mycoplasma sinoviae* y *Gallisepticum*. La bronquitis infecciosa ocasiona cuadros clínicos respiratorios que comienzan luego de un período de incubación de 18 a 36 horas, acompañados posteriormente de tos, estornudos y ruidos traqueales. En relación a la posible recirculación de la BI en granjas avícolas, diversos autores han determinado la existencia de infecciones persistentes en pollo de engorde y ponedora comercial, debido a que posiblemente la infección puede permanecer intacta a la acción de los anticuerpos recirculantes en el tracto respiratorio y digestivo.

**OBJETIVO GENERAL.** Se realizó la evaluación prospectiva de la carga viral del virus de bronquitis infecciosa aviar (IBV) en una granja de pollo de engorde donde previamente se identificó su presencia por RT-PCR. Se determinó la presencia de IBV en aves vacunadas con un inmunógeno vivo atenuado Massachusetts H120 y en aves no vacunadas tanto en condiciones de campo como en condiciones de semi aislamiento.

**METODOLOGÍA.** Se tomaron muestras de hisopos traqueales cada cuatro días desde el 1 día hasta el día 40 posvacunación a 132 aves de un día de edad pertenecientes a la estirpe Ross en tres grupos de 44 aves denominados grupo 1, grupo 2 y grupo 3. Grupo 1: aves vacunadas por aspersión en planta de incubación contra el IBV el primer día de edad. Grupo 2: aves no vacunadas contra el IBV. Las aves de los grupos 1 y 2 fueron alojadas en el mismo galpón de la granja avícola ubicada en el municipio de Fusagasugá (Cundinamarca). Grupo 3: aves vacunadas contra el IBV el primer día de edad, alojadas en condiciones de semi aislamiento en la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Los tres grupos recibieron alimento y agua a voluntad, así como las vacunas contra enfermedad de Newcastle, enfermedad de Marek, viruela aviar y enfermedad de Gumboro; para esta última enfermedad se utilizó una vacuna recombinante. Por medio de la técnica de qRT-PCR se detectó y cuantificó de forma absoluta el cADN del IBV, en las muestras de hisopo traqueal proveniente de las aves muestreadas.

**RESULTADOS.** En las aves alojadas en granja, el IBV se detectó por qRT-PCR sólo hasta el día 24 de edad, observándose la presencia del virus los días 24 y 28 en el grupo vacunado y el día 24 en el grupo no vacunado. En las aves en aislamiento el virus se detectó únicamente el día 28. Se realizó la caracterización de las cepas detectadas mediante la secuenciación de nucleótidos de la región S1 observándose similitud con cepas de origen vacunal del serotipo Massachusetts H120.

**CONCLUSIONES.** Se comprobó la persistencia del IBV vacunal en las aves muestreadas desde el día 24 hasta el día 28, sin producir sintomatología clínica ni lesiones compatibles con la enfermedad en las aves, debido posiblemente a un adecuado estatus inmune de las aves. Estos hallazgos sugieren que el virus puede permanecer intacto en el tracto respiratorio gracias a la pobre influencia que tienen los anticuerpos circulantes sobre estos órganos.

**PALABRAS CLAVES.** Bronquitis Infecciosa. qRT-PCR. Persistencia viral.

\*Grupo de Microbiología y Epidemiología Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. †Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de la Salle. Contacto: dcmalvarez@gmail.com

## TL30. El IFN-β ejerce un efecto antiviral sobre la infección lítica por HSV-1 en cultivos primarios de ganglio trigeminal murino

Ana M. Low-Calle†, Jeanette Prada-Arismendy†, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) se replica en células epiteliales y se disemina al ganglio trigeminal (GT) estableciendo infecciones latentes. Se ha descrito un papel importante del Interferón-γ (IFN-γ) y los linfocitos CD8 en esta etapa de infección, pero el papel del IFN-β en la infección por HSV-1 en el GT es poco conocido.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la actividad de IFN-β frente a HSV-1 en cultivos primarios de GT murino, caracterizando cambios en viabilidad celular, producción viral y expresión de genes virales.

**METODOLOGÍA.** Se realizaron cultivos primarios de GT de ratones adultos. Posteriormente, fueron tratados con diferentes concentraciones de IFN-β por 6 h y se infectaron con HSV-1 MOI: 1 por 28 h. A continuación se evaluó viabilidad celular por MTT y se cuantificaron títulos virales por ensayo de plaqueo, para determinar la dosis de IFN-β con el mayor efecto antiviral. Finalmente se realizó inmunoperoxidasa para HSV-1 para cuantificar el porcentaje de células positivas para antígeno viral. Por otro lado, a cultivos de GT tratados con IFN-β e infectados con HSV-1 por 6 y 12 h, se realizó extracción de RNA y se cuantificó la expresión de los genes virales ICP0, TK y gB por PCR en tiempo real.

**RESULTADOS.** El modelo de cultivo primario de GT posee un 15% de neuronas. La infección con HSV-1 por 28 h disminuyó la supervivencia celular (45,5%), pero el tratamiento con 1, 100 y 1.000 U/mL de IFN-β la incrementó de manera dosis-dependiente (48,3%, 76,1% y 100%, respectivamente) y al mismo tiempo disminuyó los títulos virales en 33,3%, 77,4% y 86,6%, con cada una de las concentraciones usadas. Adicionalmente, el IFN-β disminuyó el porcentaje de células neuronales positivas para antígeno viral del 72,9% al 16,7% y las no neuronales disminuyeron del 48,3% a 7,8%. Finalmente se evidenció que durante la infección ocurre la expresión de los 3 tipos de genes virales, pero el pretratamiento con IFN-β disminuye esta expresión.

**CONCLUSIONES.** En cultivos de GT ocurre replicación viral lítica evidenciada por disminución de viabilidad celular, obtención de partículas virales infecciosas y la expresión de los 3 tipos de genes virales del ciclo lítico. Pero la replicación viral disminuyó con el tratamiento con IFN-β, disminuyendo la diseminación del virus en la monocapa, la presencia de antígeno viral en las células y la expresión de genes virales. Indicando que el IFN-β posee un efecto antiviral importante para controlar la infección por HSV-1 en cultivos primarios de GT.

**PALABRAS CLAVES.** HSV-1. Ganglio trigeminal. IFN-β. Actividad antiviral.

\*Grupo Patógenos Viral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. †Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. \*Contacto: jecastellanos@unal.edu.co



### TL31. Construcción de un replicón subgenómico de virus dengue y una línea celular estable para la trans-complementación y generación de partículas infecciosas bioseguras

Usme-Ciro JA\*, Lopera-Madrid JA\*, Álvarez-Díaz DA\*, Orozco-García E\*, Cardona-Gómez GP\*, Almazán F†, Gallego-Gómez JC\*

**INTRODUCCIÓN.** Desde las primeras aplicaciones de la genética reversa a la clonación de genomas de virus RNA y construcción de clones infecciosos, los replicones han sido la mejor opción de manipulación, principalmente para virus que requieren altos niveles de contención biológica como el coronavirus, causante del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV), el virus de la encefalitis japonesa (JEV), el virus del nilo occidental (WNV) e incluso el virus dengue (DENV), considerado un agente de nivel 3 en muchos países del primer mundo. Los replicones subgenómicos son genomas carentes de alguno de sus componentes, capaces de replicarse, pero sin la habilidad para ensamblar nuevas partículas infecciosas en ausencia de algún sistema de trans-complementación. En la actualidad, los replicones son una importante herramienta para la evaluación de compuestos antivirales (p. ej., siRNAs), para la dilucidación de la función de elementos genómicos, como vector viral para terapia génica y para el desarrollo de vacunas genéticas.

**OBJETIVO GENERAL.** Construir un replicón de virus dengue serotipo 2 en cromosoma artificial bacteriano (BAC), bajo el control transcripcional de un promotor eucariota y generar una línea celular para la expresión estable de los genes estructurales C-prM-E.

**METODOLOGÍA.** En el presente estudio se utilizó un cDNA infeccioso de DENV previamente clonado en BAC, bajo el dominio del promotor temprano de citomegalovirus. Para la generación del replicón fue necesaria la eliminación de los genes estructurales mediante PCR y clonación secuencial. Se preservó la secuencia 5'CS ubicada en la región 5' del gen de la cápside, crítica para la circularización del genoma durante la replicación, y la señal de reconocimiento por proteasa en la región intergénica E-NS1. El gen reportero EGFP fue insertado en la región correspondiente a los genes estructurales, en el mismo marco de lectura de toda la poliproteína viral. Se construyó un casete de expresión de los genes estructurales C-prM-E, mediante la amplificación de dichos genes, modificación de la región compartida con el replicón y clonación en el vector de expresión eucariota pcDNA3.1(+). Se generaron clones de células Vero, expresando establemente los genes estructurales virales (Vero-Struct). Finalmente se evaluó su funcionamiento por RT-PCR en tiempo real, Western Blot, Inmunofluorescencia e Imagenología de Células Vivas (LCI).

**RESULTADOS.** En el proceso de clonación se obtuvieron clones intermedios: pBAC-NS1/3, pBAC-dSTRUCT y pBAC-dSTRUCT-GFP y finalmente por subclonación en pBAC-DENV-FL, el replicón pBAC-DENV-Rep. Para el empaquetamiento de partículas virales bioseguras se generaron cuatro clones de Vero-Struct, cuyos niveles de expresión de la proteína de envoltura fueron evaluados por Western Blot. Resultados preliminares de RT-PCR en tiempo real e inmunofluorescencia demuestran la correcta transcripción y traducción desde el promotor CMV, así como la generación de hebras negativas de RNA demostrando replicación autónoma del genoma del replicón.

**CONCLUSIONES.** La presencia del gen reportero EGFP en el replicón de DENV, lo convierte en una importante herramienta para la evaluación del efecto de casi cualquier tratamiento sobre la replicación del genoma viral. El sistema de empaquetamiento permitirá la generación de partículas infecciosas bioseguras, una alternativa terapéutica para la restauración de función celular o inducción de respuesta inmune en el caso de vacunas genéticas.

**PALABRAS CLAVES.** Virus Dengue. *Flavivirus*. Replicón. Genética Reversa.

\*Viral Vector Core and Gene Therapy, Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, SIU, Universidad de Antioquia. †Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC Darwin, Campus Universidad Autónoma, Cantoblanco, Madrid, España. Contacto: juan.gallegomez@gmail.com

### TL32. La infección lítica por HSV-1 induce la expresión del supresor de señalización de citocinas-3 (SOCS-3) e inhibe parcialmente la señalización de interferon en cultivos primarios de ganglio trigeminal murino

Ana M. Low-Calle†, Jeanette Prada-Arismendy†, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus Herpes Simplex tipo 1 (HSV-1) se replica en células epiteliales y se disemina al ganglio trigeminal (GT) estableciendo una infección latente. Se ha descrito que el HSV-1 posee mecanismos de evasión de la respuesta a interferón (IFN) que se han descrito en diferentes células, pero no se conoce si ocurren durante la etapa de infección en el GT.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar si el tratamiento con IFN- $\beta$  ejerce cambios en la expresión de genes inducidos por IFN- $\beta$  y genes virales en cultivos primarios de GT murino infectados con HSV-1. Además, evaluar si la infección por HSV-1 afecta la activación de la señalización Jak-Stat del IFN- $\beta$ .

**METODOLOGÍA.** Cultivos primarios de GT murino enriquecidos en neuronas fueron tratados con IFN- $\beta$  por 6 h e infectados con HSV-1 por 6 y 12 h. Se realizó extracción de RNA y PCR en tiempo real cuantificando la expresión de genes celulares Oas1a, Pkr, Socs-3 y  $\beta$ -actina. Adicionalmente, en cultivos de GT previamente infectados con HSV-1 y tratados con IFN- $\beta$  por 15min, se evaluó la activación de la cascada de señalización de IFN- $\beta$  cuantificando la fosforilación de Jak-1 y Stat-1 por Western blot.

**RESULTADOS.** La infección con HSV-1 de cultivos de GT causó una sobreexpresión de Oas1a, pero al mismo tiempo causó la desregulación de los niveles constitutivos de Pkr. Por otro lado, el tratamiento con IFN- $\beta$ , incrementó la expresión de los genes inducidos por IFN- $\beta$  Pkr y Oas1a. Adicionalmente, la infección con HSV-1 a las 12 h causó una sobreexpresión del supresor de señalización de citocinas-3 (SOCS-3), que se disminuye por el efecto del tratamiento con IFN- $\beta$ . Por otro lado, la infección por HSV-1, disminuye parcialmente la fosforilación de Jak-1 y Stat-1, inducida por el tratamiento con IFN- $\beta$ .

**CONCLUSIONES.** En cultivos de GT el IFN- $\beta$  causa sobreexpresión de genes de respuesta antiviral. Pero la infección causa una inhibición parcial de la vía de señalización e induce la sobreexpresión de Socs-3 como un posible mecanismo de apagamiento de la señal de IFN, el cual se inhibe por el pre-tratamiento con IFN- $\beta$ . Esto indica que el HSV-1 posee mecanismos de modulación de la respuesta a IFN durante la infección del GT que le podrían permitir replicarse y establecer infecciones eficientemente al disminuir el efecto antiviral del IFN.

**PALABRAS CLAVES.** HSV-1. Genes estimulados por IFN. Socs-3. Jak-Stat.

\*Grupo Patogénesis Viral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. †Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Contacto: jecastellanos@unal.edu.co

### TL33. Efecto antiviral de alcaloides derivados de *Capparis odoratissima* sobre la infección por virus dengue en cultivo celular

Andrea Trujillo-Correa\*, Fredyc Diaz-Castillo †, Moisés Carrascal Medina ‡, Sara Robledo-Restrepo\*, Marlén Martínez-Gutiérrez ‡

**INTRODUCCIÓN.** Las plantas y sus productos naturales construyen un recurso para el desarrollo terapias antivirales frente a diferentes virus, entre ellos el virus dengue (DENV). Dentro de las sustancias aisladas de plantas que han sido reportadas con potencial antiviral se encuentran los alcaloides, los cuales son metabolitos secundarios que poseen un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos. Dentro de las plantas que contienen alcaloides como las glucosidasas, se encuentran las del género *Capparis*. Teniendo en cuenta que recientemente hemos demostrado que extractos derivados de *Capparis odoratissima* producen un efecto antiviral en células infectadas con DENV-2, se hizo un subfraccionamiento para identificar moléculas específicas con actividad antiviral.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto citotóxico y antiviral de fracciones y subfracciones derivadas de *Capparis odoratissima* sobre la infección por DENV-2 en cultivos celulares.

**METODOLOGÍA.** Los extractos evaluados previamente que demostraron una mayor inhibición del DENV-2 Cepa Nueva Guinea (NGC), fueron fraccionados por cromatografía en columna. Inicialmente se determinó la Concentración Citotóxica 50 (CC50) de las fracciones a través de la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) y luego se evaluó la actividad antiviral en células VERO infectadas con DENV2 NGC, tratadas con las fracciones a diferentes concentraciones no citotóxicas (entre 250 y 7,81 µg/ml). El efecto antiviral se determinó a través de la titulación de sobrenadantes recolectados 48 horas post-infección por medio del ensayo titulación por plaqueo. La actividad antiviral se expresó como la Concentración Efectiva 50 (CE50), calculada usando el software Probit. Los índices de Selectividad (IS) se expresaron como la relación entre la CC50/CE50.

**RESULTADOS.** La evaluación inicial del extracto redujo la infección viral en más del 90% con respecto al control. La CC50 fue de 40 µg/ml y el IS fue mayor a 10. Por esta razón se consideró el extracto promisorio y se realizó el fraccionamiento, obteniéndose dos fracciones: La fracción CO-H/M (obtenida por separación líquido/líquido en Etanol) y la fracción CO-H/H (obtenida por separación líquido/líquido en Hexano). Con la fracción CO-H/M se obtuvo un IS de 0,41, mientras que con la fracción CO-H/H, el IS fue de 9,8, lo que quiere decir que la actividad antiviral se concentra en la fracción obtenida con hexano. Posteriormente, se obtuvieron 6 subfracciones a partir de dicha fracción. Los IS obtenidos con cada una de las subfracciones fueron COSF-0: 1.21; COSF-02:11.8, COSF-03: 2.1; COSF-04: 0.9; COSF-05: 0.84 y COSF-06: 64,3). La subfracción más promisorio resulto ser COSF-06 la cual inhibió la infección en porcentajes mayores al 90%. Al hacer el análisis cromatográfico de capa delgada en tres sistemas de solventes diferentes de esta subfracción, se observó una sola banda; y la tamización fitoquímica preliminar de la misma, dio prueba positiva para alcaloides con los reactivos de Dragendorff y Wagner.

**CONCLUSIONES.** La actividad antiviral de *Capparis odoratissima* se concentró en la subfracción más polar (F006) proveniente de una cromatografía en columna abierta de la porción soluble en hexano de la partición líquido-líquido del extracto etanólico total de esta especie, la cual corresponde a un alcaloide. Teniendo en cuenta que se ha demostrado que ciertos alcaloides impide que las proteínas virales adquieran un plegamiento normal, bloqueando así la morfogénesis de los viriones, estudios en curso nos permitirán identificar los pasos replicativos del DENV que están siendo afectados por esta subfracción.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Antivirales. *Capparis odoratissima*. Alcaloides.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Medellín, Colombia. †Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas -LIFUC-Universidad de Cartagena, Colombia. ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: mmartinezg@udea.edu.co

### TL34. El inmunoregulador sST2 no regula la producción de TNF-alfa e IL-6 en monocitos humanos infectados con virus dengue

Marisol Pérez\*, Félix G. Delgado\*, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus dengue (DENV) produce una infección aguda que involucra una sobreproducción de citocinas proinflamatorias capaces de inducir cambios en la permeabilidad vascular. De forma similar, se han reportado niveles aumentados de ST2 soluble (sST2) en el suero de pacientes con dengue; sin embargo, la importancia biológica de este fenómeno no ha sido entendida. sST2 es un miembro de la familia de receptores de la IL-1, al que se le ha descrito un papel inmunoregulador en modelos murinos de sepsis, artritis e isquemia, enfermedades que involucran una reacción inflamatoria no controlada.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto de la proteína sST2 sobre la producción de TNF-alfa e IL-6 en un modelo de infección *in vitro* con DENV-2.

**METODOLOGÍA.** Células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y monocitos humanos, fueron tratados o no con 10 µg/mL de sST2 por 3 horas y posteriormente infectados con DENV-2 (MOI=0,1) o estimulados con 50 ng/mL de LPS por 6, 12 ó 24 horas. Posteriormente, se analizó por citometría de flujo la presencia intracelular de antígeno viral, TNF-alfa e IL-6. En los sobrenadantes, fue cuantificada la presencia de TNF-alfa e IL-6 por citometría de flujo y de sST2 por ELISA.

**RESULTADOS.** Las CMSP fueron permisivas a la infección *in vitro* con DENV-2 y en los sobrenadantes se detectó la presencia de TNF- $\alpha$  e IL-6, pero no de sST2. Las células CD14+ fueron identificadas como la subpoblación celular preferencialmente infectada y responsable de la producción de TNF- $\alpha$  e IL-6. Por otro lado, la proteína sST2 ejerció su efecto inmunoregulador al disminuir la producción de TNF- $\alpha$  e IL-6 en monocitos estimulados con LPS; sin embargo, este efecto no fue observado cuando los monocitos fueron pretratados con sST2 y posteriormente infectados con DENV-2.

**CONCLUSIONES.** Este trabajo describe por primera vez el efecto inmunoregulador de sST2 sobre cultivos primarios de monocitos humanos estimulados con LPS y muestra evidencia que sugiere que esta proteína no ejerce un efecto regulador sobre la producción de TNF-alfa e IL-6 cuando estas células son infectadas *in vitro* con DENV-2. Estos resultados soportan la idea de que los niveles elevados de sST2, observados en el suero de pacientes con dengue, podrían no estar relacionados con la regulación de la respuesta inmune durante la infección.

**PALABRAS CLAVES.** DENV. sST2. Monocitos. TNF-alfa.

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Contacto: castellanosjaime@unbosque.edu.co

## TL35. Predicción y validación de precursores de micrnas en el genoma de virus dengue durante la infección

Natalia Campillo-Pedroza\*, Kahori Takane†, Akio Kanai†, Juan C. Gallego-Gómez\*

**INTRODUCCIÓN.** Los microRNAs (miRNAs) son RNAs no codificantes, identificados como reguladores de la expresión de genes por medio de RNA interferente del hospedero y virales durante la infección, lo que le ha permitido a los virus apropiarse de los mecanismos celulares, para crear un ambiente que beneficie las diferentes etapas de su ciclo replicativo. Esta clase de RNAs han sido identificados y ampliamente estudiados en virus DNA con replicación en el núcleo, lo que les permite estar en contacto con la enzima Drosha implicada en el procesamiento de miRNAs por vía canónica. No obstante, como los virus RNA realizan su replicación en el citoplasma, se ha postulado que no tienen la capacidad de procesar miRNAs. Nuevas evidencias sugieren que el procesamiento de RNAs subgenómicos no codificantes por virus RNA, tales como *West Nile Virus*, *Yellow Fever Virus* y *Virus Dengue* son de suma importancia en la patogénesis viral. Como estos virus pertenecen al género Flavivirus, se hace necesario determinar el procesamiento de miRNAs del DENV, posiblemente implicados en el ciclo replicativo.

**OBJETIVO GENERAL.** Predecir y validar posibles precursores candidatos a miRNAs en el genoma del virus Dengue tipo 2 (DENV-2).

**METODOLOGÍA.** Para cumplir el objetivo propuesto, se inició con la predicción bioinformática de los posibles precursores candidatos a miRNAs en el genoma de DENV-2, para esto se usaron dos *software*. El programa Vmir® es específico para predecir miRNAs virales, porque no tiene en cuenta el parámetro de conservación de secuencia; por lo tanto, con este programa se hace una predicción sobrestimada de los precursores candidatos. Para filtrar los precursores candidatos a miRNA predichos con el software Vmir, se usó el software microPred®, este programa funciona con una máquina de aprendizaje; para hacer la selección de los candidatos más probables, se le introduce información sobre la estructura y parámetros distintivos de miRNAs validados, a este conjunto de datos se le conoce como datos positivos; adicionalmente se proporciona un segundo conjunto de datos, que lo componen los parámetros distintivos de pequeños RNAs que no son miRNAs, denominados datos negativos, de esta manera el programa selecciona los candidatos precursores a miRNAs más probables. Finalmente el proceso de validación se hizo mediante la técnica Northern Blot no radiactivo utilizando sondas LNA (*locked nucleic acid*) diseñadas para detectar precursores y miRNAs maduros en cultivos infectados con DENV-2.

**RESULTADOS.** Como resultado de la predicción bioinformática se obtuvieron cuatro candidatos precursores a miRNA (MR170, MR25, MR68, MR82), todos predichos en la cadena negativa (3' - 5'). El procesamiento de los candidatos MR170 y MR25 han sido validados por Northern Blot.

**CONCLUSIONES.** Los resultados obtenidos sugieren que DENV-2, un virus RNA con replicación en el citoplasma, tiene la capacidad de procesar miRNAs que podrían estar relacionados con la patogenicidad viral. Lo anterior aporta al conocimiento del proceso de infección y puede representar posibilidades de diagnóstico/tratamiento.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. RNA interferente. MicroRNAs. Genómica médica.

\*Viral Vector Core and Gene Therapy del Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. †Institute for Advanced Biociences, Keio University, Japan. Contacto: juanc.gallegomez@gmail.com.

## TL36. La inhibición de las enzimas histona desacetilasas altera la expresión de TNF-alfa e IL-6 en células mononucleares de sangre periférica humanas infectadas con virus dengue

Félix G. Delgado\*, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** Durante la infección con virus dengue se produce una expresión aumentada de citocinas tales como TNF-alfa e IL-6, las cuales son importantes en la patogenia de la enfermedad. Por otro lado, se ha descrito que la inhibición de las enzimas histona desacetilasas (HDAC) puede regular la respuesta inmune en varios modelos murinos de enfermedad inflamatoria, convirtiéndose en un blanco potencial cuyo control farmacológico podría ofrecer nuevas perspectivas terapéuticas. En Colombia, la enfermedad causada por infección con virus dengue es considerada un problema de salud pública y a la fecha no existe una vacuna o tratamiento farmacológico que controle eficientemente esta enfermedad; por tal razón, resulta muy importante evaluar a través de ensayos *in vitro* la actividad farmacológica de moléculas que puedan potencialmente ofrecer algún tipo de ventaja terapéutica para su control.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto de la inhibición de las HDAC por tricostatina A (TSA) y ácido valproico (AV) en la expresión de TNF-alfa e IL-6 en células mononucleares de sangre periférica infectadas con virus dengue.

