



# Trabajos libres -Presentaciones en póster-

**PCL-07. Frecuencias alélicas del antígeno leucocitario humano clase I en cáncer de cuello uterino**

Jehidys E. Montiel-Ramos\*, Armando Baena-Zapata\*†, Viviana Escarpetta-Muñoz\*, César J. López-Pinto\*, Víctor Flórez-García\*, Víctor A. Vanegas-Posada\*, Catalina Martínez-Jaramillo\*, Yexania Y. Arboleda-Moreno\*, Astrid Milena-Bedoya\*, Ruth E. Arboleda-Pulgarín\*, Santiago Martínez-Jaramillo\*, Gloria Pinto-de-López\*, Carlos M. Córdoba\*, Mauricio Borrero-Franco\*, Cristiam M. Álvarez‡, Gloria I. Sánchez-Vásquez\*

**INTRODUCCIÓN**

El cáncer de cuello uterino (CCU) es el segundo cáncer más frecuente en mujeres en todo el mundo. La infección persistente por los genotipos oncogénicos del Virus del Papiloma Humano (VPH) es la causa necesaria para el desarrollo del CCU.

A pesar de la presencia de la infección asintomática del VPH en el 5% a 50% de las mujeres en edad reproductiva, solo una pequeña fracción de mujeres infectadas desarrolla CCU. Esto sugiere la existencia de otros cofactores que median el riesgo de la infección persistente o progresión a cáncer. Se postula que el antígeno leucocitario humano clase I (HLA-I) puede actuar como un cofactor, ya que media la presentación de antígenos del VPH al sistema inmune y puede proteger o predisponer al desarrollo de neoplasia cervical asociada al VPH. Células T CD8+ tienen un papel fundamental en la eliminación de células tumorales e infectadas por los virus y estos se activan mediante complejos HLA-I-péptidos expuestos en la superficie de las células presentadoras del antígeno. Muchas investigaciones se han enfocado en evaluar la asociación entre polimorfismos de HLA con el riesgo o protección para el desarrollo de CCU. Actualmente se desconoce si la frecuencia de alelos de HLA-I en mujeres con CCU de Colombia es diferente a la frecuencia reportada en la población general.

**OBJETIVO GENERAL**

Determinar si hay diferencia entre las frecuencias alélicas de HLA-I en mujeres con y sin CCU.

**METODOLOGÍA**

Se evaluaron 102 casos (con diagnóstico histológico de CCU) y 102 controles, se tomó muestra de sangre periférica a casos y controles para la tipificación del HLA-A y HLA-B por medio de una técnica de tipificación de HLA de baja resolución. Se hizo la prueba exacta de Fisher para determinar si había diferencias entre las frecuencias alélicas entre casos y controles.

**RESULTADOS**

Las frecuencias alélicas encontradas en los controles fueron similares a las descritas previamente por Rodríguez et al., en el 2007. En los casos, los alelos más frecuentes en el locus HLA-A fueron el A\*24 (25,5%), A\*02 (19,5%), seguidos por A\*30, A\*68, A\*01 y A\*03 con frecuencias mayores al 5%. En el locus HLA-B los más frecuentes fueron B\*35 (18,5%), B\*44 (13%), B\*40 (11,4%) y los alelos B\*51, B\*07, B\*15 y B\*18 con frecuencias superiores al 5%. Las frecuencias alélicas sólo fueron significativamente diferentes entre casos y controles para HLA B\*35, B\*51, B\*44 y B\*40 ( $p=0,0499$ ).

**CONCLUSIONES**

Al parecer, la expresión de HLA B\*35, B\*51, B\*44 y B\*40 se encuentra asociada al desarrollo de cáncer de cuello uterino. Las frecuencias alélicas encontrada en casos y controles serán de gran utilidad para la comprensión de los mecanismos asociados a susceptibilidad o resistencia al CCU y para la identificación de marcadores moleculares pronósticos.

**PALABRAS CLAVES**

Cáncer. Cuello uterino. Frecuencias alélicas. HLA-I.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. †Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. ‡Grupo Inmunología celular e inmunogenética, Universidad de Antioquia. Contacto: Jehidys Montiel, [jeyito126@gmail.com](mailto:jeyito126@gmail.com)

**PCL-10. Reproducibilidad en la lectura de placas citológicas en cuatro centros especializados de Medellín**

Jorge E. Salazar-Flórez\*, Armando Baena-Zapata\*†, Gloria I. Sánchez-Vásquez\*

**INTRODUCCIÓN**

Durante los últimos 40 años, la implementación de programas de tamización con la prueba de Papanicolaou (Pap) o citología ha logrado disminuir significativamente las tasas de incidencia de cáncer cervical en países desarrollados. En contraste, a pesar de lograrse alta cobertura de la citología en Colombia, aún existen regiones que presentan tasas de incidencia y mortalidad muy altas. Factores tales como baja cobertura, baja sensibilidad y reproducibilidad de la prueba, dificultades en el acceso oportuno a diagnóstico y tratamiento de mujeres con resultados positivos, pueden ser también causa de esta falta de éxito. Homogeneidad de la lectura de la prueba de la citología y estandarización de criterios unificados y ampliamente difundidos, pueden mejorar el desempeño de la prueba y el impacto de los programas de tamización.

**OBJETIVO GENERAL**

El objetivo de este estudio fue evaluar el grado de reproducibilidad en la lectura de placas de citología cervico vaginal entre cuatro centros de lectura especializados de la ciudad de Medellín.

**METODOLOGÍA**

Ciento ochenta y una placas de citología cervico vaginal provenientes de un estudio poblacional de prevalencia de Papilomavirus realizado en el municipio de Pueblorrico, Antioquia, se sometieron a lectura en cuatro centros especializados de la ciudad de Medellín. Se le pidió a cada laboratorio que realizara una lectura rutinaria de las placas y se tuvo especial cuidado en mantener el estudio en ciego a través de los centros por medio de recodificación, evitando que se filtrara información entre laboratorios. El índice