**METODOLOGÍA.** Células mononucleares de sangre periférica humanas fueron pretratadas por 3 horas con TSA (100, 200 o 400 nM) o AV (1, 2, 4 mM) y posteriormente infectadas con virus dengue (MOI=0,1) o tratadas con lipopolisacárido (50 ng/mL) como control positivo e incubadas nuevamente, ya sea por 3 horas adicionales para la obtención de RNA y posterior análisis de la transcripción de los genes de beta-actina, TNF-alfa e IL-6 por qRT-PCR o por 24 horas adicionales para la recuperación de los sobrenadantes de cultivo y posterior cuantificación de las citocinas TNF-alfa e IL-6 por citometría de flujo empleando un inmunoensayo basado en perlas (BD™ CBA Cytometric Bead Array).

**RESULTADOS.** La infección por virus dengue indujo un aumento de cerca de 6 veces la expresión de mRNA para TNF-alfa y de 40 veces para IL-6. La inhibición de las HDAC con TSA o AV, en todas las concentraciones usadas, logró disminuir de manera significativa la transcripción de TNF-alfa e IL-6 en las células infectadas, reduciéndola hasta un máximo de 8 veces. De igual forma, se observó una disminución significativa de la concentración de las citocinas TNF-alfa e IL-6 detectada en los sobrenadantes de los cultivos de células infectadas y tratadas con ambos inhibidores.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados sugieren que la inhibición de las HDAC durante la infección con virus dengue podría tener un efecto regulador importante en la expresión y producción de las citocinas proinflamatorias TNF-alfa e IL-6, convirtiéndose en una posible estrategia terapéutica que merece más estudios.

**PALABRAS CLAVES.** DENV. Inhibidores HDAC. TNF-alfa. IL-6.

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Contacto: castellanosjaime@unbosque.edu.co



### TL37. Detección serológica y molecular del virus de la hepatitis E, en sueros de pacientes con diagnóstico negativo para otras hepatitis virales, Colombia, 2005-2010

Dioselina Peláez Carvajal\*, Lady Contreras Gómez†, Yaneth Estepa Avellaneda‡

**INTRODUCCIÓN.** El virus de la hepatitis E (VHE), ampliamente distribuido a en todo el mundo, es responsable de más del 50% de los casos de hepatitis viral en países endémicos, se ha estimado que la tasa total de afectados se sitúa alrededor del 2,5% en adultos y 1,2% en niños y jóvenes. La infección por VHE presenta características clínicas y epidemiológicas similares a las de hepatitis A aguda, transmitiéndose principalmente por vía fecal-oral o a través de agua contaminada, se manifiesta tanto en forma de casos esporádicos como de brotes epidémicos. Se considera que los cerdos son un importante reservorio del virus, siendo así el primer animal donde se encontraron cepas de VHE pertenecientes al genotipo 3, este genotipo está relacionado con cepas de VHE aisladas en humanos de los EE.UU lo que podría afirmar el poder de transmisión en personas expuestas a porcinos tales como veterinarios y granjeros, en donde se observa una seroprevalencia del 23% al 26%; no obstante, las personas que viajan a países endémicos se encuentran en riesgo de contraer hepatitis E, aunque no siempre se asocian casos positivos con posibles viajes a estas zonas. Aunque la enfermedad generalmente es autolimitada, puede tener complicaciones graves y una alta tasa de letalidad, especialmente en mujeres embarazadas (aproximadamente el 20%).

**OBJETIVO GENERAL.** Detectar serológica y molecularmente VHE en sueros de pacientes con diagnóstico negativo para otras hepatitis virales conservados en la seroteca del Grupo de Virología del INS, período 2005-2010.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron, mediante ELISA, 253 sueros con diagnóstico negativo para otras hepatitis virales (VHA, VHB, VHC) y 44 sueros positivos para IgM anti hepatitis A para de detectar coinfección con VHE. A los sueros con IgG e IgM positivos se les realizó búsqueda de RNA viral mediante RT-PCR, estandarizada en el laboratorio, con control positivo genotipo 3, el cual donó el laboratorio de hepatitis virales del Instituto Nacional de Higiene de los Estados Unidos.

**RESULTADOS.** Se encontró una reactividad del 6,39% (n=16) de las muestras analizadas para los marcadores serológicos IgG e IgM anti-VHE y el RNA viral fue detectado en 2 de las 16 muestras con serología positiva.

**CONCLUSIONES.** La fase aguda de la infección fue detectada en el 2% (n=1) de las muestras positivas. La ausencia de anticuerpos IgM en el resto de las muestras positivas para el marcador IgG, 5,7% (n=14), puede ser debido a una infección pasada por VHE o una infección reciente con reducción de los títulos del marcador IgM. Debido a la cantidad de muestras procesadas y a la no representación de todo el territorio colombiano, no fue posible indicar un porcentaje de seroprevalencia para el país.

**PALABRAS CLAVES.** Virus de la hepatitis E. ELISA. RT-PCR. Hepatitis E.

\*Grupo de virología, Instituto Nacional de Salud. †Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Contacto: dpeluez@ins.gov.co

### TL38. Evaluación del potencial antiviral de moléculas derivadas de esponjas marinas del GOLFO de Urabá sobre la infección por virus dengue

Luisa F. Arbeláez García\*, Carolina Hernández\*, Elkin Galeano†, Olivier P. Thomas‡, Alejandro Martínez‡, Marlén Martínez Gutiérrez\*§

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia en el mundo y es causada por el virus dengue (DENV). A pesar de la importancia de la enfermedad hasta la fecha no se han aprobado vacunas que permitan prevenir la infección por el virus dengue y se ha determinado como prioridad la búsqueda de productos con actividad antiviral. Por otro lado, las esponjas marinas han demostrado ser una fuente de nuevas moléculas y de gran potencia farmacológica. Algunas de ellas ya están siendo comercializadas como medicamentos y algunos extractos de esponjas marinas colombianas ya han mostrado su capacidad larvicida frente *Aedes Aegypti* el vector del DENV.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto antiviral de once moléculas tipo bromotirosinas, derivadas de esponjas marinas, sobre la replicación por DENV serotipo 2 en un modelo *in vitro*.

**METODOLOGÍA.** Del extracto orgánico de las esponjas marinas del Golfo de Urabá, *Verongula rigida* y *Aiolochoira crassa*, fueron aislados mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) once moléculas tipo bromotirosinas, las cuáles fueron caracterizadas mediante las técnicas instrumentales: resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, infrarrojo y ultravioleta. Se evaluó la citotoxicidad de las 11 moléculas en células U937 en concentraciones que van desde 100 µM hasta 3 µM por medio de un ensayo de MTT (3-(4,5 dimetil tiazole-2yl)-2,5 difeniltetrazoliumbromide). Una vez se identificó la máxima concentración no citotóxica, las células fueron infectadas con DENV serotipo 2, cepa de referencia Nueva Guinea a una MOI de 5, en ausencia o presencia de cada una de las moléculas. 24 horas postinoculación se recolectaron los sobrenadantes y se hizo cuantificación absoluta del número de copias genómicas por PCR en tiempo real.

**RESULTADOS.** De las once moléculas evaluadas, tres de ellas mostraron efecto antiviral en alguno de los pasos del ciclo replicativo del virus. A una concentración de 25 µM el porcentaje de inhibición para la molécula VR-F3-P2 (Aeroplisinina1 de *Verongula rigida*) fue de 62,7 ± 1,2; y para las moléculas AC-F2-P7 (Aeroplisinina 1 de *Aiolochoira crassa*) y VR-F3-P9 (Fistularin 3), a una concentración de 50 µM, los porcentajes de inhibición fueron 78,11 ± 9,6 y 74,3 ± 25, respectivamente.

**CONCLUSIONES.** Algunas de las moléculas derivadas de esponjas marinas del Golfo de Urabá demostraron tener actividad antiviral contra DENV-2, en alguno de los pasos del ciclo replicativo. Estudios en marcha permitirán dilucidar específicamente cuales son los pasos del ciclo replicativo los que están siendo afectados por estas moléculas. Adicionalmente este es el primer reporte de moléculas tipo bromotirosinas con actividad antiviral.

**PALABRAS CLAVES.** Virus Dengue. Esponjas marinas. Productos naturales. Efecto antiviral.

\*Programa de estudio y control de enfermedades tropicales PECET. †Grupo de Productos Naturales Marinos, Universidad de Antioquia. ‡Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et des Arômes, Université de Nice-Sophia Antipolis, France. §Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: mmartinez@udea.edu.co

### TL39. Desarrollo y evaluación de un bioplaguicida a base de nucleopoliedrovirus para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) en el cultivo de maíz

Juliana A. Gómez Valderrama\*, Paola E. Cuartas Otálora\*, Judith Guevara Agudelo\*, Gloria P. Barrera Cubillos\*, Carlos Espinel Correal\*, Laura F. Villamizar Rivero\*

**INTRODUCCIÓN.** El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) es considerada la plaga más importante del cultivo de maíz. Su manejo se ha realizado principalmente mediante el uso de insecticidas químicos, algunos de los cuales son altamente tóxicos y tienen un impacto ambiental negativo. Una alternativa de control de *S. frugiperda* es el uso de virus entomopatógenos de la familia Baculoviridae. El nucleopoliedrovirus de *S. frugiperda* (SfNPV) ha sido aislado en varios países como Estados Unidos, Nicaragua, Argentina y España, demostrando resultados promisorios. Hasta el momento no existe ningún producto a base de baculovirus registrado para el control de esta plaga en Colombia, por lo cual el objetivo del presente trabajo fue realizar el aislamiento de NPV de *S. frugiperda* nativos y desarrollar un bioplaguicida estable ante condiciones ambientales y eficiente para controlar la plaga en condiciones de campo.

**OBJETIVO GENERAL.** Para tal fin, se realizaron muestreos de larvas de *S. frugiperda* en los departamentos de Córdoba, Meta y Tolima y se realizó la búsqueda de partículas virales correspondientes a NPV. A partir de 2.140 larvas recolectadas se encontraron tres aislamientos de SfNPV nativos, uno en cada departamento muestreado. Los virus encontrados fueron caracterizados morfológicamente mediante microscopía electrónica de transmisión y de barrido, estableciendo que pertenecen a la familia de NPV múltiples y se determinó su tamaño. También se realizó su caracterización molecular, mediante análisis RFLP's y comparación con un SfNPV proveniente de Nicaragua. Se pudo determinar que los tres virus colombianos son similares en sus patrones moleculares, pero presentan bandas diferenciales en comparación con el aislamiento de Nicaragua, sugiriendo que los virus colombianos representan un nuevo aislamiento del SfNPV.

**METODOLOGÍA.** Por último, se realizó su caracterización biológica mediante la realización de bioensayos en los que se pudo determinar las concentraciones y tiempos letales (CL y TL) de los 3 aislamientos. La CL50 de los aislamientos osciló entre  $1,5 \times 10^5$  CI/mL y  $7,0 \times 10^5$  CI/mL y la mortalidad de las larvas se produjo en un período medio (TL50) de 161 a 172 horas. Se seleccionó el aislamiento NPV003 proveniente de Córdoba por ser el único aislamiento con el cual se observaron larvas con sintomatología de infección viral en condiciones de campo.

**RESULTADOS.** El virus seleccionado fue formulado, empleando la microencapsulación mediante evaporación de solvente con un polímero del ácido metacrílico. La formulación cumplió con los estándares de calidad definidos y fotoestabilizó eficientemente las partículas virales, reduciendo la inactivación causada por dicha radiación en un 38,6%. La formulación fue evaluada en plantas de maíz bajo condiciones de casa de malla y campo en Puerto López y Puerto Gaitán (Meta), seleccionando 1012 CI/Ha (1500g/Ha) como la concentración más adecuada para aplicación en campo y una frecuencia quincenal, con una eficacia para controlar la plaga del 81%. Finalmente, se validaron los resultados obtenidos en cultivos semicomerciales de maíz en tres localidades del departamento del Meta. En todos los casos la aplicación del bioplaguicida a la dosis y frecuencia determinada fue eficiente para controlar *S. frugiperda* sin necesidad de aplicar productos químicos.

**CONCLUSIONES.** En conclusión, los resultados promisorios mostrados por el bioplaguicida a base de SfNPV demuestran su potencial para ser incluido dentro de un programa de manejo integrado de la plaga, es un esquema de agricultura sostenible.

**PALABRAS CLAVES.** *Spodoptera frugiperda*. Baculovirus. Control Biológico. Bioplaguicida.

\*Investigadores Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria. CORPOICA. Contacto: jgomez@corpoica.org.co

### TL40. Evaluación del efecto de la curcumina en la infección por virus dengue en un modelo celular *in vitro*

Leonardo Padilla Sanabria\*, Juan C. Gallego†, María M. González\*, Jhon C. Castaño\*

**INTRODUCCIÓN.** La curcumina es una sustancia de color amarillo (diferuloylmetano), se extrae a partir de los rizomas de la cúrcuma longa, se ha utilizado tradicionalmente en la cultura oriental para el tratamiento de muchas enfermedades y actualmente se han publicado varias investigaciones donde se evidencia su actividad antitumoral, inmunomoduladora, antioxidante, antiinflamatoria, antifúngica y antiviral. Respecto a la actividad antiviral, se ha observado que la curcumina posee capacidad de alterar la infección “*in vitro*” de diferentes virus entre los que se encuentran: Epstein Barr, HIV, Coxsackie, encefalitis japonesa, entre otros.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto de la curcumina en la infección por virus dengue en un modelo celular *in vitro* y dilucidar su posible mecanismo de acción.

**METODOLOGÍA.** Se realizaron tratamientos con curcumina entre 10 a 30  $\mu$ M por 24 horas, en células infectadas previamente con virus dengue tipo 2 (VD), a una concentración constante de virus (MOI 1 y 5) luego, se tomó los sobrenadantes y se realizó recuento viral por la técnica de plaqueo; mediante Western blot, se determinó la alteración del sistema ubiquitina-proteosoma y la apoptosis se midió por citometría, por último, se estableció la acumulación de la curcumina en las células utilizadas y la alteración de la actina por IFI.

**RESULTADOS.** Se observó, una disminución en el número de unidades formadoras de placa (UFP) en las células infectadas con VD y tratadas con curcumina, frente a los controles infectados no tratados; además, se evidenció un aumento en la cantidad de proteínas ubiquitinizadas y disminución en la ubiquitina libre. También se demostró una mayor proporción de células en apoptosis en las células infectadas y tratadas con curcumina, dosis dependiente, en contraste con los controles tratados no infectados. Además, se determinó una acumulación de curcumina a nivel perinuclear y alteración de la actina de manera dosis dependiente, haciéndose más evidente en las células infectadas previamente.

**CONCLUSIONES.** La curcumina inhibe la producción de viriones infectivos de dengue y altera el sistema ubiquitina proteosoma. El tratamiento con curcumina aumenta la proporción de células en apoptosis en células infectadas y tratadas, frente a los controles tratados no infectados. La curcumina presenta mayor acumulación a nivel perinuclear y altera la actina dosis dependiente.

**PALABRAS CLAVES.** Curcumina. Dengue. Proteosoma. Actina. Apoptosis.

\*Grupo GYMOL. Universidad del Quindío. †Grupo de Neurociencias. Universidad de Antioquia. Contacto: leopadsa@yahoo.com



## TL41. Cuantificación absoluta del potato yellow vein virus (PYVV) en brotes de tubérculos de *Solanum tuberosum* grupo phureja utilizando la técnica de PCR en tiempo real (qPCR) con Sondas Taqman®

Anngie Katherine Hernández Guzmán\*, Liliana Franco-Lara†, María Mónica Guzmán Barney\*‡

**INTRODUCCIÓN.** *Potato yellow vein virus* (PYVV) es un virus de la familia *Closteroviridae* y del género *Crinivirus*, su genoma es ssRNA(+) y tripartito. Es transmitido por *Trialeurodes vaporariorum* y tubérculos, en la actualidad se encuentra en Colombia y países vecinos (Perú, Ecuador y Venezuela). La sintomatología producida es amarillamiento foliar y reducción en la producción.

**OBJETIVO GENERAL.** Detectar PYVV en muestras de brotes de tubérculos de plantas de *S. tuberosum* grupo Phureja (sintomáticas y no sintomáticas) por la técnica de qPCR utilizando la química de sondas TaqMan®.

**METODOLOGÍA.** Se evaluaron 417 muestras de brotes de tubérculo, 114 brotes provenían de plantas sintomáticas (S) para PYVV (52 tubérculos/8 plantas) y 303 de plantas no sintomáticas (NS) (184 tubérculos/31 plantas), se evaluaron de uno a siete brotes por cada tubérculo. A cada muestra se le hizo extracción de RNA con fenol/cloroformo - Sephadex G-50. Los brotes fueron evaluados por RT-PCR amplificando el gen de la proteína mayor de la cápside (CP) y de acuerdo a estos resultados se clasificaron en cuatro categorías: brotes RT-PCR negativo provenientes de plantas NS (B-NS: 301 brotes), brotes RT-PCR negativos provenientes de plantas S (B-S: 1 brote), brotes RT-PCR positivo provenientes de plantas NS (B+NS: 2 brotes) y brotes RT-PCR positivos provenientes de plantas S (B+S: 113 brotes). Posteriormente, se analizaron por qPCR con sondas TaqMan® utilizando iniciadores para el gen CP y como control interno un gen de expresión constitutiva de la planta (citocromo oxidasa). Para determinar la carga viral se hizo una curva estándar utilizando diferentes concentraciones de transcritos del gen CP. Finalmente se analizaron las diferencias en las cargas virales entre las cuatro categorías, entre los tubérculos provenientes de una misma planta y entre los brotes provenientes de un mismo tubérculo, utilizando ANOVA seguida de una prueba de t con ajuste de Tukey (Software R).

**RESULTADOS.** Por RT-PCR el 98% de los brotes provenientes de plantas S fueron positivos (113 brotes), solamente el 1% de los brotes provenientes de plantas NS (2 brotes) fueron positivos por RT-PCR. Por qPCR los rangos de carga viral estuvieron entre  $3.46 \times 10^2$  y  $6.01 \times 10^8$ , observándose que los brotes provenientes de plantas NS presentaron menor carga viral con respecto a los provenientes de plantas S (log número de copias en brotes provenientes de plantas NS =  $2.69 \pm 0.67$ , log número de copias en brotes provenientes de plantas S =  $6.02 \pm 1.76$ ). Las diferencias entre los brotes de las categorías B-NS, B+NS y B-S fueron estadísticamente significativas con respecto a las cargas virales en los brotes de la categoría B+S ( $p=2.4 \times 10^{-7}$ ). De las muestras analizadas el 3,6% de los brotes RT-PCR negativo que provenían de plantas no sintomáticas (11 brotes) pudieron ser detectados como positivos por qPCR, las cargas virales de estas muestras estaba entre  $3.42 \times 10^2$  -  $6.51 \times 10^4$ , lo que demuestra que esta técnica es más sensible para determinar la presencia de plantas NS, que tienen el virus aunque en bajo número de copias. También se evaluó las diferencias en la carga viral de tubérculos de una misma planta y en brotes de un mismo tubérculo; en ambos casos las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), lo que sugiere que las cargas virales entre tubérculos de una misma planta y entre brotes de un mismo tubérculo son similares; este punto sigue siendo tema de investigación por el grupo del laboratorio de virus vegetales del IBUN-UNAL.

**PALABRAS CLAVES.** *Potato yellow vein virus* (PYVV), *Solanum tuberosum* Grupo Phureja, PCR en tiempo real (qPCR), Tubérculos, Sondas Taqman, Cuantificación Absoluta.

\*Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá †Universidad Militar Nueva Granada ‡Coordinadora Laboratorio de Virus Vegetales – Instituto de Biotecnología-UNAL. Contacto: [monguzmanb@unal.edu.co](mailto:monguzmanb@unal.edu.co)

## TL42. La infección *in vivo* por DENV neuroadaptado produce excitotoxicidad por glutamato en el sistema nervioso

Myriam L. Velandia\*, Jaime E. Castellanos\*

**INTRODUCCIÓN.** Los daños observados en el tejido nervioso durante algunas infecciones virales son debidos a múltiples factores, tales como la respuesta inmune local, la apoptosis de las células y la desregulación de neurotransmisores como el glutamato.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar si la infección con la variante de dengue D4MB-6 induce excitotoxicidad por glutamato como parte de su proceso patogénico.

**METODOLOGÍA.** Se tomaron ratones Balb/C de 7 días de edad, los cuales fueron inoculados intraperitonealmente (i.p) con virus dengue neuroadaptado (D4MB-6). A las 24 hpi y durante 5 días, se aplicó i.p  $1 \mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso del fármaco MK-801 (antagonista del receptor NMDAR1) y al 6 día postinfección, se procesaron algunos animales para evaluar la producción viral por plaqueo, otros animales fueron procesados para hacer un análisis histológico.

**RESULTADOS.** Se observó que los animales infectados y tratados con el fármaco, desarrollaron de forma tardía y leve algunos de los signos neuropatológicos como parálisis y alteraciones en la postura corporal, además en estos animales se redujo la infiltración de leucocitos, la hemorragia y los daños en la citoarquitectura del tejido. Adicionalmente la producción de virus fue ligeramente menor en el grupo de los animales tratados con MK-801.

**CONCLUSIONES.** Nuestros resultados sugieren que durante la neuroinfección con la variante D4MB-6 se alteran las vías metabólicas que regulan la recaptura de glutamato, incrementando los daños estructurales y funcionales del sistema nervioso causados por la infección.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue virus. Neuroinfección. Neuropatogenia. Excitotoxicidad.

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Contacto: [mvelandiaro@gmail.com](mailto:mvelandiaro@gmail.com)

### TL43. Evidencia de circulación de metapneumovirus humano en Colombia

Juliana Barbosa\*, Gloria J. Rey-Benito\*, Paola A. Pulido\*, Dean Erdman†, Teresa Peret†, Jairo A. Méndez-Rico\*

**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. Se ha descrito como un virus estacional que afecta a todos los grupos de edad generando un espectro de manifestaciones clínicas similares a otras producidas por virus respiratorios tales como el sincitial respiratorio (VSR). Se ha demostrado que hMPV tiene una distribución mundial, asociado fundamentalmente a infecciones respiratorias agudas (IRA) altas y bajas en niños y en adultos. En Sur América diversos estudios han reportado la presencia de hMPV en muestras recolectadas desde 1998 en Argentina y posteriormente en otros países del cono sur. A pesar del impacto de las infecciones respiratorias en Colombia, hasta el momento el hMPV no había sido identificado como agente etiológico de IRA en nuestro medio.

**OBJETIVO GENERAL.** Reportar por primera vez la circulación de metapneumovirus humano en Colombia y definir las características clínicas de los pacientes afectados.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron 50 muestras respiratorias de niños y adultos con infección respiratoria aguda remitidas al Laboratorio de Virología de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios del Instituto Nacional de Salud durante los años 2010 y 2011. El RNA se obtuvo a partir de 100 µL de cada muestra mediante el sistema de partículas magnéticas NucliSens easy MAG (BioMerieux) y posteriormente sometido a reacción en un solo paso de transcripción reversa (RT) seguida de PCR en tiempo real utilizando iniciadores específicos para hMPV según protocolo del CDC-Atlanta.

**RESULTADOS.** Del total de muestras procesadas se identificaron cinco muestras respiratorias con infección por hMPV. En tres de los casos identificados se encontró el hMPV asociado a dos virus parainfluenza y uno a adenovirus. Los cinco casos corresponden a cuatro pacientes de sexo femenino (1, 2, 77 y 85 años) y uno masculino (2 meses). Cuatro de los cinco casos requirieron hospitalización, con presencia de fiebre, tos y dificultad respiratoria. Los casos identificados con infección por hMPV procedían de Bogotá, Huila y Santander.

**CONCLUSIONES.** Se evidenció la presencia de metapneumovirus humano en Colombia. El cuadro clínico asociado es indistinguible de las infecciones por otros virus respiratorios. Los casos de IRA identificados correspondieron tanto en pacientes adultos como pediátricos.

**PALABRAS CLAVES.** Metapneumovirus humano. Infección respiratoria aguda. RT-PCR en tiempo real.

\*Grupo de Virología, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. †Gastroenteritis and Respiratory Virus Laboratory Branch, Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta, USA. Contacto: jmendez@ins.gov.co

### TL44. Identificación de virus respiratorios clásicos y emergentes en la vigilancia de la infección respiratoria aguda en Colombia, 2010-2011

Gloria J. Rey-Benito\*, Juliana Barbosa\*, Paola A. Pulido\*, Jaime Castellanos†, Jairo A. Méndez\*

**INTRODUCCIÓN.** Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son una de las principales causas de morbimortalidad en todo el mundo, diferentes agentes etiológicos se han asociado con su etiología, entre ellos virus de influenza A y B (Flu A y Flu B), virus sincitial respiratorio (VSR), parainfluenza (PIV) 1, 2, 3, adenovirus (ADV), rinovirus (Rhino) y los recientemente descritos metapneumovirus (hMPV) y bocavirus humanos (hBoV).

En Colombia se realiza la vigilancia de virus respiratorios desde 1997 empleando el ensayo de inmunofluorescencia, en el 2009 con la aparición del virus de influenza pandémico, se incorporaron al diagnóstico nuevos métodos moleculares que permiten mejorar el conocimiento de los agentes involucrados.

**OBJETIVO GENERAL.** Identificar virus respiratorios asociados a casos de infección respiratoria aguda en Colombia, 2010-2011.

**METODOLOGÍA.** Se seleccionaron aleatoriamente 50 muestras respiratorias de casos de IRA procedentes de diferentes sitios del país y remitidas al Laboratorio de Virología del INS entre marzo de 2010 y mayo de 2011 para diagnóstico de infección por H1N1v/09.

El RNA viral fue obtenido mediante el estuche QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) y sometido posteriormente a RT-PCR en tiempo real según protocolo del CDC para la detección y caracterización de Influenza tipo A (H1, H3 y H1N1v/09); por otra parte, mediante el sistema de partículas magnéticas NucliSens easy MAG (BioMerieux) se obtuvieron ácidos nucleicos que fueron posteriormente sometidos a reacción de transcripción reversa (RT) seguida de PCR en tiempo real utilizando iniciadores específicos para enterovirus (EV), rinovirus (Rhino), coronavirus (HCoV), metapneumovirus (hMPV), adenovirus (ADV), virus sincitial respiratorio (VSR) y parainfluenza (PIV), además de *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.

**RESULTADOS.** Las muestras se seleccionaron de 16 departamentos, el 60% de ellas procedían de Bogotá, Caldas, Guaviare, Meta, Risaralda, Tolima. El promedio de edad de los pacientes fue de 27 años (rango de 2 meses a 85 años). El 50% de los casos eran de género femenino. El 14% (7/50) correspondieron a casos fatales. En el 68% (34/50) de las muestras se identificó la presencia de uno o más agentes microbianos (co-infecciones o sobreinfecciones). Se encontraron muestras positivas para algunos de los virus durante todos los meses del período analizado. En el total de muestras analizadas, los virus más identificados fueron los VSR y ADV con un 22% (11/50) cada uno, le siguieron los Rhino 18% (9/50), parainfluenza 16% (8/50), metapneumovirus 10% (5/50), enterovirus 8% (4/50), Flu A 4% (2/50), Flu B 2% (1/50), coronavirus 2% (1/50) y los estreptococos con un 6% (3/50). En el 41% (14/34) de los casos positivos se identificaron coinfecciones entre dos, tres y cuatro agentes microbianos; los agentes más identificados asociados a estas fueron: Rhino 57%, VSR 42,9%, ADV 42,9%, PIV 35,7%, EV 28,6%, hMPV 21,4%, estreptococo 21,4% y HCoV 7,1%. En tres casos fatales se identificó infección bacteriana sobreagregada con *S. pneumoniae* y uno con *S. pyogenes*. En el 28,5% (2/7) de los casos fallecidos se identificó como único agente asociado el virus Flu A. En un caso fallecido se identifica por primera vez en Colombia la presencia de HCoV1, en coinfección con EV, Rhino y *S. pneumoniae*. Un caso fatal fue negativo para todos los agentes analizados.

**CONCLUSIONES.** El estudio permitió identificar la presencia de virus respiratorios clásicos (Flu A, Flu B, VSR, ADV, PIV, Rhino, EV) y de virus emergentes (hMPV, HCoV) como agentes ligados a la infección respiratoria aguda y la asociación bacteriana con el incremento de la severidad de la enfermedad respiratoria aguda en Colombia.

**PALABRAS CLAVES.** Virus respiratorios. Infección respiratoria aguda. Virus emergentes.

\*Grupo de Virología, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. †Grupo de Virología, Universidad El Bosque. Contacto: grey@ins.gov.co

## TL45. Tipificación molecular de adenovirus como agentes etiológicos de enfermedad respiratoria aguda, Colombia 2010-2011

Jairo A. Méndez-Rico\*, Juliana Barbosa\*, Gloria J. Rey-Benito\*, Dean Erdman†, Teresa Peret†

**INTRODUCCIÓN.** Los Adenovirus son virus de DNA lineal que comprenden 50 serotipos humanos, divididos en 6 subgrupos denominados desde la A hasta la F. A su vez, el serotipo B se divide en los subtipos B:1 (5 tipos) y B:2 (4 tipos); de hecho, el subtipo B:1 comprende los virus de mayor importancia clínica. Aunque en general los adenovirus humanos están involucrados en casos de enfermedad respiratoria leve, Ad3, Ad7 y Ad21 pueden causar neumonías e infecciones del tracto respiratorio bajo que incluso pueden llevar a la muerte. En Colombia, durante los años 2010 y 2011 se han reportado cerca de 93 casos de Infección Respiratoria Aguda donde se identificó Adenovirus como agente etiológico. Sin embargo, existe poca información sobre los subtipos virales que circulan con mayor frecuencia en el país.

**OBJETIVO GENERAL.** Tipificar por amplificación y secuenciación automática, Adenovirus identificados en Colombia durante el periodo 2010-2011.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron 20 muestras de hisopado oro-faríngeo de pacientes pediátricos y adultos con infección respiratoria aguda, remitidas al Laboratorio de Virología de la Subdirección Red Nacional de Laboratorios del Instituto Nacional de Salud durante los años 2010 y 2011. El DNA viral para 7 de las muestras analizadas, se obtuvo mediante el sistema de partículas magnéticas NucliSens easy MAG (BioMerieux) y fue posteriormente sometido a amplificación por PCR en tiempo real utilizando iniciadores específicos para Adenovirus. Las muestras positivas fueron posteriormente amplificadas por PCR convencional según protocolo del CDC. Por otro lado, el DNA de las 13 muestras restantes fue obtenido mediante purificación en columna con el estuche DNA Purelink Minikit (Invitrogen) y posteriormente amplificado con iniciadores específicos según protocolo del INS. Todas las muestras fueron secuenciadas automáticamente y comparadas con las bases de datos del GenBank.

**RESULTADOS.** Las muestras procesadas fueron recibidas de los departamentos de Casanare (1 muestra), Caldas (3), Bogotá (6), Guaviare (2), Meta (1), Bolívar (1), Córdoba (1), Tolima (2) Risaralda (1) y Santander (2). La secuenciación de un fragmento del gen del hexón, permitió la identificación de Ad3 (11; 55%), Ad2 (2; 10%), Ad4 (2; 10%) y Ad7 (5; 25%).

**CONCLUSIONES.** Existen en Colombia diferentes subtipos de Adenovirus circulando en varios departamentos y en diversos grupos de edad. Si bien el subtipo Ad3 se detecta con mayor frecuencia, el subtipo Ad7 se ha descrito en Sur America (Argentina, Chile, Uruguay) involucrado en los casos más graves de enfermedad. Así, la tipificación molecular de Adenovirus representa una valiosa herramienta no sólo para el diagnóstico específico del evento, sino además para una adecuada caracterización de brotes.

**PALABRAS CLAVES.** Adenovirus Humano, Infección Respiratoria Aguda, PCR Tiempo real, PCR convencional, Secuenciación automática.

\*Grupo de Virología, Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. †Gastroenteritis and Respiratory Virus Laboratory Branch, Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta, USA. Contacto: jmendez@ins.gov.co

## TL46. Subtipos de virus de influenza A identificados en casos de infección respiratoria aguda grave, hospitalización y muerte, Colombia abril 2009 – julio 2011

Gloria J. Rey-Benito\*, Juliana Barbosa\*, Paola A. Pulido\*, Jairo A. Méndez\*

**INTRODUCCIÓN.** Las infecciones respiratorias agudas de origen viral son una carga importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, la importancia de estas enfermedades puede ser mayor si emerge un nuevo virus con alto potencial de expansión, tal como ha sido evidente en las epidemias globales por influenza, incluyendo la recientemente causada por el virus pandémico A/H1N1v/09. En Colombia se realiza la vigilancia por laboratorio de influenza desde 1997, en el 2009 con la aparición del virus A/H1N1v/09 se incorporan las técnicas moleculares y se intensifica la vigilancia en los casos hospitalizados y fatales.

**OBJETIVO GENERAL.** Identificar los subtipos del virus de influenza tipo A asociados a casos de infección respiratoria aguda grave, hospitalización y muerte, Colombia abril 2009 – julio 2011.

**METODOLOGÍA.** Se procesaron muestras del tracto respiratorio (hisopado, aspirado, tejido) de casos con infección respiratoria aguda grave (hospitalización o muerte) procedentes de diferentes departamentos del país y remitidas al Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud para diagnóstico de infección por A/H1N1v/09. El ARN viral fue obtenido utilizando QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen), posteriormente, fue utilizado el protocolo de RT-PCR en tiempo real del CDC para la detección y caracterización de los subtipos de Influenza A (H1, H3 y H1N1v/09).

**RESULTADOS.** Del 01 de abril 2009 al 31 de julio del 2011 se recibieron en el Grupo de Virología del INS un total de 38.676 muestras respiratorias para diagnóstico de infección por el virus de influenza pandémico, de ellas 960 (9,7%) correspondieron a casos fatales. El total de muestras procesadas por año fue de 20.336 durante el 2009, 12.485 en 2010 y 5.855 en 2011; el porcentaje total de positividad para virus de Influenza A fue de 12,3%, 6,7% y 7%, respectivamente. La proporción de positividad según subtipo de virus influenza A fue en el 2009 de 7,5% para H1 estacional, 13,1% H3 estacional y 79% A/H1N1v/09. En el 2010 fue de 0,1% para H1 estacional, 22,5% H3 estacional y 77% A/H1N1v/09 y hasta la semana 32 de 2011 ha sido 39,8% H3 estacional, 60% A/H1N1v/09 y no se ha identificado la presencia de H1 estacional. De las 960 muestras de casos fatales, 440 se recibieron durante el 2009, 366 en 2010 y 154 en 2011; encontrando una positividad para influenza A del 26,6%, 12,8% y 16,9%, respectivamente. Durante el período de estudio se confirmaron: 190 casos de influenza A/H1 estacional, de ellos 5 casos fatales con una proporción de fatalidad de 2,6%; 683 casos de influenza A/H3 estacional, de ellos 21 casos fatales y una proporción de fatalidad de 3,1%, la cual incrementa para el 2011 (5,5%); y 2.889 casos de influenza A/H1N1v/09, con 164 casos fatales y una proporción de fatalidad de 5,8%, con una leve tendencia al incremento anual (5,2%, 6,8% y 6,9%) para 2009, 2010 y 2011, respectivamente.

**CONCLUSIONES.** La mayor proporción de positividad de los subtipos de Influenza A desde la introducción del virus A/H1N1v/09 corresponde a este agente; sin embargo, esta ha ido disminuyendo e incrementándose la proporción de positividad del influenza A/H3 estacional a través del tiempo de estudio. Se observa que la circulación del influenza A/H1 estacional ha sido desplazada probablemente por el virus A/H1N1v/09.

**PALABRAS CLAVES.** Virus de Influenza. Subtipos virales. Infección respiratoria aguda. PCR en tiempo real.

\*Grupo de Virología, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. Contacto: grey@ins.gov.co



## TL47. Prevalencia de papilomavirus humano en mujeres que asisten a centros de diagnóstico citológico en la ciudad de Medellín

Víctor A. Flórez García\*, Armando Baena Zapata\*, Astrid M. Bedoya\*, Catalina Villa Sanchez\*, Alejandra M. Botero Zapata\*, Ángela M. Zapata\*, Ruth E. Arboleda Pulgarín\*, Gloria I. Sánchez Vásquez\*

**INTRODUCCIÓN.** Evidencias epidemiológicas y de laboratorio han demostrado una relación causal entre ciertos tipos del papilomavirus humano y cáncer de cérvix, siendo la infección por este virus necesaria, pero no suficiente, para el desarrollo de lesiones premalignas y cáncer invasor. Se ha observado que la prevalencia de papilomavirus humano en mujeres con citología normal varía entre el 1,4% y 25,6%. Las diferencias en los programas de tamización y la exposición a diferentes factores de riesgo marcan cambios geográficos en la prevalencia y distribución de papilomavirus humano importantes para la implementación de programas de vacunación.

**OBJETIVO GENERAL.** Estimar la prevalencia de los diferentes genotipos de papilomavirus humano e identificar posibles factores relacionados con esta infección en mujeres que asisten a centros de diagnóstico citológico en la ciudad de Medellín.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron 884 muestras de raspados cervicales. Se extrajo el ADN y se verificó su calidad con la amplificación del gen B-globina. El ADN viral se determinó por medio de reacción en cadena de la polimerasa GP5+/GP6+ seguido de hibridación reversa. Se estudió además la relación entre la infección con el papilomavirus humano y algunas variables obtenidas mediante encuesta, utilizando modelos de regresión logística y razones de odds con sus respectivos intervalos de confianza del 95%.

**RESULTADOS.** La infección por el papilomavirus humano se encontró en 113 mujeres (10,2%) de las cuales 94 estaban infectadas con genotipos de alto riesgo y 25 con genotipos de bajo riesgo. El genotipo más prevalente fue 16 (2,1%), seguido por 18 (1,7%). Se encontró una diferencia significativa en la prevalencia de papilomavirus humano entre los grupos de edad ( $p=0,0018$ ). La infección por papilomavirus humano se relacionó con el número de parejas sexuales y con tener un resultado de citología anormal.

**CONCLUSIONES.** La prevalencia de papilomavirus humano encontrada fue baja con respecto a la reportada en estudios previos en Colombia pero la distribución por edad se mostró similar. Los genotipos más frecuentes fueron de alto riesgo como 16, 18 y 56. En estas mujeres tener múltiples parejas sexuales y presentar un resultado anormal en la citología se encuentran asociados a la infección por papilomavirus humano.

**PALABRAS CLAVES.** Prevalencia. Papilomavirus. Genotipo.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Dinámica I.P.S. Laboratorio docente asistencial Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Contacto: [torric19@gmail.com](mailto:torric19@gmail.com)

## TL48. Individuos expuestos al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) pero no infectados expresan altos niveles del receptor de la vitamina D

Wbeimar Aguilar-Jiménez\*, Wildeman Zapata Builes\*, Antonio J. Caruz Arcos†, Hernando Estrada Pacheco‡, María T. Rugeles López\*

**INTRODUCCIÓN.** A medida que se han podido ir estableciendo algunos de los mecanismos asociados con resistencia natural a la infección por el VIH-1, exhibida por individuos que se exponen al VIH-1 pero permanecen seronegativos (HESN), se han desarrollado y hecho evidente nuevas aproximaciones terapéuticas. La vitamina D (VitD) es un compuesto inmunomodulador, que promueve la expresión de varios genes, una vez se une a su receptor nuclear y factor de transcripción, el VDR. Este complejo promueve la expresión de péptidos antimicrobianos, incluyendo la catelicidina y las beta defensinas humanas (HBD), que tienen actividad anti-VIH-1 *in vitro*. Además, se encontraron altos niveles de ARNm de HBD-2 en mucosa oral de una población colombiana expuesta sexualmente al VIH-1, pero no infectada. En contraste a este posible papel protector, el eje VitD/VDR activa *in vitro* el promotor LTR del VIH-1; adicionalmente, variantes alélicas en el VDR, relacionadas con reducción en la expresión de esta molécula, han sido asociadas con resistencia a la infección por el VIH-1 en usuarios de drogas intravenosas. Estas evidencias contrastantes sugieren el posible efecto dual del eje VitD/VDR durante la infección por VIH-1 y resalta la importancia de estudios adicionales en esta área.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar si la expresión transcripcional del VDR en células mononucleares de sangre periférica y en mucosa genital está asociada con resistencia natural a la infección por el VIH-1.

**METODOLOGÍA.** Se incluyeron en el estudio individuos con contacto sexual frecuente con individuos seropositivos pero no infectados, sus parejas sexuales seropositivas (SP) e individuos (CS) con bajo riesgo de infección. Se tomaron muestras de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y de mucosa genital; se extrajo el RNA total con el reactivo Trizol, y se realizó una RT-PCR en tiempo real usando reactivos de fermentas y usando sondas de hidrólisis (TaqMan®) para el gen VDR. La cantidad de ARN en cada muestra se normalizó teniendo en cuenta la expresión del gen de referencia B-actina. Los análisis estadísticos de los resultados se hicieron mediante el test no paramétrico Mann-Whitney usando el programa GraphPad Prism®, versión 5.0.

**RESULTADOS.** Se encontraron niveles significativamente más altos de ARNm para VDR en CMSP y en mucosa genital de individuos HESN comparado con individuos CS ( $p<0,001$  en PBMC y  $p<0,01$  en mucosa genital). Adicionalmente, se encontró que las muestras de mucosa genital de individuos HESN expresaron niveles de ARNm para VDR significativamente mayores en comparación con los niveles expresados por los individuos SP ( $p<0,05$ ). Finalmente, no se encontró asociación entre los niveles transcripcionales de VDR con la carga viral o el número de células CD4+.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados sugieren que el VDR influencia el fenotipo de resistencia observado en estos individuos HESN; por lo tanto, el VDR podría ser un mediador inmune asociado con la inhibición de la infección viral, posiblemente a través de la inducción de péptidos antimicrobianos. Estudios adicionales son necesarios para determinar la relación entre el eje VitD/VDR con la expresión de péptidos antimicrobianos y su efecto en la infección por VIH-1; además, es esencial genotipificar variantes génicas en el eje VitD/VDR para determinar la influencia genética de la alta expresión del VDR en la población de HESN.

**PALABRAS CLAVES.** VIH-1. Receptor de Vitamina D (VDR). Resistencia natural al VIH-1. Expuestos seronegativos (HESN).

\*Grupo Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Unidad de inmunogenética, Facultad de ciencias, Universidad de Jaén, Jaén, España. ‡HERES Salud, Institución prestadora de salud. Santa Marta, Colombia. Contacto: [aguilar.wb@gmail.com](mailto:aguilar.wb@gmail.com)



## TL49. Virus del papiloma humano en casos de adenocarcinoma cervical en Antioquia

Mónica M. Gaviria Calle\*, Arianis T. Ramírez Pineda\*, Katherine Quintero Martínez\*, Víctor A. Flórez García\*, Mary L. Uribe Ríos\*, Armando Baena Zapata\*, Astrid M. Bedoya\*, Jorge Castaño†, Carolina Echeverri‡, Gloria I. Sánchez Vásquez\*

**INTRODUCCIÓN.** El cáncer de cuello uterino es la tercera causa de muerte entre la población femenina alrededor del mundo. Entre el 10% y 15% de los casos de cáncer de cuello uterino son adenocarcinoma. Al igual que el cáncer cervical escamocelular, el adenocarcinoma de cérvix se ha encontrado asociado a la infección por el virus del papiloma humano (VPH). Se ha evidenciado un incremento en la incidencia de adenocarcinoma cervical en mujeres jóvenes y la distribución de los genotipos del este virus en este tipo de cáncer ha sido poco estudiada.

**OBJETIVO GENERAL.** Estimar la prevalencia de los genotipos del virus del papiloma humano en casos de adenocarcinoma cervical en el departamento de Antioquia.

**METODOLOGÍA.** Muestras de bloques de parafina y de biopsias de adenocarcinoma fueron obtenidas de diferentes centros de diagnóstico en Medellín. El ADN de bloques se extrajo por tratamiento con proteinasa K. La calidad del ADN se evaluó mediante amplificación de un fragmento del gen  $\beta$ -globina. Para la genotipificación se utilizó el método PCR-GP5+/GP6+-RLB y PCR específica para VPH 16 y 18. Inicialmente se estimó el porcentaje de muestras adecuadas de acuerdo a la amplificación del segmento del gen de la  $\beta$ -globina. Se estimó la prevalencia de VPH y de sus genotipos y se realizó un análisis descriptivo de variables como la edad (media y rangos) y el genotipo viral encontrado.

**RESULTADOS.** De los 128 bloques recuperados, se analizaron 90 bloques de parafina, 23 no presentaron lesión y 15 no fueron aptos por la calidad de ADN. Todos los casos fueron confirmados histológicamente. De los 90 casos incluidos para el análisis, 85 (94.4%) fueron positivos para cualquier genotipo de VPH, de estos, 63 (70%) fueron VPH 16+, 38 (42.2%) VPH 18+ y 3.3% otros genotipos. Diecinueve casos presentaron co-infecciones entre VPH 16/18.

**CONCLUSIONES.** El porcentaje de infección por el virus de papiloma humano fue significativamente mayor para el genotipo 16 en comparación con otros estudios que reportan mayor infección por el genotipo 18.

**PALABRAS CLAVES.** Adenocarcinoma. Virus del papiloma humano. Cáncer de Cérvix.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. †Departamento de Patología Fundación Hospitalaria San Vicente de Paúl. ‡Clínica las Américas, Medellín. Respaldo por Colciencias, Grupo Infección y Cáncer, Universidad de Antioquia, Fundación Hospitalaria San Vicente de Paúl y Clínica las Américas. Contacto: arianis3030@gmail.com

## TL50. El extracto etanólico de *Psidium guajava* inhibe la replicación del virus dengue en diferentes líneas celulares

Carolina Hernández Castro\*, Luisa Fernanda Arbeláez García\*, Moises Carrascal Medina†, Fredyc Díaz Castillo†, Marlén Martínez Gutiérrez\*‡

**INTRODUCCIÓN.** Diferentes partes de la planta *Psidium guajava* (Myrtaceae), conocida comúnmente como Guayaba, son utilizadas en países en vías de desarrollo para el tratamiento de la fiebre, síntoma característico de varias enfermedades virales como el dengue. Adicionalmente se ha descrito su efecto sobre la replicación de virus como el rotavirus y el virus de influenza. Debido a que hasta el momento no existe tratamiento específico para el tratamiento del dengue, y gracias a la información etnobotánica recolectada en la región caribe colombiana, resulta de importancia evaluar el efecto antiviral de corteza de *Psidium guajava* recolectada en la región caribe colombiana, como potencial fuente terapéutica contra la infección por DENV serotipo 2.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar el efecto antiviral del extracto de corteza derivado de *Psidium guajava* contra la infección por DENV serotipo 2 en diferentes líneas celulares.

**METODOLOGÍA.** A partir de los extractos etanólicos obtenidos de la corteza de *Psidium guajava*, se realizó un ensayo de MITT (3-(4,5-dimetil tiazole-2-yl)-2,5-difeniltetrazoliumbromide) para determinar los porcentajes de citotoxicidad en concentraciones de 7,8 a 1.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en dos líneas celulares. Posteriormente, se evaluó el efecto antiviral del extracto con diferentes estrategias experimentales (tratamiento antes de la infección, PRE; tratamiento durante la infección, TRANS y tratamiento después de la infección, POST), para determinar cuáles pasos del ciclo replicativo podría estar inhibiendo. En todos los experimentos se utilizó la cepa Nueva Guinea (NG) de DENV y se evaluó la replicación bajo los diferentes esquemas experimentales por PCR en tiempo real, cuantificando el número de copias genómicas liberadas a los sobrenadantes luego de 48 horas postinfección.

**RESULTADOS.** Inicialmente se determinó el índice de selectividad (IS) del extracto, calculado a partir de la concentración citotóxica 50 (CC50) y la concentración efectiva 50 (CE50) en ambas líneas celulares. En ambos casos el extracto derivado de corteza de *P.guajava* demostró ser poco citotóxico, obteniéndose los mayores porcentajes de toxicidad a concentraciones mayores a 1.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Cuando se determinó la concentración a la que se inhibe el crecimiento viral al 50%, se encontró que tanto para las células VERO como para las células U937 esta es menor de 7,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , requiriendo muy poca concentración del extracto para inhibir la formación de placas. Para ambas líneas celulares el IS fue mayor a 128. Al evaluar el efecto antiviral a una concentración de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sobre los pasos del ciclo replicativo del DENV-2. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) cuando las líneas células VERO fueron sometidas a los esquemas pretratamiento y posttratamiento con porcentajes de inhibición del 96,4% y 100%, respectivamente. Comportamiento similar a lo obtenido en las células U937, con porcentajes de inhibición del 98,9% y 94,2%, respectivamente.

**CONCLUSIONES.** El extracto derivado de corteza de *Psidium guajava* mostró un índice de selectividad alto en ambas líneas celulares y al realizar los ensayos de inhibición en los esquemas pretratamiento y posttratamiento a una concentración no citotóxica encontramos que hubo porcentaje de inhibición cercanos al 100% en ambas líneas celulares, por lo cual podemos concluir que este extracto es un promisorio antiviral contra la infección por virus dengue en los pasos que implican la entrada del virión a la célula y los pasos posteriores a su entrada. Actualmente se está realizando el fraccionamiento de este extracto para determinar en cuáles fracciones se concentra la actividad antiviral lo que permitirá posteriormente la identificación de una molécula específica responsable de dicho efecto.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. Citotoxicidad. *Psidium guajava*.

\*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. ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: mmartinez@pecet-colombia.org

## TL51. Estudios realizados para conocer aspectos básicos del comportamiento *in vitro* de astrovirus porcino (PAstV)

Juan C. Ulloa\*, Carlos A. Guerrero†, Fanny Guzmán‡, Nadia C. Gutiérrez\*, María F. Gutiérrez\*

**INTRODUCCIÓN.** Los astrovirus (AstVs) son agentes infecciosos asociados con gastroenteritis en mamíferos y aves. Los más estudiados son los que infectan humanos y hasta la fecha no existe un modelo *in vivo* para estudiar su patogenia. Para el caso de PAstV, los pocos reportes describen igualmente su asociación con diarrea, algunas de sus características fisicoquímicas y un alto parentesco con los AstVs que infectan humanos (HAstVs), proponiendo además que existe una alta transmisión entre especies. Su patogenia y prevalencia son desconocidas, y la dificultad de cultivarlos ha generado que no se conozcan aspectos básicos de su comportamiento *in vitro*.

**OBJETIVO GENERAL.** Adaptar a cultivo celular cepas silvestres de PAstV, averiguar las necesidades que tienen de tripsina para aumentar su infectividad *in vitro* y producir reactivos biológicos útiles para su detección.

**METODOLOGÍA.** Se purificaron parcialmente dos muestras diarreicas (PUJP5 y PUJP47), provenientes de lechones menores de dos meses previamente positivas para PAstVs y luego fueron inoculadas por vía oral en lechones de dos días de nacidos. A los 5 días postinfección fueron sacrificados y los virus fueron extraídos y purificados a partir de sus intestinos. Los extractos, activados con tripsina, fueron puestos en células embrionarias de riñón de cerdo (ESK-4), realizando 6 pasajes sucesivos. Asimismo, se produjeron sueros policlonales en conejos usando 3 péptidos sintéticos que fueron escogidos a partir de análisis de secuencias putativas de aminoácidos de la cápside viral de varios AstVs y verificación de su hidrofobicidad. Por otra parte se obtuvieron sueros policlonales de cobayos inoculados con la cepa de PAstV-PUJP5 completo purificado. Los sueros hiperinmunes de conejos fueron valorados por su reactividad por ELISA directa contra los propios péptidos y luego por ELISA e inmunofluorescencia directa contra las dos cepas de PAstV y contra la cepa Yuc8 de AstV humano tipo 8 (HAstV8). La reactividad de los sueros obtenidos de cobayos fue valorada por ELISA directa usando lisados de PUJP5 y luego por ELISA indirecta junto con los antisueros de conejo, usando muestras diarreicas previamente probadas por RT-PCR. Para valorar la necesidad que tienen los PAstVs de tripsina para aumentar su infectividad *in vitro*, se incubaron varias concentraciones de ésta con inóculos de PAstV-PUJP5, los cuales fueron puestos luego sobre células ESK-4. La infectividad fue evaluada por inmunofluorescencia y citometría de flujo.

**RESULTADOS.** Las cepas de PAstV-PUJP5 y PUJP47 fueron adaptadas exitosamente a cultivo celular y dos de los tres sueros policlonales obtenidos contra péptidos sintéticos (anti-TATLGTIGSNSSGKTELEAC y anti-IDIVVGKAATFNLKASDLSP) reaccionaron contra PUJP5 y PUJP47, pero no contra HAstV8. Actualmente se está probando la utilidad de la ELISA indirecta utilizando los sueros obtenidos en cobayos y conejos tanto con lisados de células infectadas con PAstVs y HAstV8, como con muestras diarreicas de lechones. Finalmente se comprobó que PAstV necesita tripsina para aumentar su infectividad *in vitro* y que la cantidad necesitada es mayor que la usada clásicamente para activar cepas de HAstV.

**CONCLUSIONES.** Se concluye que los péptidos TATLGTIGSNSSGKTELEAC e IDIVVGKAATFNLKASDLSP localizados en la cápside de PAstV, representan regiones útiles para obtener anticuerpos policlonales que pueden discriminar PAstV de HAstV. Adicionalmente, el aumento de la infectividad *in vitro* de PAstV es dependiente de tripsina.

**PALABRAS CLAVES.** Astrovirus porcinos, péptidos, inmunoreactividad, detección.

\*Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. †Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. ‡Núcleo de Biotecnología Caraua, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. \*Profesor Asistente, Departamento de Microbiología, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Contacto: julloa@javeriana.edu.co

## TL52. Infección por VPH en individuos con cáncer escamocelular de cabeza y cuello en Antioquia, Colombia

Armando Baena\*, Katherine Quintero\*, Gabriel Andres Giraldo\*†, Mary Luz Uribe\*, Carolina LopezUran\*‡, Efrain Alvarez†, Gloria I. Sanchez\*

**INTRODUCCIÓN.** Estudiar la prevalencia de la infección del virus del papiloma humano (VPH) y sus genotipos en cáncer escamocelular de cabeza y cuello (CECC) es útil para valorar el impacto de la vacuna contra el VPH.

**OBJETIVO GENERAL.** Estimar la prevalencia de la infección por VPH y de sus genotipos en casos de cáncer de la cavidad oral, orofaringe y laringe.

**METODOLOGÍA.** Estudio descriptivo de corte transversal. Se identificaron casos de CECC diagnosticados entre 1999 y 2008 en 4 centros de patología de Medellín, Colombia, a los cuales se les recuperó sus bloques de parafina para ser cortados. Se obtuvieron cinco secciones histológicas; la primera y la segunda se tiñeron con hematoxilina & eosina (H&E) y fueron usadas para la evaluación histológica, y las restantes fueron microdisecionadas usando un bisturí quirúrgico. La identificación del VPH se realizó mediante de la técnica de RLB a partir de PCR de GP5+/GP6+ y una PCR específica de los genotipos 16 y 18 del VPH. El porcentaje de casos positivos para VPH fue calculado entre las muestras de buena calidad (muestras cuya  $\beta$ -globina fuera positiva o positivas para VPH). El riesgo de infección por VPH fue estimado mediante razones de *odds* (OR) con sus respectivos intervalos de confianza (IC), obtenidos a partir de modelos de regresión logística.

**RESULTADOS.** 393 casos primarios fueron identificados, y los análisis de tipificación del VPH se realizaron en 175 muestras que cumplieran con los criterios de calidad. La prevalencia global de VPH fue del 18,9%. 27 muestras (15,4%) fueron positivas para VPH16 y 6 (3,4%) para VPH18. Los casos negativos para VPH fueron más jóvenes (valor-p de Mann-Whitney = 0.002). La proporción de casos de CECC positivos para VPH fue mayor en hombres (22,5%) que en mujeres (12,5%), observándose el doble de riesgo de infección por VPH en hombres (OR=2, IC 95% 0,9-4,8). La proporción de casos positivos para VPH fue mayor en los casos de cáncer de la cavidad oral, sin embargo estas diferencias no fueron significativas.

**CONCLUSIONES.** En Antioquia, cerca del 20% de los casos de CECC presentan infección con genotipos 16 y 18 del VPH. El impacto de la vacunación contra el VPH para la prevención del CECC en esta población merece evaluaciones adicionales.

**PALABRAS CLAVES.** Cáncer de Cabeza y Cuello, VPH.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: arbaez@udea.edu.co

### TL53. Altos Niveles De IL-10 son encontrados en mujeres con cáncer cervical infectadas con el Virus del Papiloma Humano

Astrid Bedoya\*, David Tate†, Carlos Córdoba‡§, Mauricio Borrero||, René Pareja||, Freddy Rojas||, Jovanny Zabaleta†, Rolando Herrero\*\*, Arnold Zea†, Gloria I Sánchez\*

**INTRODUCCIÓN.** La respuesta inmune celular es esencial en el control de la infección por el virus del Papiloma Humano y por tanto puede prevenir la progresión a cáncer. Las citoquinas juegan un papel importante en los efectos inmunoregulatorios e inmunostimulatorios de la respuesta inmune.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar los niveles sistémicos de citoquinas en mujeres con y sin cáncer cervical y determinar la expresión de los genes de citoquinas en biopsias de mujeres con cáncer cervical.

**METODOLOGÍA.** Se incluyeron mujeres sin cáncer cervical (n=86), NIC3 (n=41) y cáncer invasivo (n=79) de Medellín. Los niveles de IFN- $\gamma$ , IL-12p70, GM-CSF, IL-2, IL-1B, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-13, MCP-1, Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), VEGF y TGF-B fueron determinados en suero utilizando el estuche comercial Milliplex de Millipore. Para la expresión de los genes de citoquinas se utilizó RNA obtenido a partir de 42 biopsias de mujeres con cancer cervical en la técnica qRT-PCR. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar significancia entre grupos.

**RESULTADOS.** Análisis del perfil de citoquinas sistémicas reveló una disminución estadísticamente significativa en los niveles de IFN- $\gamma$ , FNT- $\alpha$  e IL-12p70 entre las mujeres sin y con cancer cervical (invasivo y NIC3,  $p < 0.0001$ ), niveles similares de IL-2 entre los tres grupos y un incremento estadísticamente significativo entre los niveles de IL-10 entre las mujeres sin cáncer (mediana 0.0 pg/mL) vs las con cáncer (mediana 0.17 pg/mL) ( $p < 0.001$ ) y NIC3 (mediana 0.0 pg/mL) vs los casos invasivos (mediana 0.17 pg/mL) ( $p < 0.001$ ). En los tejidos de las mujeres con cancer invasivo, los niveles de expresión de los genes de IL-12, IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-1B, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-10 y TGF-B fueron muy bajos.

**CONCLUSIONES.** Un perfil de citoquinas Th2/Te2 es observado en cáncer cervical debido a los altos niveles de IL-10 y a los bajos niveles de IFN- $\gamma$ , FNT- $\alpha$  e IL-12p70. La fuente de estas citoquinas no es el tejido tumoral.

**PALABRAS CLAVES.** Cáncer de Cuello Uterino, Citoquinas, IL-10.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. †Stanley S. Scott Cancer Center, LSUHSC, New Orleans, LA, USA. ‡Hospital Universitario San Vicente de Paúl §Clínica Vida. || Clínica Las Américas. \*\*Agencia Internacional de Investigación en Cáncer, Lyon, Francia. Contacto: astridbedoya@hotmail.com

### TL54. Análisis de la evolución de poblaciones de granulovirus PHOPGV en contacto con los hospederos alternativos *Phthorimaea operculella* y *Tecia solanivora* (Lepidoptera: gelechiidae)

Carlos Espinel Correal\*, Xavier Léry†, Laura F. Villamizar Rivero\*, Juliana A. Gómez Valderrama\*, Alba M. Cotes Prado\*, Miguel López Ferber‡

**INTRODUCCIÓN.** Dentro de las especies invasivas, los insectos plaga pueden ocasionar problemas importantes si afectan recursos críticos para la alimentación, la salud humana o la producción agrícola. La polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* es el principal insecto plaga de este cultivo y su control es un reto importante debido a la relevancia de este tubérculo en la alimentación de los países andinos. *T. solanivora* es un insecto invasivo que llegó a Suramérica por Venezuela y se dispersó por el norte del continente.

**OBJETIVO GENERAL.** La introducción de este insecto y su coexistencia con la polilla endémica *Phthorimaea operculella*, nos ofrece un modelo único para cumplir con el objetivo de analizar y estudiar la adaptación de poblaciones del granulovirus de *Phthorimaea operculella* PhopGV (Baculoviridae) enfrentadas a *P. operculella* y al nuevo hospedero.

**METODOLOGÍA.** Se realizó la colecta de larvas de la especie invasiva *T. solanivora*, en cinco zonas productoras de papa en Colombia. Se analizaron las muestras de virus encontradas y se caracterizaron mediante enzimas de restricción y PCR de dos regiones variables anteriormente identificadas. Posteriormente, se realizó un bioensayo en laboratorio sobre los dos hospederos, mediante la aspersión de diferentes concentraciones de los aislamientos virales encontrados, determinándose la patogenicidad. Se construyeron poblaciones virales artificiales a partir de tres mezclas de genotipos con el fin de imitar las poblaciones virales mezcladas naturalmente con el fin de reproducir de manera artificial la evolución observada en campo. Se realizaron ensayos biológicos con estas poblaciones a través de varias generaciones sobre los dos hospederos y se analizó la evolución de la composición genética con dos marcadores genotípicos.

**RESULTADOS.** A partir de la colecta de larvas de *T. solanivora*, se encontraron individuos infectados con granulovirus y todos los aislamientos estuvieron relacionados con el *PhopGV* previamente descrito. En ciertos aislamientos se detectó una variabilidad a nivel de los dos marcadores usados. Las poblaciones virales que presentaron mayor variabilidad fueron más patógenas sobre los dos hospederos (concentraciones letales medias entre 0,76 cuerpos de inclusión (CI)/mm<sup>2</sup> y 4 CI/mm<sup>2</sup>) que las poblaciones genéticamente homogéneas (concentraciones letales medias entre 6,62 CI/mm<sup>2</sup> y 30,1 CI/mm<sup>2</sup>). Las poblaciones virales artificiales se comportaron de la misma manera que las poblaciones virales naturales, sin reducirse la patogenicidad a través de los ciclos de replicación. La evolución de la composición genética con los dos marcadores genotípicos no estuvo relacionada con la patogenicidad, sugiriendo que la adaptación podría ser debida a diferencias en el genoma no detectadas en este estudio.

**CONCLUSIONES.** Se observó adaptación natural del PhopGV sobre el nuevo hospedero (*T. solanivora*) porque logró infectarlo y se pudo reproducir artificialmente este fenómeno a través de varios ciclos de replicación. De igual forma, los aislamientos genéticamente heterogéneos ofrecen una oportunidad interesante para ser usados como controladores biológicos de las polillas de la papa. Además, la capacidad de adaptación de este virus permitiría utilizarlo como agente de control biológico de otros insectos plaga de la misma familia. En las regiones en donde los dos insectos están presentes, las poblaciones virales pudieron desarrollar una estrategia para ser eficaces sobre las dos especies.

**PALABRAS CLAVES.** Baculovirus, evolución viral, control biológico, polillas de la papa.

\*Centro de Biotecnología y Biotecnología, CORPOICA. Km 14 vía Mosquera, Cundinamarca, Colombia. †IRD (UR072) Université Paris Sud 11, 91405 Orsay, Francia. ‡Ecole des Mines d'Alès, Centre LGEL, 6 Avenue des Clarières, 30100, Alès, Francia. Contacto: cespine@corpoica.org.co



## TL55. Rol de la variabilidad molecular de la proteína E6 de VPH 16 con el desarrollo de cáncer cervical y su relación con componente ancestral en Colombia

Esteban A. Lopera Maya\*, Mary L. Uribe Ríos\*, Víctor A. Flórez García\*, Armando Baena Zapata\*, Carlos M. Córdoba†, Katherine Quintero Martínez\*, Carlos H. Sierra†, Gloria I. Sánchez Vásquez\*, Astrid M. Bedoya \*‡

**INTRODUCCIÓN.** El genotipo 16 del Virus de Papiloma Humano es el más frecuentemente asociado a cáncer cervical. Al día de hoy se han identificado aproximadamente 240 variantes moleculares de este genotipo, las cuales se agrupan en 5 ramas filogenéticas y que se distribuyen geográficamente de acuerdo a los principales grupos étnicos que componen la población: Europeas (E), Asiáticas (As), Asiático Americanas (AA) y Africanas (Af1, Af2), mas sin embargo algunas de estas variantes están distribuidas en todas las poblaciones, mientras otras parecen moverse únicamente con su grupo étnico correspondiente. Además, varios estudios epidemiológicos sugieren que la infección con variantes No-Europeas confiere un mayor riesgo de cáncer cervical, sin embargo se han realizado muy pocos estudios que usen poblaciones con alto nivel de mixtura étnica, por lo que no queda claro si esta asociación se debe a una susceptibilidad del grupo étnico infectado a la variante específica de este grupo.

**OBJETIVO GENERAL.** Estimar el riesgo de cáncer cervical asociado a la conjunción de determinados variantes de VPH-16 con determinados grupos étnicos en la población colombiana.

**METODOLOGÍA.** Se hizo un estudio de casos y controles con 87 mujeres con diagnóstico histológico de Carcinoma Escamocelular positivas para infección con el genotipo 16 del virus de papiloma Humano y 23 mujeres control infectadas con el mismo genotipo que no presentan la enfermedad. Se extrajo ADN y se verificó su calidad con la amplificación del gen de B-globina. La presencia del ADN viral se determinó por medio de Reacción en cadena de la polimerasa GP5+/GP6+ seguido de hibridación reversa. Se amplificó el gen E6 y se detectaron sus mutaciones mediante hibridación reversa con sondas específicas para cada variante molecular. Se reportaron comparaciones de frecuencias de cada mutación entre casos y controles usando la prueba exacta de Fisher. Se determinaron los componentes ancestrales al comparar con 106 SNPs marcadores de cromosomas somáticos y se realizó un análisis ajustado por componente ancestral.

**RESULTADOS.** Cuatro de las mutaciones usadas para denotar variantes No-europeas mostraron una distribución estadísticamente diferente entre casos y controles y una asociación 18 veces mayor con la enfermedad en comparación a las variantes Europeas. En los controles solo se encontraron infecciones con variantes Europeas. Aún se están realizando los análisis de componentes ancestrales.

**CONCLUSIONES.** La infección con variantes Asiático Americanas del virus de papiloma Humano 16 representa un riesgo más alto de desarrollo de cáncer cervical en la población estudiada. La dependencia de la mezcla étnica de estos resultados aún está siendo evaluada.

**PALABRAS CLAVES.** Cáncer de cuello uterino. Papilomavirus humano 16. Sondas de ADN de HPV. Componentes ancestrales.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: ealopera@gmail.com

## TL56. Modulación de la función de células dendríticas mieloides humanas por factores solubles derivados de células CACO-2 infectadas con rotavirus

Luz-Stella Rodríguez Camacho\*, Carlos F. Narváez Rojas†, Olga L. Rojas Vasquez‡, Manuel A. Franco Cortés\*, Juana Ángel Uribe\*

**INTRODUCCIÓN.** Anteriormente habíamos mostrado que aunque el Rotavirus (RV) purificado no induce una amplia maduración de Células Dendríticas (CD) humanas derivadas de monocitos, éste promueve su capacidad para diferenciar linfocitos T alogénicos hacia un perfil Th1. Dado que el RV se replica preferentemente en el intestino, el primer tipo de CD que puede encontrar es la CD intestinal. Se ha propuesto que estas CDs son educadas por inmunomoduladores secretados por los enterocitos como TGF- $\beta$ 1, la linfopoyetina estromal tímica (TSLP) y el ácido retinoico, entre otros, para inducir una respuesta de tipo no inflamatoria o tolerogénica en estados de reposo o estadios tempranos de una infección. Usando las células Caco-2 polarizadas como modelo de enterocitos identificamos previamente que, en comparación con células no infectadas, las Caco-2 infectadas con RV secretan mayores cantidades de IL-8, PGE-2 y unas pequeñas cantidades de TGF- $\beta$ 1 pero no IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12p70 o TNF- $\alpha$ , sugiriendo que el patrón de citocinas secretado luego de una infección por RV puede inducir una repuesta inmune de tipo no inflamatoria.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar si el RV en un ambiente intestinal (simulado por los sobrenadantes de células epiteliales intestinales Caco-2 infectadas con RV) modula la función de la Célula Dendrítica Inmadura (CDI) derivada de monocitos.

**METODOLOGÍA.** Se condicionaron CDI con sobrenadantes de Caco-2 infectadas o no con RV y se estudió su capacidad para inducir la polarización de LT CD4+ vírgenes alogénicos hacia un perfil Th1 o Th2.

**RESULTADOS.** Se encontró que las CDI condicionadas con sobrenadantes de Caco-2 infectadas con RV promueven una significativamente menor respuesta de tipo Th1 en los LT CD4+, en comparación con las CDI tratadas con el virus purificado y con la respuesta Th2 que inducen las CDI condicionadas con el sobrenadante de Caco-2 no infectadas (SN MOCK). Como previamente habíamos mostrado que la infección de RV inducía la producción de TGF- $\beta$  en células Caco-2, se quiso establecer si esta citocina o la TSLP, constitutivamente secretada por las Caco-2, mediaban dicho efecto. Al bloquear el TGF- $\beta$  pero no la TSLP antes del condicionamiento de la CDI, se observó un aumento en la capacidad de las CDI tratadas con SN de Caco-2 infectadas con RV para polarizar los LT CD4+ hacia un perfil Th1.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados sugieren que el RV, al encontrarse en un microambiente intestinal, es un pobre inductor de una respuesta Th1 y que este efecto puede estar parcialmente mediado por el TGF- $\beta$ . Estos hallazgos podrían explicar en parte la baja frecuencia de LT específicos de RV humanos circulantes previamente descrita.

**PALABRAS CLAVES.** Rotavirus, TGF- $\beta$ , células dendríticas, Caco-2.

\*Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. †Facultad de Salud, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia. ‡Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia. Contacto: jangel@javeriana.edu.co



### TL57. Evaluación *in vitro* de la actividad ANTI-VIH-1 de los crudos enzimáticos ricos en la enzima lacasa producidos por los hongos *Ganoderma* sp. y *Lentinus* sp.

Lina P. Orozco Marín\*, Laura Flórez Sampedro\*, Wildeman Zapata Builes\*, Amanda I. Mejía†, Gloria Y. Corredor‡, Carolina Arboleda‡, María T. Rugeles López\*

**INTRODUCCIÓN.** La infección por el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) es una pandemia mundial, para la cual existen más de 20 medicamentos antirretrovirales que han mejorado considerablemente la expectativa de vida de los individuos infectados. Sin embargo, el costo tan alto y los efectos secundarios asociados a su uso, resaltan la importancia de mantener la búsqueda constante de estrategias de tratamiento que limiten la replicación viral y potencien la respuesta inmune. En este sentido, es prioritario emprender la búsqueda de tratamientos alternativos, que sean efectivos, económicos y de fácil acceso. Los hongos de los géneros *Ganoderma* y *Lentinus*, hacen parte del conjunto de hongos medicinales a los que se les han atribuido diversas propiedades biológicas y que se encuentran distribuidos dentro del territorio colombiano, con algunas especies reconocidas y otras autóctonas. Estudios previos indican que la enzima lacasa de diferentes especies de hongos inhibe la transcriptasa reversa (TR) del VIH-1, en modelos *in vitro* libre de células. Sin embargo, no existen reportes de la actividad anti-VIH-1 de la lacasa obtenida de especies autóctonas de hongos pertenecientes a estos géneros en nuestro país, utilizando un modelo celular cuyas condiciones se asemejan más a las encontradas *in vivo*.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la actividad anti-VIH-1 *in vitro* de los crudos enzimáticos ricos en lacasa producidos por los hongos *Ganoderma* sp. y *Lentinus* sp., en líneas celulares susceptibles a la infección.

**METODOLOGÍA.** A los crudos enzimáticos (CE) ricos en lacasa producidos en un biorreactor, a una enzima lacasa comercial (LC) y al medio de producción enzimático (MP), se les evaluó la citotoxicidad en la línea celular U373-MAGI, por medio del ensayo MTT y se determinaron las concentraciones capaces de eliminar el 50, 30 y 15% de las células (CC50, CC30, CC15 respectivamente). Para determinar la actividad antiviral, las infecciones se realizaron utilizando virus recombinantes (VR) producidos por medio de una cotransfección de los plásmidos pHIV.GFP delta env y pVSV.G, en células 293T. Para los ensayos antivirales se utilizó la línea celular U373-MAGI infectada con los VR, en presencia/ausencia de cada uno de los tratamientos anteriores y del compuesto AZT como control de inhibición de la transcripción reversa. A las 48 postinfección, se determinó el porcentaje de células infectadas por citometría de flujo para GFP y ELISA para p24. Con los valores de inhibición de la replicación determinados a partir de la concentración de p24, se realizó un análisis de regresión lineal para determinar la CI50 con el fin de calcular el índice de selectividad (IS) de cada CE. Los análisis estadísticos de los resultados se hicieron con el programa GraphPad Prism versión 5.0.

**RESULTADOS.** Los CE ricos en lacasa de *Ganoderma* sp. y de *Lentinus* sp., así como la LC, inhiben de forma significativa ( $p < 0,05$ ) la replicación del virus VIH-1, entre la CC50 y CC30, con porcentajes comparables a los obtenidos con el AZT (80-90%). El MP no tuvo efecto significativo sobre la inhibición de la replicación comparado con el control de infección. Los IS para los CE se encuentran entre 2 y 4.

**CONCLUSIONES.** Los CE ricos en lacasa obtenidos a partir de los hongos *Ganoderma* sp y *Lentinus* sp, inhiben de manera significativa la replicación del VIH-1. Los valores de IS de los CE, indican su potencial para el desarrollo de un tratamiento alternativo para la infección por el VIH-1.

**PALABRAS CLAVES.** Productos naturales. VIH-1. *Ganoderma* spp. *Lentinus* spp.

\*Grupo Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. †Grupo BIOPOLIMER, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. Contacto: miruge@udea.edu.co

### TL58. Silenciamiento del gen viral E1 del VPH 18 mediante RNA de interferencia en células HELA

Andrés Castillo\*†‡, Yoshito Eizuru†, Suminori Akiba‡

**INTRODUCCIÓN.** En el virus del papiloma humano (VPH), principal factor de riesgo de cáncer cervical, el papel de su proteína viral E1 en la carcinogénesis no es conocido, aunque es bien sabido que puede interactuar con proteínas celulares del ciclo celular.

**OBJETIVO GENERAL.** Silenciar por la técnica de RNA de interferencia (RNAi) la expresión endógena de gen viral E1 en las células HeLa (CCL-2) de cáncer cervical positivas para el genotipo 18 y analizar los cambios celulares y perfiles de expresión genética.

**METODOLOGÍA.** Seis RNAi para silenciar la expresión del gen viral E1 (siE1.1-6) fueron seleccionados mediante el software siDirect <http://sidirect2.rnai.jp/>. El perfil de la expresión génica de las células HeLa se comparó antes y después del tratamiento con los RNAi encontra del gen viral E1 utilizando el análisis de microarreglos de *Agilent human oligonucleotide microarray* análisis, confirmados por PCR en tiempo real y a nivel de proteína usando la técnica de inmunohistoquímica.

**RESULTADOS.** La expresión del gen viral E1 fue disminuida tanto por el RNAi siE1.2 como siE1.6. La transfección de los siRNAs disminuido también el número de células, lo que no se observó en las células A549 de cáncer de pulmón negativas para el VPH. En el análisis de microarreglos varios genes celulares implicados en el ciclo celular, la división celular y la mitosis mostraron reducciones significativas en su expresión. En el análisis de redes usando el *Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway analysis* se realizaron sólo para genes implicados en la progresión del ciclo celular, debido a la importancia de este proceso celular en el ciclo de infección de VPH. Después del silenciamiento del gen viral E1 se encontró que el gen coactivador EP300 tenía una disminución en su expresión (-2.20 fold change). Por el contrario, el gen CDKN1A presentó un aumento (2,14 fold change). Estos resultados fueron confirmados por PCR en tiempo real. La supresión de la expresión EP300 también fue confirmado por tinción inmunohistoquímica.

**CONCLUSIONES.** Para nuestro conocimiento, este es el primer experimento que sugiere que el gen E1 del VPH18 puede regular la expresión EP300, lo que posteriormente puede conducir a cambios de vías involucradas en ciclo celular en células HeLa.

**PALABRAS CLAVES.** Virus del papiloma humano. RNA de interferencia. Microarreglos. Inmunohistoquímica.

\*Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Valle, Cali-Colombia. †Division of Onco-genic and Persistent Viruses, Center for Chronic Viral Diseases and ‡Department of Epidemiology and Preventive Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima-Japan. Contacto: andrescg76@hotmail.com

## TL59. Actividad de bunyavirus en Mar Chiquita, Córdoba, Argentina

Laura Tauro\*, Viviana Ré\*, Andrés Visintin†, Clara Berron\*,  
Gonzalo Batallán\*, Walter Almiron†, Marta Contigiani\*

**INTRODUCCIÓN.** El virus Bunyamwera -BUNV- cepa CbaAr426 (Familia Bunyaviridae, Género Orthobunyavirus) fue el primer Orthobunyavirus aislado en Argentina a partir de mosquitos *Aedes albifasciatus* (Córdoba en los años 1964-1965). Posteriormente en 1982 en la provincia de Santa Fé se recuperó la cepa AG83-1746 de VBUN a partir de mosquitos *Psorophora varinensis*. En EE.UU. la infección por este virus esta asociada a la producción de malformaciones congénitas y muerte del embrión en bovinos y ovinos. Por otra parte estudios serológicos recientes sugieren que puede también ser agente etiológico de defectos del SNC en humanos. El ciclo de transmisión de BUNV es poco conocido y si bien la mayoría de los aislamientos han sido realizados a partir de mosquitos culicinos y anofelinos, se desconoce el vector y los mamíferos son considerados los hospedadores amplificadores. Diversas encuestas serológicas realizadas en distintos puntos del arco sur de la Reserva natural Laguna Mar Chiquita ubicada noreste de la provincia de Córdoba, de gran importancia por su biodiversidad, han permitido detectar anticuerpos contra VBUN en humanos, aves, roedores y bovinos.

**OBJETIVO GENERAL.** Detectar la circulación de BUNV en la región de la laguna Mar Chiquita, provincia de Córdoba.

**METODOLOGÍA.** Se colectaron mosquitos en noviembre de 2008 en la Reserva natural Laguna Mar Chiquita (en proximidades de la localidad de La Para, 30,9°S; 63,0°O) usando trampas de luz tipo CDC. Los mismos fueron identificados taxonómicamente y agrupados en *pooles* (50 individuos). A partir de los cuales se realizaron homogenizados que fueron analizadas por la técnica de RT-PCR genérica para Bunyavirus (230 pb del segmento M). Se analizaron 1.300 mosquitos (26 *pooles*) pertenecientes a las siguientes especies: *Ae. sp.*, *Ae. scapularis*, *Ae. albifasciatus*, *Culex interfor* y *Psorophora cyanescens*.

**RESULTADOS.** Solo un *pool* de mosquitos (*Ae. scapularis*) amplificó el fragmento genómico esperado. El secuenciamiento y el posterior análisis filogenético mostraron un estrecho agrupamiento con BUNV.

**CONCLUSIONES.** Estos hallazgos ponen en evidencia la circulación de Bunyavirus en la región noreste de la provincia de Córdoba durante el año 2008. Por otra parte existen estudios complementarios de preferencia alimenticia de las diferentes especies de mosquitos recolectadas en el área de estudio que demostraron que *Ae. Scapularis* presenta preferencia por los mamíferos especialmente por los bovinos. Por lo tanto, la alta prevalencia de infección encontrada en bovinos (60%) de la zona sumado a la detección de BUNV en *Ae. Scapularis* estarían indicando que esta especie de mosquitos podría cumplir un rol como vector del virus *Bunyamwera* en la región de la laguna Mar Chiquita. Sin embargo, es necesario realizar futuros estudios para determinar la capacidad vectorial de esta especie y poder determinar el ciclo natural de los bunyavirus.

**PALABRAS CLAVES.** Bunyavirus. *Ae. Scapularis*. Argentina.

\*Instituto de Virología "Dr. J. M. Varella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. †C.I.E.C., Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.  
Contacto: laura9505@yahoo.com.ar

## TL60. Evaluación del papel de dos microRNAs celulares sobre la replicación del virus dengue

Juan C. Castrillón Betancur\*, Silvio Urcuqui Inchima\*

**INTRODUCCIÓN.** Actualmente el dengue es considerada como una de las enfermedades más importantes transmitidas por mosquitos en todo el mundo, ya que en los últimos años su incidencia ha incrementado en una tasa alarmante. Por tanto, el reto para los organismos de salud es invertir esta tendencia y para ello se han generado grandes esfuerzos enfocados a desarrollar una vacuna efectiva que prevenga la enfermedad; sin embargo, aún no se ha podido llegar a una solución segura y eficaz. Con los avances logrados en el campo de los microRNAs y teniendo en cuenta que cada día se incrementa su estudio como una alternativa terapéutica para el control de diferentes enfermedades, se comienza a mirar a los microRNAs como una molécula prometedora. Los microRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante, de cadena sencilla que juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica de organismos eucariotas. Además, actúan de tal forma que pueden regular negativamente el ciclo replicativo de algunos virus. Esto ha llevado a que recientemente se estudie su efecto sobre virus que causan infecciones en el hombre.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto de los microRNAs celulares miR-744 y miR-484, en la replicación del DENV.

**METODOLOGÍA.** Para determinar si existen microRNAs celulares que reconocen secuencias en la 3'UTR del genoma de DENV, se clonó la 3'UTR de DENV 1,2 y 4 en el vector pEGFP, para obtener un constructo que expresa la proteína GFP fusionada a la 3'UTR viral. Para evaluar si miR-484 y miR-744 reconocían la 3'UTR de DENV, se cotransfectaron células HeLa con cada uno de los constructos que contiene la 3'UTR de DENV en presencia de miR-744 o miR-484 y a las 24 horas postransfección se evaluó el efecto de los microRNAs sobre la expresión de GFP por *Western Blot*. Para determinar el efecto de los miR-744 y miR-484 en la replicación de DENV2 se transfectaron células HeLa con cada uno de los microRNAs y 24h después fueron infectadas con DENV2. El efecto de los microRNAs sobre la replicación del DENV se evaluó por *Western blot* a través del nivel de expresión de la proteína NS1 de DENV. Otra estrategia consistió en infectar primero las células HeLa y 24h después se transfectó con los microRNAs, siguiendo el mismo procedimiento anterior.

**RESULTADOS.** Se observó una disminución en el nivel de expresión de GFP, cuando se expresó fusionada a la 3'UTR de los tres serotipos de DENV evaluados, comparada con el control. Este resultado sugiere que posiblemente existen microRNAs celulares que reconocen secuencias blanco en la 3'UTR viral. La replicación, según la expresión de la proteína viral NS1, es totalmente bloqueada cuando los microRNAs son primero expresados en las células HeLa y luego infectadas. Pero sí las células son primero infectadas, se observa un efecto parcial de los dos microRNAs en la replicación viral. Estos resultados indican que ambos microRNAs regulan negativamente la replicación de DENV2.

**CONCLUSIONES.** El conjunto de resultados indican que existen secuencias en la 3'UTR de DENV que son blanco de miR-484 y miR-744. Dicho reconocimiento bloquea la replicación del DENV2 en células HeLa. Estos resultados son de vital importancia, ya que se podría pensar en una terapia basada en esos microRNAs, para el control de la infección y para el tratamiento del dengue.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. MicroRNA. Genoma. Expresión.

\*Grupo Inmunovirología, Sede de Investigación Universitaria, Medellín. Contacto: castricore@hotmail.com

## TL61. Búsqueda de posibles inhibidores de la infección *in vitro* por rotavirus y astrovirus a partir de extractos obtenidos de dos especies vegetales pertenecientes a la familia asteraceae

Mayra A. Téllez\*, Alba N. Téllez†, Elizabeth Gil‡, Viviana M. Rodríguez‡, María F. Gutierrez\*, Juan C. Ulloa\*

**INTRODUCCIÓN.** La enfermedad diarreica aguda (EDA) es considerada un problema importante en salud pública, ya que afecta a millones de personas en todo el mundo principalmente a los niños. Esta EDA producida por agentes virales como rotavirus (RV) y astrovirus (AstV) se puede adquirir durante los primeros 5 años de vida; sin embargo, puede ser igualmente grave para ancianos y para las personas inmunosuprimidas. Si bien la administración de sales de rehidratación y vacunas para rotavirus como medidas profilácticas han ayudado a contener un poco la enfermedad, no se ha visto que sean medidas efectivas que busquen bloquear la infección para que no se produzcan los eventos patogénicos. Es por esto, que es necesario desarrollar nuevas investigaciones que busquen alternativas que eviten o disminuyan el desarrollo de procesos infecciosos causados por patógenos virales, por medio de la caracterización de compuestos o moléculas obtenidas a partir de fuentes naturales y que puedan ser ampliamente utilizados para la profilaxis y tratamiento de enfermedades virales como EDA.

**OBJETIVO GENERAL.** Buscar sustancias con capacidad inhibitoria de la infección *in vitro* por RV y AstV a partir de fracciones obtenidas de dos especies vegetales pertenecientes a la familia *Asteraceae*, recolectadas en el altiplano cundiboyacense.

**METODOLOGÍA.** Se recolectó el material vegetal de las dos especies vegetales E1 y E2, y a partir de estas se extrajeron fracciones por medio fraccionamiento líquido/líquido continuo con solventes de menor a mayor polaridad. Con las fracciones obtenidas se realizaron pruebas de citotoxicidad sobre las líneas celulares susceptibles de infección por RV y AstV, MA104 y CaCo2, respectivamente. Posteriormente se realizaron con estas ensayos que valoraron el efecto antiviral dirigido a un bloqueo de la infección y también para evaluar el efecto virustático sobre infecciones por RV y AstV, por inmunocitoquímica y por citometría de flujo.

**RESULTADOS.** Se obtuvieron 12 fracciones a partir de las dos especies vegetales y se determinaron las concentraciones atóxicas de cada una sobre las líneas celulares MA104 y CaCo2. La máxima concentración atóxica de cada fracción fue utilizada para probar un efecto de bloqueo de la infección por RV y AstV obteniéndose que ninguna de estas lo ejerce. Sin embargo, un posible efecto virustático fue observado por una fracción obtenida de la especie E2 que se evidenció por una reducción de la infección tanto para RV como para AstV.

**CONCLUSIONES.** Los ensayos realizados en este trabajo para probar si dos especies vegetales endémicas del altiplano cundiboyacense contienen sustancias con actividad antiviral contra la infección *in vitro* contra RV y AstV, permiten proponer que una de estas especies contiene sustancias que tienen afinidad por las proteínas estructurales de los dos virus propuestos generando una inhibición de la infección *in vitro*. Estos resultados contribuyen al conocimiento sobre la actividad antiviral que pueden ejercer productos fitoterapéuticos y que podrían eventualmente ser usados para reducir las diarreas producidas por RV y AstV.

**PALABRAS CLAVES.** Diarrea. Infección. Rotavirus. Astrovirus.

\*Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. †Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Grupo de Investigación en Fitotécnica, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. ‡Laboratorio de Hematología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. \*Contacto: julloa@javeriana.edu.co

## TL62. Los virus entomopatógenos y su utilidad en el control biológico de plagas. Caso de estudio: uso de granulovirus para el control de la polilla guatemalteca de la papa

Laura F. Villamizar Rivero\*, Carlos Espinel Correa\*, Juliana A. Gómez Valderrama\*, Karen L. Vega Guerrero\*, Paola E. Cuartas Otálora\*, Carlos A. Moreno Velandia\*, Gloria P. Barrera Cubillos\*, Xavier Léry†, Miguel López-Ferber†, Alba Marina Cotes\*

**INTRODUCCIÓN.** Actualmente, la población mundial depende de los productos agrícolas para su subsistencia, y poco más de una docena de cultivos constituyen los alimentos básicos. Sin embargo, más de un 14% de las cosechas anuales se pierden en todo el mundo por efecto de los insectos plaga y las enfermedades, cuyo manejo químico, además de contaminante, ha sido poco efectivo. Por tal razón, la búsqueda de alternativas al control químico de insectos, se ha dirigido hacia el control biológico, que cuenta con diversas herramientas como el control microbiano basado en la utilización de microorganismos que causan enfermedades en los insectos, como las bacterias, los virus, los hongos, los nemátodos y los protozoarios. Los virus entomopatógenos se clasifican de acuerdo a las consideraciones que se tienen para clasificar los virus de animales como: el tipo de ácido nucleico, la morfología de la partícula, la simetría de las subunidades de la cubierta de proteína, la presencia o ausencia de una envoltura que rodea a la partícula y el tamaño de la partícula. En este sentido, actualmente se conocen 16 familias virales, siendo la más estudiada y utilizada, la familia Baculoviridae. Los baculovirus son virus ADN circular de doble cadena que forman cuerpos de inclusión proteicos (CI) según los cuales se clasifican en nucleopoliedrovirus (NPV) y granulovirus (GV). Los GVs han sido utilizados para el control de diferentes insectos plaga como son la polilla gitana de la manzana (*Cidya pomonella*), la palomilla de la papa (*Phthorimaea operculella*) y la polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora*), entre otros.

**OBJETIVO GENERAL.** La polilla guatemalteca de la papa es una de las principales plagas de este cultivo en Colombia y otros países de América. Este insecto causa pérdidas que oscilan entre el 35% y el 100% dependiendo del nivel de infestación, tanto en condiciones de campo, como en tubérculos almacenados. El control químico ha sido ineficiente, por lo que países como Costa Rica, Venezuela y Colombia, han dedicado sus esfuerzos al desarrollo de herramientas de control de la plaga mediante la utilización de aislamientos nativos de granulovirus.

**METODOLOGÍA.** Corpoica inició el trabajo estructurando una colección con cinco aislamientos nativos del virus, que fueron caracterizados morfológica, biológica y molecularmente. Posteriormente, se seleccionó el virus codificado como VG003 por presentar alta patogenicidad y productividad viral. Con este virus desarrolló diferentes prototipos de formulación que incluyeron filtros ultravioleta, los cuales fotoestabilizaron eficientemente las partículas virales. Los formulados fueron evaluados bajo condiciones de laboratorio, casa de malla y campo.

**RESULTADOS.** Se seleccionó el prototipo formulado como un concentrado emulsionable, el cual presentó una concentración de 2 x 10<sup>9</sup> CI/mL y al ser aplicado en campo utilizando una concentración de 1 x 10<sup>7</sup> CI/mL, un volumen de 400 L/Ha y una frecuencia quincenal, mostró una eficacia del 84% para el control de la polilla.

**CONCLUSIONES.** Actualmente el bioplaguicida se encuentra en las fases finales de desarrollo que incluyen el escalamiento del proceso de manufactura, los estudios de vida útil y las pruebas de eficacia para registro comercial. Los promisorios resultados de control obtenidos con este producto demuestran el potencial que tienen los virus entomopatógenos para el control de plagas y para su inclusión en programas de manejo integrado del cultivo.

**PALABRAS CLAVES.** Entomopatógeno. Baculovirus. Insectos. Control biológico.

\*Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria –Corpoica. †Institut de recherche pour le développement (Francia). Contacto: laurafernandez@yahoo.es.



### TL63. Identificación y cuantificación de un granulovirus de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) dentro del proceso de desarrollo de un bioplaguicida

Gloria P. Barrera Cubillos\*, Paola E. Cuartas Otálora†, Jazmín E. Murcia Garzón\*, Cristian A. Guzmán Santofimio\*, Jorge L. Cerón Pérez\*, Laura F. Villamizar Rivero‡

**INTRODUCCIÓN.** La polilla guatemalteca, *Tecia solanivora*, es una plaga de importancia económica en los cultivos de papa en Colombia y otros países productores. El manejo convencional de este insecto se realiza con plaguicidas químicos que presentan riesgos de toxicidad. El uso de virus entomopatógenos, particularmente de la familia Baculoviridae, surge como una alternativa promisoriosa para el control eficiente del insecto evitando impactos negativos. Para el manejo de la plaga, Corpoica desarrolló un bioplaguicida con base en un aislamiento nativo del granulovirus de *T. solanivora* con resultados promisorios en el control (eficacia superior al 80%). Durante el desarrollo de este producto, varias etapas requirieron la identificación y cuantificación del virus, desde la búsqueda de aislamientos nativos, el proceso de purificación viral, el control de calidad en la manufactura del formulado, hasta el seguimiento del virus en las pruebas de campo. Anteriormente, las metodologías utilizadas para ese fin (análisis microscópico) eran poco precisas, no eran aplicables a todas las etapas y presentaban variación de acuerdo con la experiencia del observador.

**OBJETIVO GENERAL.** El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una metodología basada en PCR cuantitativo para la identificación y cuantificación de un granulovirus nativo de *T. solanivora*.

**METODOLOGÍA.** Por lo anterior, se caracterizó una región conservada del genoma viral, localizada dentro del gen que codifica para Granulina. En esta región se diseñó una pareja de cebadores y una sonda Taqman para la detección mediante PCR en tiempo real. El gen gran fue clonado en un plásmido vector y utilizado como patrón para la cuantificación del virus. La metodología se validó mediante pruebas de especificidad, reproducibilidad y sensibilidad. Se implementó la técnica para el seguimiento del virus en muestras de suelo y para el control de calidad dentro del proceso de manufactura del bioplaguicida.

**RESULTADOS.** La metodología fue sensible (límite de detección de 534 copias del gen/ $\mu$ l), reproducible (desviación estándar inferior a 1) y específica para la detección de granulovirus de *T. solanivora*, con resultados negativos para Baculovirus de diferente género como el nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda*. Para el seguimiento del virus en el suelo se analizaron muestras a 10 cm de profundidad a dos y 26 horas y a los 30 días después de la aplicación en el soporte. A las dos horas, la concentración fue de  $1,4 \times 10^7$  CI/g (cuerpos de inclusión/gramo de suelo), con una disminución a las 26 horas a  $4,6 \times 10^6$  CI/g suelo. Después de 30 días, la concentración fue  $2,9 \times 10^6$  CI/g suelo, siendo notoria la disminución comparada con las dos primeras horas (79%). Para el control de calidad del bioplaguicida se analizaron muestras de producto final y los resultados obtenidos fueron similares a las concentraciones teóricas estimadas dentro del proceso.

**CONCLUSIONES.** La metodología de PCR cuantitativa desarrollada en este trabajo es de gran utilidad en todas las etapas de desarrollo de un bioplaguicida a base de granulovirus. Inicialmente, la metodología es aplicable a la búsqueda de nuevos aislamientos nativos, por su especificidad y sensibilidad para detectar larvas infectadas. Adicionalmente, el seguimiento del virus en el suelo después de su aplicación, contribuye al establecimiento de las frecuencias de aplicación del producto. Finalmente, la metodología es útil para el control de calidad durante la manufactura de bioplaguicidas a base de granulovirus, ya que permite definir límites de aceptabilidad en las operaciones unitarias del proceso, asegurando un producto de calidad lote tras lote.

**PALABRAS CLAVES.** Bioplaguicida. granulovirus. Q-PCR. *Tecia solanivora*.

\*Laboratorio de Microbiología Molecular. †Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica. Contacto: silvestre7@hotmail.com.

### TL64. El virus sincitial respiratorio utiliza un mecanismo que depende de PAK-1 e independiente de dinamina para infectar a las células epiteliales bronquiales humanas de origen primario

Lisandro A. Pacheco Lugo\*‡, Yirys A. Díaz Olmos\*‡, Homero G. San Juan Vergara††

**INTRODUCCIÓN.** El virus sincitial respiratorio (VSR) es uno de los patógenos virales más importantes del tracto respiratorio, afectando principalmente a la población pediátrica. Se estima que el 95% de los niños experimentarán por lo menos un episodio infeccioso por el VSR a la edad de 2 años. A pesar de años de investigación, aún no se cuenta con una vacuna que proteja contra el virus, principalmente por el desconocimiento que se tiene en cuanto a los mecanismos inmunopatológicos que gobiernan la infección. El desarrollo de alternativas terapéuticas encaminadas a disminuir los índices de morbimortalidad asociadas al VSR son urgentes. Para ello es prioritario conocer los mecanismos que sigue el virus para infectar a las células del epitelio bronquial humano, con el fin de desarrollar fármacos que bloqueen las etapas tempranas de la infección.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la participación de vías endocíticas en la entrada del virus sincitial respiratorio a las células bronquiales humanas utilizando moléculas pequeñas con capacidad inhibitoria de la actividad GTPasa de dinamina II y Pak-1.

**METODOLOGÍA.** Células NHBE fueron preincubadas durante 1 hora con dinasore o 30 minutos con IPA-3 e infectadas con el VSR a una dosis infecciosa de 0,3 pfu/mL en presencia del inhibidor. Los inhibidores fueron mantenidos en el medio durante 2 horas adicionales (dinasore) ó durante 1 hora adicional (IPA-3). Finalmente el inhibidor fue retirado del medio de cultivo mediante exhaustivos lavados y las células incubadas durante 16 horas en medio de cultivo BEGM fresco sin inhibidor 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%. El VSR que se utilizó en estos estudios está ingeniado genéticamente para que exprese GFP durante la transcripción y traducción del genoma viral. Por tanto, 16-20 horas postinfección se evaluó la infección mediante citometría de flujo contabilizando el porcentaje de células verdes en presencia y en ausencia de los inhibidores.

**RESULTADOS.** El análisis por citometría de flujo reveló que el tratamiento con el inhibidor dinasore no redujo los niveles de infección de manera significativa. Sin embargo, el tratamiento con IPA-3 redujo la cantidad de células infectadas.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados sugieren que el VSR puede estar utilizando un mecanismo de entrada en células bronquiales humanas de origen primario que no requiere de la participación de vías endocíticas dependientes de dinamina, tales como: dependiente de clatrina, caveolina, receptor de IL-2 y fagocitosis. Sin embargo, la inhibición de la infección en presencia de IPA-3, un inhibidor de Pak-1, podría sugerir que vías macropinocíticas pueden estar jugando un papel importante en la infección del VSR a células bronquiales de origen primario.

**PALABRAS CLAVES.** Virus sincitial respiratorio. Dinastore. Pak-1. Mecanismos de endocitosis.

\*Grupo de Investigaciones en Biotecnología, Universidad del Norte, Barranquilla-Colombia. Estudiante de maestría. Investigador de la Universidad Simón Bolívar, Barranquilla. †Director Grupo de Investigaciones en Biotecnología, Universidad del Norte, Barranquilla-Colombia. Director de Investigaciones de la facultad ciencias de la salud, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia. ‡Grupo de Investigaciones en Biotecnología, Universidad del Norte, Barranquilla-Colombia. Estudiante de maestría, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla. Contacto: lisandrobio@gmail.com



## TL65. Circulación de virus respiratorios en pacientes con enfermedad tipo influenza en un hospital de Medellín, Colombia

Ana E. Arango Restrepo\*, Sergio Jaramillo†, David Espinal‡, Jorge Donado‡, Sonia Ampuero‡, Jane Ríos‡, Eric Halsey‡, Alberto Laguna-Torres‡

**INTRODUCCIÓN.** Los virus son los principales agentes productores de enfermedad respiratoria aguda. Los más conocidos por su patogenicidad en el tracto respiratorio, son los virus de influenza A y B, el virus respiratorio sincitial (VRS), los adenovirus, los virus parainfluenza 1, 2 y 3 y el metaneumovirus humano (hMPV) recientemente descrito. Los niños son un grupo muy susceptible a las infecciones respiratorias agudas (IRA) por la inmadurez de su sistema inmunológico, asociada a un contacto interpersonal muy estrecho (guarderías y escuelas) y muchas veces en ambientes sin medidas de protección adecuadas como lavado frecuente de las manos o vacunación. Todo esto hace que ellos sean los principales focos de la enfermedad y diseminadores de las IRA.

**OBJETIVO GENERAL.** Contribuir al conocimiento de la epidemiología local (Medellín y su Área Metropolitana), y nacional (Colombia), así como en la región suramericana, mediante el diagnóstico de laboratorio de los casos de infección respiratoria que acudieron al HPTU entre diciembre de 2006 y diciembre de 2010.

**METODOLOGÍA.** Caso: cualquier persona con inicio súbito de fiebre ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) y tos o dolor de garganta de  $\leq 5$  días acompañado o no por síntomas generales como mialgias, malestar general, cefalea, etc., que consulte al HPTU y voluntariamente participe en el estudio. A cada paciente se le llenó una historia clínica y se le tomaron dos muestras, un hisopado nasal para prueba rápida de influenza (Quick Vue®) y un escobillón faríngeo para aislamiento viral en Lima, Perú. El resultado de la prueba rápida se le dio al paciente inmediatamente y la otra muestra se conservó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su envío a NAMRU-6 en Lima para su cultivo en diferentes tipos celulares. Los resultados de los cultivos fueron enviados a su recibo al HPTU y al INS en Bogotá. La participación de NAMRU6 ha sido financiada por el GEIS y bajo el protocolo (NMRC.D.2002.0019) que fue aprobado por la Universidad de Antioquia, el HPTU y el Comité de Ética del Centro de Investigación Médica Naval de acuerdo a todas las regulaciones que protegen a los sujetos humanos.

**RESULTADOS.** Se presentan los resultados obtenidos de un total de 1.205 pacientes que consultaron entre diciembre de 2006 y de 2010. La población de estudio estuvo compuesta por 57 mayores de 15 años y 1.148 niños del área metropolitana de Medellín. De ellos 55,8% fueron de sexo masculino y 44,2% de sexo femenino. Los agentes virales aislados con mayor frecuencia fueron los virus de Influenza A (41,2%), seguidos por los adenovirus (19,3%), influenza B (17,1%), VRS (3,1%) y otros. Las características demográficas de la población estudiada y los síntomas más frecuentes se muestran en las tablas y figuras.

**CONCLUSIONES.** Nuestros resultados coinciden con lo informado en la literatura, sin embargo, son una contribución muy importante al conocimiento de la epidemiología local de las infecciones respiratorias virales, de las cuales no hay muchos estudios propios. Algunos virus circulan durante todo el año en la ciudad y otros lo hacen de manera intermitente, como brotes epidémicos. Se destaca la circulación de algunos virus que son ignorados frecuentemente en la consulta médica.

**PALABRAS CLAVES.** Influenza. Adenovirus. Virus respiratorios. Vigilancia.

\*Universidad de Antioquia, Grupo Inmunovirología, Medellín. †Hospital Pablo Tobón Uribe (HPTU), Medellín. ‡NAMRU-6 (US Naval Medical Research Unit-6), Lima, Perú. Contacto: aearangor@gmail.com

## TL66. Epidemiología molecular de los virus de la rabia en Colombia

Andrés Páez Martínez\*, Andrés Velasco-Villa†

**INTRODUCCIÓN.** La rabia es una virosis neurodegenerativa terminal zoonótica con ciclos urbanos, con el perro como principal reservorio y transmisor, y silvestres con murciélagos y carnívoros terrestres como reservorios y transmisores, y gatos como transmisores. Eventualmente ocurre transmisión entre los ciclos, incrementándose el riesgo de contagio para los humanos. En Colombia la rabia urbana transmitida por perros lleva un silencio epidemiológico de 3 años y 6 meses; sin embargo, la rabia silvestre continua siendo una amenaza para la población, la cual en los últimos 7 años ha causado 7 veces más víctimas humanas que la rabia canina. Otros países de Latino América están libres de rabia canina, mientras en otros todavía se encuentran en proceso de eliminación.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar en Colombia la circulación y transmisión de las variantes antigénicas y genéticas de los virus rábicos en Colombia para elucidar las dinámicas de transmisión geográficas, temporales e interespecies.

**METODOLOGÍA.** El diagnóstico de rabia se logró por inmunofluorescencia directa sobre tejido encefálico y prueba biológica por inoculación intracerebral en ratón. La tipificación viral por inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales, secuenciación parcial del gen de la nucleoproteína y análisis filogenético. Se analizaron virus rábicos aislados desde 1994 de especies animales tales como gatos, perros, murciélagos insectívoros, murciélagos hematófagos, cerdos, cabras, vacas, caballos, zorros y humanos.

**RESULTADOS.** En Colombia se ha logrado confirmar la transmisión de las variantes antigénicas 1, 3, 4, 5 y 8 de los virus rábicos. Igualmente se identificaron dos variantes antigénicas atípicas que no pertenecen a ninguna de las 11 previamente identificadas en todo el mundo. Según secuenciación genómica y análisis filogenético una de las variantes atípicas identificadas en Colombia se transmite entre murciélagos insectívoros y la otra entre hematófagos.

**CONCLUSIONES.** La epidemiología de la rabia silvestre en Colombia es compleja e involucra al menos 5 variantes antigénicas clásicas y 2 variantes antigénicas atípicas las cuales se transmiten entre especies de carnívoros terrestres, murciélagos de hábitos solitarios y coloniales, murciélagos hematófagos, felinos y humanos. Las variantes atípicas detectadas en Colombia y otros países de Latino América indican que la diversidad de los virus rábicos es más amplia que la pensada en 1994 cuando la tipificación antigénica fue establecida, y señalan la necesidad de ampliar el número de variantes antigénicas caracterizadas con la finalidad de afinar el conocimiento de la epidemiología de la enfermedad. La tipificación genética de los virus de la rabia es una herramienta de vital importancia en la elucidación de las dinámicas geográfico-temporales e interespecies de la enfermedad.

**PALABRAS CLAVES.** Rabia. Epidemiología molecular. Colombia. Zoonosis. Nucleoproteína. Virus.

Laboratorio de Virología – Instituto Nacional de Salud – Bogotá D.C. Rabies Section – Centers for Disease Control and Prevention – Atlanta GA, USA. Contacto: apaez@ins.gov.co

## TL67. Cinética de replicación de los cuatro serotipos de virus dengue en mosquitos *Aedes aegypti* infectados en condiciones de laboratorio

Alexander D. Uribe\*, Carolina Quintero Gil\*, Esteban Marín\*, Luisa F. Arbeláez García\*,  
Francisco Díaz‡, Marta Ospina‡, Jorge E. Osorio§, Marlén Martínez Gutierrez\* ||

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es la enfermedad de tipo arboviral de mayor impacto en salud pública en el mundo. Existen cuatro serotipos antigénicamente diferentes del virus (DENV1 a DENV4) que son transmitidos principalmente por insectos de la especie *Aedes aegypti*, el cual es un vector de amplia distribución en entornos domésticos de muchos países del trópico. La efectiva transmisión de DENV depende en gran medida de la competencia vectorial, definida como la habilidad intrínseca de un artrópodo vector para permitir la replicación y la transmisión de un patógeno. La circulación simultánea de los cuatro serotipos de DENV en Colombia, hacen relevante evaluar el comportamiento de estos serotipos en cuanto a su capacidad para replicarse en su vector principal, usando como parámetro para esto el análisis de la cinética de la infección en mosquitos susceptibles, y de este modo aportar a la comprensión de los ciclos de transmisión de los diferentes serotipos, lo que plantea nuevos retos y preguntas en el campo de la entomología médica y la epidemiología.

**OBJETIVO GENERAL.** Comparar la cinética replicativa de cepas de los cuatro serotipos de DENV provenientes de aislamientos clínicos de la ciudad de Medellín en una cepa de mosquitos *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio.

**METODOLOGÍA.** Se estableció en el laboratorio una colonia de mosquitos *Ae. aegypti* (cepa Rockefeller) y se seleccionaron al azar hembras de mosquitos que fueron alimentadas con una mezcla de sangre y cada una de las cepas virales de cada serotipo a una concentración de  $2 \times 10^5$  copias genómicas/mL, mediante un sistema de alimentación artificial. Después de 8, 14, 21, y 28 días post-alimentación (d.p.a) se realizaron disecciones de cabeza y tórax, para hacer extracción de RNA total por el método de RNAzol de tal manera que se pudiera evaluar la diseminación a órganos anteriores los cuales son esenciales para la transmisión del virus. A partir de una misma concentración de RNA total, se realizó RT-PCR para amplificación del gen de actina (como marcador de la integridad del RNA) usando *primers* y genoma viral por RT-PCR en tiempo real serotipo específica.

**RESULTADOS.** Durante los diferentes días evaluados se determinó la presencia de genoma viral en mosquitos por RT-PCR, encontrándose que el genoma viral de las cepas de DENV-2 y DENV-3 podía ser detectado desde los 8 d.p.a, DENV-1 se logró detectar al día 21, y DENV-4 no fue detectado durante el tiempo de duración del ensayo. Adicionalmente, cuantificaciones de genoma viral extraído de los mosquitos muestran que la cantidad de genoma viral para la cepa de DENV-2 ( $6 \times 10^5$  copias genómicas/mL) fue mayor respecto a los demás serotipos (DENV-1,  $4 \times 10^4$  y DENV-3,  $2 \times 10^3$  copias genómicas/mL, respectivamente).

**CONCLUSIONES.** Las diferencias encontradas en la cinética de infección de los diferentes serotipos de DENV en su vector principal, plantean que el serotipo 2 y 3 de DENV se podrían estar transmitiendo de una manera más eficientemente que el resto de los serotipos, pues sus genomas aparecen rápidamente durante los primeros días post-infección; mientras que serotipos como DENV-1 y DENV-4, se estaría transmitiendo de manera menos eficiente, lo que se correlacionaría con el número de casos que se reportan cada año, siendo mayores para los serotipos 2 y 3, y menores para los serotipos 1 y 4. Actualmente estamos realizando estudios en los que evaluamos días posteriores al día 28 postinfección con el fin de identificar en qué momento se puede detectar el genoma de DENV serotipo 4, y adicionalmente se están realizando infecciones en colonias obtenidas en la ciudad de Medellín.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. *Aedes aegypti*. Cinética de la infección. Vector.

\*Programa de estudio y control de enfermedades tropicales –PECEET, Universidad de Antioquia. †Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia. ‡Laboratorio Departamental de Salud de Antioquia. §Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, Madison, United States. ||Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: mmartinez@udea.edu.co

## TL68. Estimation of the effective number of founders that initiate an infection after aphid transmission of a multipartite plant virus

Mónica Betancourt Vásquez‡, Alberto Fereres Castiel†, Aurora Fraile Perez\*, Fernando García-Arenal Rodríguez\*

**INTRODUCCIÓN.** The fecundity of RNA viruses can be very high. Thus, it is often assumed that viruses have large populations, and RNA virus evolution has been mostly explained using purely deterministic models. However, population bottlenecks during the virus life cycle could result in effective population numbers being much smaller than reported censuses, and random genetic drift could be important in virus evolution. A step at which population bottlenecks may be severe is host-to-host transmission.

**OBJETIVO GENERAL.** We report here an estimate of the size of the population that starts a new infection when Cucumber mosaic virus (CMV) is transmitted by the aphid *Aphis gossypii*, based on the segregation of two CMV genotypes in plants infected by aphids that acquired the virus from plants infected by both genotypes.

**METODOLOGÍA.** We report here an estimate of the size of the population that starts a new infection when Cucumber mosaic virus (CMV) is transmitted by the aphid *Aphis gossypii*, based on the segregation of two CMV genotypes in plants infected by aphids that acquired the virus from plants infected by both genotypes.

**RESULTADOS.** Results show very small effective numbers of founders, between one and two, both in experiments in which the three-partite genome of CMV was aphid transmitted and in experiments in which a fourth RNA, CMV satellite RNA, was also transmitted. These numbers are very similar to those published for potato virus Y, which has a monopartite genome and is transmitted by aphids according to a different mechanism than CMV. Thus, the number of genomic segments seems not to be a major determinant of the effective number of founders.

**CONCLUSIONES.** Our results suggest that the occurrence of severe bottlenecks during horizontal transmission is general for viruses nonpersistently transmitted by aphids, indicating that random genetic drift should be considered when modeling virus evolution.

**PALABRAS CLAVES.** Plant viruses. Population bottlenecks.

\*Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas y Departamento de Biotecnología, Universidad Politécnica de Madrid – España. †Departamento de Protección Vegetal, Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC, Madrid – España. ‡Universidad Santa Rosa de Cabal, UNISAR, Colombia. Contacto: decagricolas@unisarc.edu.co

## TL69. Caracterización biológica y molecular de aislamientos colombianos del herpesvirus bovino-1

Ruiz-Saenz J\*, Jaime J\*, Ramirez G\*, Vera VJ\*

**INTRODUCCIÓN.** El herpesvirus bovino-1 (BHV-1), agente causante de graves pérdidas económicas, ha sido reportado en Colombia, desde los años setenta y aunque existe un plan de vacunación y prevención de la enfermedad, se sospecha que es uno de los principales limitantes de las explotaciones ganaderas del país.

**OBJETIVO GENERAL.** Caracterizar biológica y molecularmente 18 aislamientos del BHV-1, 10 de ellos obtenidos de tracto respiratorio y los 8 restantes de tracto reproductivo.

**METODOLOGÍA.** Para la evaluación biológica se realizaron titulaciones en cultivo de células MDBK por las técnicas de Unidades Formadoras de Placa (PFU/mL) y Dosis Infecciosa (TCID<sub>50</sub>), al igual que curvas de crecimiento en un solo paso y medición del tamaño de placa comparando con las cepas de referencia Iowa y Colorado-1. Para la evaluación molecular, se usó PCR, RFLP de genoma completo y Western Blot para epítopes inmunodominantes de glicoproteínas.

**RESULTADOS.** Se encontró que la mayoría de cepas presentaron un fenotipo de placa uniforme en un rango entre 1 y 2 mm de diámetro similar a las cepas de referencia; sin embargo, las cepas denominadas Cali 1 a 8 mostraron un reducido tamaño de placa (< 1 mm de diámetro). Al evaluar si existían diferencias en la infectividad *in vitro* por TCID<sub>50</sub> y PFU/mL comparado con los virus de referencia, se encontró que las cepas aisladas de las zonas de Córdoba y Medellín presentaron los mayores títulos (1x10<sup>8</sup>-8,25 TCID<sub>50</sub>) mientras que los títulos más bajos (1x10<sup>-3</sup>,75 TCID<sub>50</sub>) se obtuvieron en la cepa Sabana-1. En PFU/mL, los virus de Medellín y Córdoba tuvieron títulos mayores a 107 PFU/mL aunque no hubo completa correlación entre PFU y TCID<sub>50</sub>. Los títulos para Iowa y Colorado-1 fueron similares a los de las cepas de Medellín y Córdoba. Para analizar las diferencias en replicación se realizó una curva de crecimiento usando un MOI de 10 y se titularon los sobrenadantes y las monocapas. Los aislamientos Córdoba 1 y 2 tuvieron características de crecimiento intra y extracelulares similares a la cepa de referencia altamente virulenta Iowa; mientras que las cepas Cali y Sabana tuvieron 3 logaritmos menos en producción tanto de virus intra como extracelulares. En la caracterización molecular por PCR se confirmó que todas las cepas son BHV-1 y por RFLP se evidenció que la mayoría de las cepas pertenecen al subtipo BHV-1.1 y solo una de ellas, la cepa Sabana-1 pertenece al subtipo BHV-1.2a. Por otro lado, no se encontraron diferencias en la expresión de los epítopes en las diferentes glicoproteínas de envoltura.

**CONCLUSIONES.** Algunos de los aislamientos colombianos del BHV-1 poseen características biológicas de cepas de alta virulencia, mientras que otras parecen estar naturalmente atenuadas; sin embargo, no existen características moleculares ni inmunogénicas que puedan explicar los perfiles de virulencia. Es necesario realizar estudios de patogenicidad *in vivo* para confirmar dichos perfiles y si se correlacionan con lo encontrado *in vitro*. Adicionalmente, algunas de estas cepas pueden ser útiles para el desarrollo de vacunas a partir de cepas nativas inactivadas o atenuadas.

**PALABRAS CLAVES.** Herpesvirus bovino. Aislamiento viral. Virulencia.

\*Grupo de Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Colombia. Contacto: julianruizsaenz@gmail.com

## TL70. Análisis de la estructura poblacional del virus del mosaico de la caña de azúcar infectando maíz en Cosoleacaque- Veracruz

Giovanni Chaves-Bedoya\*†, Susana Ruiz†, Laura Silva†

**INTRODUCCIÓN.** El análisis de la constitución genética de las poblaciones de los virus de plantas, puede proporcionar información que ayude a entender la estabilidad genética de la mayoría de virus de ARN que infectan plantas, a pesar de su alto potencial para variar. La comparación de secuencias de nucleótidos de aislamiento virales de diferentes orígenes geográficos, permite el análisis de la estructura genética de las especies virales vegetales y el estudio de la evolución molecular de los virus ayuda al entendimiento de características importantes de su biología, como cambio en la virulencia y rango geográfico, y su surgimiento como nuevas epidemias.

**OBJETIVO GENERAL.** Conocer la dinámica poblacional del virus del mosaico de la caña de azúcar infectando cultivos de maíz en una región productora en Cosoleacaque, Veracruz.

**METODOLOGÍA.** Con hojas de maíz infectadas con SCMV se hicieron extracciones de ARN empleando trizol. Las muestras de ARN total fueron el templado para RT-PCR. El alineamiento múltiple de los nucleótidos y aminoácidos se hizo con ClustalX. Los árboles filogenéticos se construyeron con PhyML. El análisis de recombinación se hizo empleando el algoritmo GARD.

**RESULTADOS.** El análisis GARD y árboles filogenéticos sugieren que en Cosoleacaque hay por lo menos tres grupos genéticos diferentes de SCMV incluyendo aislamientos recombinantes.

La diversidad de haplotipos y aislamientos de SCMV recombinantes encontrados, los altos valores de sustitución nucleotídica no sinónima y la diversidad nucleotídica encontrada, permiten proponer que Cosoleacaque es un lugar que alberga un enjambre genómico viral, sugiriendo la presencia de “quasiespecies” en SCMV, como se ha reportado para otros sistemas virales. Desde el punto de vista fitosanitario es preocupante la presencia de por lo menos 33 haplotipos diferentes de SCMV en una pequeña región, capaces de establecer infección en todos los genotipos de maíz que se siembran en la localidad, incluyendo material comercial que supone resistencia a SCMV.

**CONCLUSIONES.** Este estudio sugiere que en la región de Cosoleacaque, Veracruz, se presentan diferentes haplotipos de SCMV y puede ser una región de diversificación de SCMV en México. Las posibles causas de la alta incidencia de la infección viral y de la alta variabilidad podrían ser (1) Las variedades susceptibles de maíz, (2) Altas densidades de poblaciones de áfidos que transmiten SCMV, y (3) La presencia de reservorios de inóculos virales presentes cerca de las áreas de crecimiento de maíz. La poca restricción evolutiva que tiene el cistron P1 como lo indica la relación dN/ds puede deberse a su función biológica como determinantes de patogenicidad de hospedantes específicos. P1 apunta a ser un punto caliente de recombinación en SCMV, de la misma manera que lo es para el virus del mosaico del nabo.

**PALABRAS CLAVES.** SCMV. Maíz. Evolución. Recombinación.

\*Laboratorio de Interacciones Planta-virus. Departamento de Ingeniería Genética. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV Tlapuato, México. †Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías. Universidad de los Llanos. Villavicencio, Meta, Colombia. Contacto: gchaves@unal.edu.co



## TL71. Evaluación de la actividad antiviral de fracciones derivadas de plantas de la región caribe colombiana sobre la infección por virus dengue serotipo 2

Andrea Trujillo-Correa\*, Fredyc Diaz-Castillo†, Moisés Carrascal-Medina‡,  
Sara Robledo-Restrepo\*, Marlén Martínez-Gutiérrez\*‡

**INTRODUCCIÓN.** A pesar de la alta incidencia de la infección producida por el virus dengue (DENV), hasta el momento no se dispone de una vacuna licenciada para su prevención, ni de un fármaco antiviral específico para el tratamiento de la enfermedad. Recientemente hemos demostrado el efecto antiviral de extractos etanólicos derivados de plantas de la Región Caribe Colombiana sobre la infección por DENV serotipo 2. La identificación de compuestos obtenidos a partir de extractos naturales es una prioridad de investigación en el mundo, pues podrían convertirse en una alternativa para el desarrollo de estrategias farmacológicas a mediano plazo. Por esta razón se realizó el fraccionamiento de los extractos que habíamos encontrado como más promisorios, teniendo en cuenta los mayores índices de selectividad, para posteriormente evaluar la actividad antiviral de cada una de dichas fracciones

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar el efecto antiviral de fracciones derivadas de extractos de plantas de la Región Caribe Colombiana sobre la infección por DENV serotipo 2 en células VERO.

**METODOLOGÍA.** Los extractos que previamente habían demostrado una mayor inhibición del DENV-2 Cepa Nueva Guinea (NGC), fueron fraccionados por separación líquido-líquido, por cromatografía en columna, o por ambos métodos. De cada extracto se obtuvieron en promedio 5 fracciones, con las cuales se determinó la concentración citotóxica 50 (CC50) a través de la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT). Posteriormente, las células fueron infectadas con DENV-2 cepa NGC, en ausencia o presencia de diferentes concentraciones de cada una de las fracciones (entre 250 y 7,81 µg/mL). El efecto antiviral se determinó luego de titular los sobrenadantes recolectados 48 horas postinoculación mediante titulación por plaqueo. Finalmente la actividad antiviral se expresó como la concentración que inhibe el 50% de la producción viral (concentración efectiva 50, CE50). Los valores CC50 y CE50 fueron calculados usando el software Probit y los índices de Selectividad (IS) se expresaron como la relación entre la CC50/CE50.

**RESULTADOS.** Las fracciones fueron obtenidas a partir de los extractos de las plantas *Murraya exótica* L., *Capparis odoratissima* Jacq., y *Chenopodium ambrosioides* L. Las fracciones CO-02 y CO-06 obtenidas a partir de *Capparis odoratissima* inhibieron la infección en porcentajes mayores al 90%, con IS de 11,83 y 64,3, respectivamente. Las fracciones ME-05 y ME-06 obtenidas a partir de *Murraya exótica* produjeron porcentajes de inhibición aproximados del 60%, con IS de 10,52 y 77,92, respectivamente. Finalmente, las fracciones CHA-01 y CHA-04 obtenidas a partir de *Chenopodium ambrosioides* inhibieron la infección en un 100%, con IS de 6,67 y 20, respectivamente.

**CONCLUSIONES.** De acuerdo con los resultados obtenidos, las fracciones más promisorias como fuente natural de potenciales metabolitos secundarios con actividad anti DENV, provienen de las especies *Capparis odoratissima* y *Chenopodium ambrosioides*. Estudios en curso, en donde se está realizando fraccionamiento biodirigido a partir de las fracciones más promisorias obtenidas en este estudio, nos permitirán identificar las moléculas específicas responsables del efecto antiviral y los pasos del ciclo replicativo que están siendo afectados por dichas moléculas.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. Antivirales. *Murraya exótica* L. *Capparis odoratissima*. *Chenopodium ambrosioides*.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Medellín, Colombia. †Laboratorio de Investigaciones Vitoquímicas y Farmacológicas -LIVFUC-Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia. ‡Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia Medellín, Colombia. Contacto: mmartinez@udea.edu.co

## TL72. Análisis filogenético del virus del dengue Tipo 1 circulando en el oriente de Colombia entre 1998-2008

Ayda S. Ortiz-Báez\*, Daniel R. Miranda-Esquivel†, Raquel E. Ocazone Jimémez‡

**INTRODUCCIÓN.** El dengue severo es más frecuente en localidades donde co-circulan genotipos de un serotipo del virus y/o ocurre resurgencia a través del tiempo de linajes distintas de alguno de ellos. En el Departamento de Santander, el virus dengue 1 (VDEN-1) fue predominante en 1998-1999 y nuevamente en 2007-2008. Ambos períodos coincidieron con incremento notorio de casos, aunque en el primero el dengue grave fue raro (3,7% del total) y en el segundo notoriamente elevado (25,9%).

**OBJETIVO GENERAL.** Estudiar la estructura genética del VDEN-1 que circuló en el oriente de Colombia en el período 1998 – 2008 en relación con la ocurrencia del dengue.

**METODOLOGÍA.** Se secuenció el gen E completo de 51 cepas de Santander y N. de Santander las cuales fueron seleccionadas del banco del Laboratorio de Arbovirus (CINTROP-UIS). Con estas secuencias y con las del mismo gen depositadas en GenBank se obtuvo un total de 1078, las cuales fueron comparadas entre sí usando variadas herramientas bioinformáticas. La reconstrucción de las relaciones filogenéticas se hizo bajo criterios de máxima parsimonia y máxima verosimilitud. La asignación de genotipos se hizo por criterio de monofilia.

**RESULTADOS.** La población de VDEN-1 se pudo agrupar en 5 genotipos (I - V) como lo propusieron Gonzalvez y Coll. en 2002 con el criterio de divergencia 6%. Las cepas colombianas resultaron genotipo V igual que cepas de países de América; filogenéticamente relacionadas con cepas de Venezuela y distantes a las de Brasil, Perú, Puerto Rico y Argentina. Adicionalmente, no se identificó agrupación distinta entre cepas de los dos departamentos. Con respecto a las de Santander, las de 1998 - 1999 forman un linaje y las del 2007 - 2008 otro distinto.

**CONCLUSIONES.** En el período 1998 - 2008, un único genotipo estuvo presente en la población del VDEN-1 del oriente colombiano. La resurgencia de un linaje distinto del virus con mayor potencial virulento, podría ser un factor que favoreció el dengue grave visto en Santander en 2007 – 2008. La frontera venezolana parece ser una puerta de entrada del virus al país.

**PALABRAS CLAVES.** Dengue. Filogenia. Genotipos. Colombia. Nororientes.

\*Estudiante, Universidad Industrial de Santander. †Docente, Universidad Industrial de Santander. ‡Docente, Universidad Industrial de Santander. Contacto: susanaortizbio@gmail.com



### TL73. Evaluación de la infección natural por virus dengue en mosquitos *Aedes aegypti* colectados en zonas de la ciudad de Medellín de alto y bajo riesgo de transmisión de la enfermedad

Alexander D. Uribe Yepes\*, Carolina Quintero Gil\*, Esteban Marín\*, Luisa F. Arbeláez García\*, Marlén Martínez Gutiérrez\*†

**INTRODUCCIÓN.** El dengue es la principal enfermedad arboviral en el mundo. Su principal vector es el mosquito *Aedes aegypti* el cual se encuentra ampliamente distribuido en áreas tropicales y subtropicales. En Colombia, durante el año 2010, se presentó una de las epidemias más importantes de dengue, la cual afectó los principales centros urbanos del país, entre los que se cuenta la ciudad de Medellín. Es por esta razón, que la evaluación de la infección en condiciones naturales con cualquiera de los cuatro serotipos del virus dengue (DENV) en mosquitos *Aedes aegypti* recolectados en las zonas de transmisión, resulta ser de importancia en la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad.

**OBJETIVO GENERAL.** Evaluar la infección natural en mosquitos *Aedes aegypti* colectados en zonas de alta y baja incidencia de transmisión de dengue de la ciudad de Medellín.

**METODOLOGÍA.** En viviendas escogidas aleatoriamente de dos barrios de la ciudad de Medellín con alta y baja incidencia de casos de dengue, caracterizados por presentar condiciones socioeconómicas similares y un índice de Breteau alto, se recolectó el material entomológico, el cual fue llevado al insectario en recipientes para la cría donde se mantuvo bajo condiciones óptimas de sobrevivencia. A la par con las colonias de campo, se mantuvieron mosquitos *Ae. aegypti* (cepa Rockefeller) los cuales fueron infectados con las cepas de referencia de DENV-1 a DENV-4 mediante la técnica de alimentación artificial, para usarlos como controles positivos de la técnica de detección. Los insectos de la primera filial (F1) y los mosquitos control infectados por alimentación artificial fueron sacrificados y separados en pooles de 5 individuos. En todos los casos se hizo extracción de RNA total por el método de RNAzol; para determinar posteriormente la presencia de genoma viral por RT-PCR en tiempo real.

**RESULTADOS.** En la zona de alta incidencia se recolectaron un total de 116 individuos y en la zona de baja incidencia se colectaron 174; todos fueron identificados mediante clave taxonómica como *Aedes aegypti*. Al evaluar la F1 por RT-PCR en tiempo real no se encontraron individuos infectados con ninguno de los cuatro serotipos del DENV; sin embargo, en los mosquitos infectados artificialmente utilizados como controles positivos de detección, encontramos amplificación del genoma viral con un rango de detección desde  $1 \times 10^2$  a  $1 \times 10^5$  copias genómicas/mL. En ambos casos se evaluó la calidad en la extracción de RNA usando primers para el gen de actina, el cual se detectó como una banda de 500 bp tanto en los mosquitos de laboratorio como en los mosquitos de las colonias de campo.

**CONCLUSIONES.** La ausencia de infección natural con DENV en mosquitos provenientes de zonas donde circulan normalmente el virus y su vector puede explicarse por los períodos interepidémicos en los que fluctúa la aparición de casos, pues la sensibilidad de la técnica de PCR en tiempo real es muy alta (98%) pudiendo identificar con ella un número muy bajo de copias genómicas en mosquitos infectados en el laboratorio y también en sueros de pacientes infectados (copias del orden de  $1 \times 10^1$ ) como lo reportamos previamente. Adicionalmente, hay que tener en cuenta el tiempo de la colecta, el cual coincidió con la disminución en el reporte de pacientes positivos para dengue en Medellín. La detección de genoma viral en mosquitos infectados, constituye una herramienta útil en la vigilancia epidemiológica, pues permite determinar el riesgo en que se encuentra una población humana susceptible según la cantidad de vectores que se encuentren infectados en un área.

**PALABRAS CLAVES.** Virus dengue. *Aedes aegypti*. Infección natural.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales –PE CET, Universidad de Antioquia. †Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: mmartinez@medea.edu.co

### TL74. Identificación de los subtipos de VIH-1 circulantes en Colombia comparando diferentes métodos bioinformáticos

Daniela Vanegas-Otálvaro\*, Patricia Olaya-García†, Francisco J. Díaz-Castrillón‡

**INTRODUCCIÓN.** Existen ocho subtipos en el grupo mayor (M) del VIH-1. De estos, tres (B, C y F) se han detectado en Suramérica como subtipos puros y además se conoce de la presencia de la forma recombinante BF. Sólo dos estudios han determinado los subtipos de VIH-1 circulantes en Colombia. Sin embargo, las muestras estudiadas han sido pocas y su distribución geográfica estuvo limitada a regiones específicas.

**OBJETIVO GENERAL.** Identificar los subtipos del VIH-1 circulantes en las diferentes regiones de Colombia y comparar los resultados obtenidos por diferentes programas bioinformáticos.

**METODOLOGÍA.** Se estudiaron 626 secuencias del gen pol obtenidas para estudio de resistencia a los antirretrovirales procedentes de 16 departamentos de Colombia. Estas fueron subtipificadas utilizando tres programas en línea: REGA, Geno2pheno y Stanford database. Adicionalmente, las secuencias fueron sometidas a análisis filogenético por el método de probabilidad bayesiana utilizando el panel de subtipificación de Los Álamos National Laboratory (LANL). Algunas secuencias fueron sometidas a análisis de recombinación por el método de bootscanning.

**RESULTADOS.** Todas las secuencias excepto una (0,16%), fueron subtipo B por análisis filogenético y por Stanford. Una fue subtipo F por todos los métodos analizados. 24 fueron no-B por Geno2pheno y 144 resultaron no tipificables por REGA; de estas, la mayoría mostraron señales sugestivas de recombinación al analizarlas por bootscanning.

**CONCLUSIONES.** La vasta mayoría de las cepas de VIH circulantes en Colombia son subtipo B, pero existe evidencia de posibles eventos recombinantes en segmentos cortos del gen pol en un porcentaje significativo de los virus circulantes.

**PALABRAS CLAVES.** VIH. Subtipos. Recombinación. Colombia.

\*Estudiante de biología, Universidad CES, rolante Grupo Inmunología Universidad de Antioquia. †Directora, Centro de Análisis Molecular, Bogotá. ‡Profesor, Facultad de Medicina, Grupo Inmunología, Universidad de Antioquia. Contacto: franciscodiaz314@gmail.com

## TL75. Incidencia y diversidad del Soybean mosaic virus en cultivos de gulupa (*Passiflora Edulis* SIMS.)

Luz A. Gordillo Alarcón\*, Viviana Camelo\*, Oscar A. Oliveros Garay\*

**INTRODUCCIÓN.** La gulupa (*Passiflora edulis*) es una fruta exótica colombiana de exportación al mercado europeo. Debido al reciente establecimiento de este cultivo, el conocimiento para enfrentar problemas fitosanitarios ha sido trasladado de la experiencia en otras pasifloras. Infecciones por Soybean mosaic virus (SMV) en Colombia, han sido encontradas en maracuyá y granadilla, y recientemente hemos detectado por primera vez infección en *P. edulis*. Este virus pertenece a la familia *Potyviridae* e infecta principalmente cultivos de soya, en los que causa significantes pérdidas. La utilización de metodologías rápidas y sensibles de detección del SMV en etapas tempranas del cultivo, es crucial para asegurar la producción.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la incidencia de *Soybean mosaic virus* (SMV) en cultivos de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims) del municipio de Cundinamarca y la diversidad genética del SMV en las plantas infectadas procedentes de diferentes sitios de Colombia.

**METODOLOGÍA.** La recolección de muestras en cultivos de gulupa de Cundinamarca se realizó en las regiones de Tibacuy, San Bernardo y Venecia. La detección del SMV se realizó por medio ELISA usando un kit comercial (Agdia). El valor de incidencia de SMV corresponde al número de plantas positivas sobre el número de plantas evaluadas en un cultivo X 100. Las muestras que se encontraron infectadas con SMV fueron procesadas mediante RT-PCR. El estudio de relaciones evolutivas se realizó mediante análisis de secuencias nucleotídicas usando los algoritmos de máxima parsimonia y máxima verosimilitud.

**RESULTADOS.** Los síntomas observados en los frutos de gulupa en los tres cultivos en Cundinamarca, fueron mosaicos y deformaciones en hojas, y anillos cloróticos en frutos. Para el estudio de incidencia se realizó un conteo de plantas con síntomas y positivas en ELISA. Los resultados mostraron plantas infectadas sintomáticas y otras que no expresan síntomas. Los valores de incidencia en Cundinamarca mostraron en Venecia un aumento del 66% en junio hasta el 89% en diciembre de 2010. En Tibacuy también se presentó un aumento de incidencia de 24 % al 68 %. En el cultivo de San Bernardo se encontró una incidencia muy baja; sin embargo, este cultivo es procedente de otro cultivo que se encontraba también en San Bernardo y que fue erradicado por virosis (SMV). El análisis filogenético de las secuencias del gen CI del SMV mostró dos grupos relacionados con origen geográfico e independiente del hospedero. Un grupo lo constituyen aislamientos de Colombia que infectan gulupa, maracuya y soya. Un segundo grupo que infecta soya en Canadá, Corea y Estados Unidos. Secuencias del gen de la proteína de cápside del SMV están en proceso con el fin de confirmar este resultado.

**CONCLUSIONES.** La incidencia del SMV en cultivos de *P. edulis* en Cundinamarca osciló entre el 66% al 89%, a lo largo de los meses junio a diciembre de 2010 y de 24% a 68% en los mismos meses. La diversidad de SMV se relaciona con su distribución geográfica y sería independiente de la planta hospedante.

**PALABRAS CLAVES.** Potyvirus. *Passifloras* sp. Incidencia. Diversidad.

\*Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Contacto: oaliveros@unal.edu.co

## TL76. Evidencia serológica y genética de virus transmitidos por roedores en el Urabá Antioqueño – Colombia

Andrés F. Londoño Barbarán\*, Esteban Arroyave Sierra\*, Víctor H. Quiroz\*, Piedad Agudelo-Flórez†, Francisco J. Díaz Castrillón‡, Silvana Levis§, Juan D. Rodas González\*

**INTRODUCCIÓN.** En los últimos 30 años, se han identificado más de 30 agentes etiológicos nuevos, que causan enfermedades infecciosas en los humanos. Algunas de estas enfermedades están asociadas a roedores que actúan como reservorios de agentes infecciosos llamados Robovirus (del inglés rodent-borne viruses). Entre estos agentes se encuentran dos géneros de virus RNA de polaridad negativa, *Arenavirus* y *Hantavirus*, ambos de distribución mundial y causantes de fiebres hemorrágicas (con o sin trastornos neurológicos) y síndrome pulmonar (SPH) o fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR), respectivamente.

**OBJETIVO GENERAL.** Buscar evidencias serológica y genética de arenavirus y hantavirus en roedores capturados en el Urabá antioqueño, Colombia.

**METODOLOGÍA.** Entre Agosto del 2007 y Agosto del 2008 se capturaron 354 roedores en los municipios de Apartadó, Turbo y Necoclí, clasificados así: murinos 219, sigmodontinos 109, echimidos 22 y heteromydos 4. A todos los roedores de les tomó una muestras de suero sanguíneo y de tejidos (bazo, hígado, riñón y pulmón), las cuales fueron transportadas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80 ° C hasta su procesamiento. Las muestras fueron probadas por ELISA para la búsqueda de anticuerpos IgG y RT-PCR para la búsqueda de secuencias virales.

**RESULTADOS.** De los roedores capturados el 4,2 % fueron seropositivos a las pruebas ELISA para hantavirus, estos resultados fueron corroborados utilizando dos pruebas diferentes, una con antígeno (Ag) del hantavirus Norteamericano Sin Nombre y otra con Ag del hantavirus Suramericanos Maciel. Todos los roedores seropositivos pertenecían a la especie *Zygodontomys cherriei* (ratas de caña Cherrie). En 11 de los 15 roedores seropositivos se encontraron secuencias de hantavirus a partir de tejido pulmonar, por medio de la prueba RT-PCR. Dichas secuencias fueron analizadas filogenéticamente, mostrando el mayor porcentaje de identidad con el hantavirus panameño Calabazo. Por otro lado, tanto las pruebas serológicas para los arenavirus (una con Ag del virus Junin, JUNV, y otra con Ag del virus de la Coriomeningitis Linfocítica, LCMV) como las pruebas moleculares (RT-PCR con cebadores genéricos), fueron negativas.

**CONCLUSIONES.** Mattar y cols en el 2004, demostraron la circulación de hantavirus en personas y Alemán y cols en el 2006, demostraron la circulación en roedores. El trabajo aquí presente, es el primer reporte genético de hantavirus en roedores de Colombia y suscita interés en la caracterización del agente detectado y su posible implicación en la salud pública humana. Hasta la fecha, ni este ni otros estudios en Colombia han podido relacionar la circulación de hantavirus con la presentación clínica en humanos. En el año 1971 Trapido y Sanmartín utilizando la técnica de aislamiento viral, demostraron, por primera vez, la presencia de un arenavirus en Colombia, el Virus Pichindé (PICHV) en roedores capturados en el Valle del Cauca. A pesar de que todos los roedores probados en el presente estudio fueron negativos, este mismo año, Mattar y cols, demostraron nuevamente la circulación de arenavirus usando Ag de PICHV y Guanarito (GTOV) en *Zygodontomys* capturados en el departamento de Córdoba (bajos títulos por serología). La anterior discrepancia podría ser explicada por una baja reactividad en los reservorios naturales de la infección y una pobre detección usando antígenos de otras latitudes (JUNV).

**PALABRAS CLAVES.** Zoonosis. Enfermedades emergentes. Hantavirus. Arenavirus.

\*Grupo Centauro, Universidad de Antioquia. †Instituto Colombiano de Medicina Tropical – Universidad CES. ‡Grupo de Inmunología, Universidad de Antioquia. §Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui, Pergamino - Argentina. Contacto: pipell@gmail.com

## TL77. Detección de virus entéricos en muestras de agua para consumo humano procedentes de brotes de Enfermedad Diarreica Aguda y Hepatitis A en Colombia, 2008 – 2011

Johanna Alexandra Rodríguez\*, Dioselina Peláez\*, Mario Ardila\*, Lucía Rocha\*, Jairo Andrés Méndez\*

**INTRODUCCIÓN.** El agua de consumo humano contaminada, ha sido uno de los principales vehículos de transmisión de virus entéricos y otros patógenos de origen fecal causando brotes de enfermedad diarreica aguda (EDA), enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), hepatitis A, meningitis aséptica, entre otras, alrededor del mundo. En Colombia son escasos los datos sobre prevalencia y transmisión de virus entéricos en agua para consumo humano asociados a estas patologías. Los virus entéricos pertenecen a una diversidad de familias, pero con algunas características comunes entre ellos. La mayoría de ellos posee un genoma de ARN, son virus desnudos (excepto Adenovirus) que carecen de cubierta lipídica, con estructura icosaédrica y con un tamaño que oscila entre los 20 y 80 nm. A diferencia de las bacterias, los virus no se replican en el agua ni en los alimentos, y generalmente se encuentran en bajas concentraciones que no aseguran la salubridad o calidad microbiológica del agua o del alimento, ya que se suponen dosis infectivas muy bajas del orden de 100 a 102 unidades infecciosas, lo cual incrementa el riesgo para la salud pública y dificulta el uso, y desarrollo de los métodos analíticos.

**OBJETIVO GENERAL.** Identificar virus entéricos como rotavirus, enterovirus, virus de hepatitis A, Norovirus y adenovirus en muestras de agua procedentes de algunos de los municipios que notificaron al SIVIGILA brotes de EDA, ETA y Hepatitis A en Colombia, 2008 – 2011.

**METODOLOGÍA.** Se analizaron muestras de agua de consumo humano que llegaron al Grupo de virología del INS entre enero 1 de 2008 a julio 31 de 2011. La concentración viral se llevó a cabo por filtración y ultrafiltración tangencial según metodología descrita previamente. Para la detección e identificación se realizó RT-PCR convencional para rotavirus, enterovirus no-polio y virus de hepatitis A, RT-PCR en tiempo real para norovirus, PCR para adenovirus y aislamiento viral en células para enterovirus.

**RESULTADOS.** 38/85 muestras procesadas fueron positivas para uno o más virus entéricos analizados. 29% de las muestras positivas presento más de un agente, detectándose 52 virus en total. El agente más frecuentemente detectado durante el 2008, 2009 y parte de 2010 fue adenovirus, seguido por rotavirus, virus de hepatitis A y enterovirus. A partir de octubre de 2010 a julio de 2011 el agente más detectado fue virus de hepatitis A. En total el 44,7 % de las muestras analizadas fue positivo en los 4 años de trabajo pero el 60% durante la ola invernal 2010-2011. 46% de las muestras procesadas correspondió a aguas con procesos de potabilización, por tanto su detección puede ser un indicador de la calidad de los procesos de purificación que realizan los acueductos.

**PALABRAS CLAVES.** Agua de consumo humano. Enfermedad diarreica aguda. Hepatitis A. Virus entéricos. RT-PCR.

\*Grupo de virología, Instituto Nacional de Salud. Contacto: dpelaez@ins.gov.co

## TL78. Seroprevalencia a Hantavirus (Bunyaviridae: *Hantavirus*) en roedores del Municipio de San Marcos, Departamento de Sucre

Steven F. Arroyo Mejía\*, Marco F. Guevara Vega†, Anais Castellar Martínez‡, Pedro J. Blanco Tuirán‡, Homer Corrales Aldana§, Julia Pérez Jiménez§, Lercy María Álvarez§

**INTRODUCCIÓN.** Los hantavirus, asociados a roedores de la subfamilia Sigmodontinae, son patógenos emergentes que causan una zoonosis denominada síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH) en las Américas. En Colombia, la presencia de la enfermedad aún no ha sido clínicamente diagnosticada. Sin embargo, estudios reportan un 13,5% de seropositividad en agricultores 18 de Córdoba y Sucre (San Marcos) y 2,1% en roedores del departamento de Córdoba. El departamento de Sucre presenta condiciones geoclimáticas similares a las de Córdoba y evidencia serológica de infección humana por hantavirus. Sin embargo, se desconocen las especies de roedores que podrían albergar el virus y estar asociados a su transmisión.

**OBJETIVO GENERAL.** Determinar la seroprevalencia contra hantavirus en roedores urbanos y silvestres del municipio de San Marcos, Sucre.

**METODOLOGÍA.** Se utilizaron trampas de encierro Sherman para la captura viva de roedores. Las trampas fueron colocadas antes del anochecer y los roedores se colectaron a la mañana siguiente. Cada animal fue anestesiado con isofluorano y sacrificado por dislocación cervical. Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción cardíaca usando jeringas tratadas con anticoagulante (EDTA), luego las muestras fueron centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos. El plasma obtenido se transfirió a un nuevo vial y fue conservado a -20°C hasta la realización de la prueba serológica que consistió en un ELISA indirecto utilizando el antígeno recombinante de la nucleocápside del virus sin nombre. La determinación taxonómica de cada individuo se realizó utilizando la piel, el cráneo y los parámetros morfométricos.

**RESULTADOS.** Determinación taxonómica de roedores. Los 144 individuos identificados se distribuyeron en 4 familias, 4 subfamilias y 8 especies. La familia con el mayor número de individuos capturados fue Muridae (56,2%), la cual estuvo representada por 60 individuos de *Mus musculus* y 21 de *Rattus Rattus*. Aunque Cricetidae fue la familia con más especies identificadas, con un porcentaje de captura de 41,7%: 44 ejemplares pertenecientes a *Zygodontomys brevicauda*, 10 a *Sigmodon hispidus*, 4 a *Oligoryzomys fulvescens* y 2 a *Neacomys spinosus*. La menor abundancia de roedores se encontró en las familias Echimyidae (1,4%) y Heteromyidae (0,7%), ambas conformadas solo por una especie: 2 individuos de *Proechimys* sp. y 1 de *Heteromys anomalus*, respectivamente. Prevalencia de anticuerpos contra hantavirus. De las 144 muestras de plasma de roedores analizadas, 12 resultaron con serología positiva para el antígeno de la nucleocápside del virus sin nombre. Por lo tanto, la prevalencia de anticuerpos específicos contra hantavirus en el total de roedores capturados fue del 8,4%. Los porcentajes de seropositividad general oscilaron entre el 2,8% (4/144) para *Mus musculus* y el 0,7% (1/144) para cada una de las especies *Oligoryzomys fulvescens* y *Neacomys spinosus*. Sin embargo, los valores de seropositividad específicos por especie variaron entre el 6,8% (3/44) para *Zygodontomys brevicauda* y el 50% (1/2) para *Neacomys spinosus*.

**CONCLUSIONES.** Esta investigación representa el primer aporte encaminado a estudiar la circulación de hantavirus en las comunidades de roedores en el departamento de Sucre y el segundo en el Caribe colombiano. Por lo tanto, es fundamental para el conocimiento de la ecoepidemiología de los hantavirus en Colombia y por consiguiente para el diseño de las estrategias de control ante la aparición de eventuales brotes.

**PALABRAS CLAVES.** Hantavirus. Seroprevalencia. San Marcos.

\*Joven investigador de la Universidad de Sucre. †Estudiante de la Universidad de Sucre. ‡Docente de la Universidad de Sucre. §Biólogo. Contacto: anaiscastellar@gmail.com



## TL79. Estandarización de la técnica de hibridación con sondas de RNA viral marcado con digoxigenina para el diagnóstico de virus de plantas

Sandra Lorena Carmona Gutierrez\*, Lady Julieth Gómez Duque\*, Cristian David Zuleta Zuluaga\*, Mónica Betancourt Vásquez†

Uno de los métodos principales para el diagnóstico de virus de plantas es la técnica de ELISA (*Enzyme linked immunosorbent Assay*), la cual se basa en el reconocimiento de epítopes específicos de la proteína de la cápsida del virus. A pesar de la popularidad de esta técnica, en muchos casos puede resultar inespecífica por la baja concentración en las plantas o por la alta variabilidad de las poblaciones de virus, por esta razón otras técnicas basadas en biología molecular representan una buena oportunidad para el diagnóstico de virus. En este trabajo se desarrollaron sondas de RNA viral marcadas con digoxigenina para la detección de cuatro virus de importancia económica: el virus del mosaico del pepino (*cucumovirus* – CMV), el virus del rayado del banano (*badnavirus* – BSV), el virus del mosaico de la soya, cepa pasiflora (*potyvirus*, SMV) y el virus del mosaico amarillo del maracuyá (*Tymovirus*, PFYMV). Las sondas mostraron mayor sensibilidad para la detección de virus que las pruebas de ELISA, además se comprobó su eficacia para detección a partir de impresiones de tejido – tissue print. Con esta técnica se determinaron los niveles de incidencia para CMV y BSV en cultivos de plátano de la zona cafetera central (Risaralda, Caldas, Quindío) y de SMV-PF y PFYMV en cultivos de maracuyá y granadilla en los departamentos de Caldas, Valle de Cauca y Risaralda. A partir de muestras positivas en hibridación se hicieron amplificaciones de regiones específicas de cada virus para caracterizar genéticamente sus poblaciones. Para caracterizar genéticamente CMV se amplificó un fragmento de 862 pb comprendido entre los nucleótidos 1998 a 2013 del aislado CMV-Q, localizados en proteína de la cápsida y BSV se caracterizó a partir de un fragmento de 544 pb correspondientes a la región de la reversa transcriptasa (región RNase H), dentro del marco de lectura abierta III. Para el caso de las pasifloras la caracterización de SMV se hizo amplificando una región de 500 pb que comprende un fragmento de la gran proteína de inclusión nuclear (NIb; replicasa) y la proteína de cápsida (CP); PFYMV se caracterizó a partir de un fragmento de 490 pb localizados en el marco de lectura abierta, ORF III. En los cultivos de plátano se observó una incidencia de entre el 20% al 40% de infecciones mixtas entre CMV y BSV, además se observó una mayor incidencia en cultivos jóvenes (10 y 14 meses después de la siembra) y en sistemas de producción tipo monocultivo, que en cultivos asociados. La caracterización genética de ambos virus indica que no existe agrupación de los aislados de virus ni por regiones, ni por tipo de cultivo. En pasifloras se registró específicamente en cultivos de maracuyá una incidencia del 30% al 100% para SMV y del 20 al 70% para PFYMV. También se observó presencia de infecciones mixtas entre SMV y PFYMV en niveles de incidencia del 70%, lo que posiblemente está correlacionado con una sintomatología más severa de la infección viral. Los análisis genéticos evidencian una clara estructura de las poblaciones de SMV y PFYMV por regiones.

\*Estudiantes semillero de investigación en Evolución de patógenos, Universidad Santa Rosa de Cabal, UNISARC, Colombia. †Profesora titular Fitopatología, Universidad Santa Rosa de Cabal, UNISARC, Colombia. Contacto: dcagricolas@unisarc.edu.co

## TL80. Movimiento a corta distancia de las cadenas genómicas negativas del virus del mosaico de la caña de azúcar en plantas hospedante y no hospedante

Giovanni Chaves-Bedoya \*†, Fulgencio Espejel†, Ricardo Alcála Briceño†, Juan Hernández Vela†, Laura Silva†

**INTRODUCCIÓN.** Se ha descrito que la resistencia a SCMV en maíz es de carácter dominante y está asociada a los genes *Scmv1* y *Scmv2* y los diferentes niveles de resistencia dependen de las interacciones con el ambiente (1). Un segundo tipo de resistencia al virus es de tipo recesiva y depende de mutaciones en los genes *eIF4e* y *yeIF(iso)* (Díaz-Pendonet et al., 2004; Robaglia and Caranta, 2006), este tipo de resistencia se puede deber a un defecto en la replicación viral a nivel celular, un defecto en el movimiento célula a célula, o ambas. Sin embargo, no siempre es posible diferenciar entre la resistencia que afecta la replicación viral y acumulación a nivel celular o movimiento sistémico.

**OBJETIVO GENERAL.** Obtener un entendimiento inicial y preliminar de la resistencia del hospedero y no hospedero en los pasos iniciales de la replicación potyviral.

**METODOLOGÍA.** El aislamiento SCMV-VER1 (Accession no. EU091075) se obtuvo en Poza Rica, Veracruz. El aislamiento viral SCMV-CAM6-1 de Cameroon fue usado como aislamiento de referencia. El germoplasma de maíz empleado fue la línea susceptible CIMMYT (SL1) y DAS (SL2) y la línea resistente CIMMYT (RL1). La inoculación mecánica se realizó en la tercera hoja de plantas con cuatro hojas de crecimiento. El inóculo viral se preparó macerando aproximadamente 100 mg de hoja joven infectada en 1 mL de buffer de inoculación. La inoculación mecánica se hizo empleando carborundum como abrasivo. Las muestras vegetales se tomaron a diferentes días postinoculación de diferentes partes de la hoja con respecto al punto de inoculación. La detección viral se realizó por medio de ELISAS y RT-PCR. Los primers se emplearon para amplificar la CP o HC-Pro. El análisis de proteínas de la banda del tamaño esperado obtenida del gel SDS-PAGE se analizó por espectrometría de masas. Las partículas virales de SCMV se visualizaron por TEM.

**RESULTADOS.** Las plantas de maíz susceptibles permiten la replicación viral, el movimiento célula a célula y el movimiento a larga distancia. En plantas de maíz resistentes para SCMV-VER1, el virus establece la enfermedad en los pasos iniciales de la replicación viral. Las plantas de caña de azúcar, no hospedantes para el aislamiento SCMV-VER1, y la planta hospedante caña de azúcar para el aislamiento SCMV-CAM6, también permiten los pasos iniciales de la replicación viral para el aislamiento VER1 en la hoja inoculada.

**CONCLUSIONES.** Las plantas resistentes y las plantas no hospederas permiten los pasos iniciales de la replicación de SCMV. Mas aun, ambos tipos de hospederos permiten el movimiento local de las cadenas negativas virales, pero no su movimiento sistémico a través del tallo. La presencia de grandes cantidades de viriones en el tallo sugiere su movimiento como partículas ensambladas.

**PALABRAS CLAVES.** Resistencia viral. Movimiento viral. SCMV.

\*Laboratorio de Interacciones Planta-virus, Departamento de ingeniería genética, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV Tlapacotal, México. †Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia. Contacto: gchavesb@unal.edu.co



The background of the slide is a grayscale microscopic image showing a dense field of cells, likely yeast or similar microorganisms, with distinct cell walls and internal structures. On the left side, there is a large, light blue decorative shape that curves from the top to the bottom of the page. The text 'Conferencias magistrales' is centered in the middle of the slide in a bold, dark blue font.

# **Conferencias magistrales**

## CM01. Vaccines for the Global Control and Eradication of Foot-and-Mouth Disease

Luis L. Rodriguez\*

Foot and mouth disease (FMD) is one of the most economically and socially devastating diseases affecting animal agriculture throughout the world. The main causes of economic devastation are loss of productivity and trade sanctions associated to the presence of FMD. The causing virus (FMDV) is a highly variable RNA virus occurring in seven serotypes (A, O, C, Asia 1, Sat 1, Sat 2 and Sat 3) some of which comprise a large number of subtypes. FMDV is one of the most infectious agents known, affecting cloven-hoofed animals with significant variations in infectivity and virus transmission. Although killed antigen FMD vaccines have been available for decades, there is little to no cross protection across serotypes and subtypes requiring the appropriate matching between vaccine and circulating field strains to achieve protection. Existing vaccines require growth of live-virulent virus for production posing a threat of escape, have limited shelf life and easily degrade without refrigeration and the immunity they induced in short lived requiring semi-annual vaccinations to maintain appropriate levels of protection. Despite these vaccines short comings, their use has been the basis for eradicating FMDV from Europe and controlling the disease in many parts of the world through mass vaccination campaigns, albeit at a very high cost. Despite these control efforts, FMDV thrives in endemic regions with significant impact on millions of people dependent on livestock for food and their livelihood. Usually associated with economically poor countries that lack the resources to control FMD or have social, animal or public health problems of higher priority, FMD is a global problem. One of the main limitations to global FMDV eradication is the unavailability of vaccines that are designed for the purpose of eradication. Vaccines that are inexpensive to produce, easy to deliver and induce lifelong immunity against multiple serotypes and subtypes. Also there is need for better integrated strategies that fit the specific needs of endemic regions. Only when these critical components are available will the global eradication of FMDV be possible.

\*United States Department of Agriculture, Foreign Animal Disease Research Unit, Estados Unidos de America.

## CM02. Dengue virus and host interactions: Contributions to the study of pathogenesis

Guilherme F. Silveira\*, Florencia Meyer\*, Adriana Delfraro\*†, Ana Luiza P. Mosimann\*, Norma Coluchi‡, Cyntia Vasquez‡, Christian M. Probst§, André Báfica||, Juliano Bordignon\*, Claudia N. Duarte dos Santos\*

Hantavirus pulmonary syndrome (HPS) is an emerging health problem in North and South America. The symptoms of hantavirus pulmonary syndrome (HPS) may resemble those of other febrile illnesses and since the illness progresses quickly, requiring hospitalization, an accurate diagnostic helps to improve clinical prognosis and are useful in epidemiological studies. Recently we characterized the Araucaria hantavirus (ARAUV) from HPS patients from Paraná, in southern Brazil, and developed diagnostic kits for detecting IgM and IgG antibodies using the recombinant antigen (rNΔ85) based on the S-segment of this hantavirus. To identify the rodent species acting as host to ARAUV, we sampled rodents in Paraná and searched for the presence of ARAUV-like RNA in seropositive rodents. ARAUV RNA has been detected in distantly related rodent species: *Oligoryzomys nigripes*, *Oxymycterus judex*, *Akodon montensis* and *A. paranaensis*. Further, a specimen of *A. montensis* was infected with a Jaborá-like virus, implying that *A. montensis* can be infected by at least two different hantaviruses. The presence of the same hantavirus strain in four different rodent species, and the co-circulation of two different strains in the same rodent species highlights the potential for genomic reassortment, which could have an impact on hantavirus transmission dynamics in nature, and human epidemiology. Additionally, hantavirus seroprevalence in human populations living in areas without reported HCPS cases emphasizes the importance of health professional training to identify symptoms of the disease and should serve as a warning to the population to avoid high-risk behavior to prevent exposure to this pathogen.

\*Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ, Curitiba, PR, Brazil; †Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ‡Instituto de Previsión Social, Asunción, Paraguay; §Laboratório de Genômica Funcional, Instituto Carlos Chagas, FIOCRUZ, Curitiba, PR, Brazil; ||Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil. Contacto: csantos@fio cruz.br | jbordig@tespar.br

### CM03. DNA methylation of hepatitis B virus genome associated with the development of hepatocellular carcinoma and occult HBV infection

Isabelle Chemin\*

Hepatitis B virus (HBV) infection is a major risk factor for developing Hepatocellular carcinoma (HCC). HBV-associated HCC in humans generally unfolds over many years of chronic infection with HBV, however the reasons for the large time gap between HBV infection and onset of HCC and the exact molecular mechanisms by which HBV triggers hepatocarcinogenesis are largely unknown. Mutations of critical cellular genes, the presence of viral protein HBx with transforming activities, acute inflammation and aberrant epigenetic alterations in the host cellular genome have been proposed as possible mechanisms resulting in the development and progression of HCC associated with HBV infection. Because DNA methylation is a common cellular defense mechanism known to silence invading foreign DNA and viral genomes, recent studies tried to investigate if HBV DNA is also methylated by host cellular defense mechanism. 3.2kb of partially double-stranded circular HBV genome, encoding four major open-reading frames, was found to contain three CpG rich regions, spanning ATG start site for surface antigen gene (island-I), enhancer 1 with X-protein gene promoter (island-II), and ATG start site of polymerase gene (island-III). Interestingly, some of the CpG-sites in CpG island I and III were found methylated in different HBV-infected HCC patients and hepatocyte samples, when checked for both the integrated or unintegrated HBV genomes. It was argued that hypermethylation or histone modifications may silence surface antigen genes resulting in occult HBV cases, wherein HCC patients test negative for hepatitis B surface antigen (HBsAg), although their liver remains infected with HBV. DNA methylation analysis of a limited number of occult HBV cases revealed the presence of DNA methylation, although the exact impact of the observed methylation on the function of HBV genome and occult infection remains unknown. Interestingly, Hantz et. al. found that hepatocytes artificially infected with HBV exhibit a sharp decline in the production of viral proteins and DNA from the 12th day post-infection. However, it remains unclear whether the cellular machinery uses DNA methylation to silence HBV genome in self-defense or if HBV genome takes advantage of the cellular DNA methylation to cloak itself from immune detection. To gain a better understanding of epigenetic regulation of the HBV genome in infected liver cells, we carefully investigated methylation profiles of HBV DNA in liver samples of different stages of HCC development and in *in vitro* infected human hepatocytes and found discrete CpG sites in the HBV genome that are recurrently hypermethylated in cancer and not in chronic hepatitis tissue.

\*INSERM U1052, 151 Cours A Thomas, Lyon, Francia.

### CM04. Viruses, a World of Unexpected Features

Anne-Lise HAENNI\*

Ever since the end of the 19th century when viruses were first recognized as infectious agents, the study of these obligate parasites have brought to light numerous features and mechanisms that have been of paramount importance in helping us appreciate the ingenuity of viruses, as also the diversity of the world of living organisms at large. This brief overview will cover three aspects concerning viruses. First, some of the strategies used by viruses for their amplification will be outlined. This will highlight how viruses have been forerunners in helping us understand numerous mechanisms that were first described in viruses and thereafter also in cells. Indeed, to compete with the host cell, viruses have evolved a number of strategies that allow them to divert the cell machinery for their own benefit. The second aspect will deal with an unexpected discovery made some ten years ago, namely the existence of giant viruses isolated from amoebae, and now grouped in the Mimiviridae family. Mimiviruses as they are commonly designated, are larger than the smallest bacterium identified. Their genome is composed of a single double-stranded DNA of over one million base pairs with over 1200 putative open reading frames. Many of the proteins encoded by these open reading frames are similar to proteins of known functions, such as proteins involved in DNA repair and in polysaccharide synthesis, and others that are central to protein synthesis. Furthermore, the unexpected discovery of a small virus designated virophage or Sputnik that acts as parasite of the mimivirus hindering the development of its host virus, has brought a new dimension to these unexpected results.

The third aspect concerns the fact that viruses do not only exert a negative or a neutral effect on their host and/or vector. In certain circumstances, their presence can be beneficial for the cell they infect. For instance, the presence of certain RNA viruses can increase drought tolerance when present in host plants subjected to drought stress. Likewise, certain biotypes of whitefly that serve as vectors for single-stranded DNA viruses, gain in performance - i. e., increased longevity and fecundity - when infected by these viruses.

These examples suggest that viruses have certainly not yet revealed all their secrets, and that other surprises are most likely in store for us.

\*Institut Jacques Monod, CNRS and Université Paris 7 - Diderot, 5 rue Hélène Brion, 75205 Paris Cedex 13, France. Contacto: haenni.anne-lise@ijm.univ-paris-diderot.fr



## CM05. Vigilancia Centinela de virus influenza y otros virus respiratorios en Centroamérica y Suramérica

Alberto Laguna\*

Desde el año 2006 el Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales (US NAMRU-6) ha venido participando en un sistema de vigilancia centinela para influenza y otros virus Respiratorios en el Perú y otros países de Centro y Suramérica para dar apoyo en la descripción de los virus circulantes en diferentes aéreas. En sedes de Nicaragua, El Salvador, Honduras, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Argentina y Paraguay se establecieron acuerdos colaborativos con Ministerios de Salud, Universidades y Organismos No Gubernamentales a fin de obtener muestras de pacientes febriles y con síntomas respiratorios por medio de hisopado faríngeo. Cada sede estaba bajo la coordinación de un medico local y contaba con la aprobación del Comité de Ética local y del NAMRU-6. Las muestras obtenidas se congelaban a -70 °C y luego eran enviadas a Lima (Perú) para ser cultivadas para la identificación de influenza, parainfluenza, virus respiratorio sincitial, adenovirus y metaneumovirus. Los resultados eran reportados mensualmente a cada coordinador. Se aplicaba una prueba rápida que detectaba por colorimetría la presencia o no del virus de la influenza A o B. Esto daba un beneficio directo al participante puesto que permitía evitar el uso indebido de antibióticos y la posibilidad de evitar la diseminación viral brindando descanso medico al infectado de influenza. Asimismo se hacia una evaluación molecular de las cepas encontradas a fin de definir y analizar la cepa circulante y su correlación con la cepa vacunal de influenza utilizada en el año y hemisferio correspondiente. Encontramos circulación de influenza en todas las sedes con una tendencia a la estacionalidad especialmente en la sierra sur del Perú, coincidente con la época de mayor frio. En varios países se ha descrito virus de los cuales no se tenía documentación previa como metaneupneumovirus en Medellín, Colombia en paciente pediátricos. En los pacientes pediátricos menores de 4 años se confirmo que hay mayor circulación de adenovirus y virus respiratorio sincitial que en los mayores. Durante la pandemia del nuevo virus Influenza A H1N1 se dio soporte a muchas sedes participantes y se determinó que la cepa circulante en Centro y Sudamérica era la misma y que no había mutaciones, resistencia al tratamiento con oseltamivir, o ambos. Se ha encontrado una gama de coinfecciones del virus de influenza con adenovirus, con virus respiratorio sincitial y parainfluenza.

\*Naval Medical Research, Lima, Perú.

## CM06. Hantavirus: Molecular characterization, phylogenetic studies and development of reagents for the detection and prevention of Hantavirus Pulmonary Syndrome (HPS)

Claudia Nunes Duarte dos Santos\*

Hantavirus pulmonary syndrome (HPS) is an emerging health problem in North and South America. The symptoms of hantavirus pulmonary syndrome (HPS) may resemble those of other febrile illnesses and since the illness progresses quickly, requiring hospitalization, an accurate diagnostic helps to improve clinical prognosis and are useful in epidemiological studies. Recently we characterized the Araucaria hantavirus (ARAUV) from HPS patients from Paraná, in southern Brazil, and developed diagnostic kits for detecting IgM and IgG antibodies using the recombinant antigen (rNΔ85) based on the S-segment of this hantavirus. To identify the rodent species acting as host to ARAUV, we sampled rodents in Paraná and searched for the presence of ARAUV-like RNA in seropositive rodents. ARAUV RNA has been detected in distantly related rodent species: *Oligoryzomys nigripes*, *Oxymycterus judex*, *Akodon montensis* and *A. paranaensis*. Further, a specimen of *A. montensis* was infected with a Jaborá-like virus, implying that *A. montensis* can be infected by at least two different hantaviruses. The presence of the same hantavirus strain in four different rodent species, and the co-circulation of two different strains in the same rodent species highlights the potential for genomic reassortment, which could have an impact on hantavirus transmission dynamics in nature, and human epidemiology. Additionally, hantavirus seroprevalence in human populations living in areas without reported HCPS cases emphasizes the importance of health professional training to identify symptoms of the disease and should serve as a warning to the population to avoid high-risk behavior to prevent exposure to this pathogen.

\*Instituto Carlos Chagas, Fiocruz, Brasil.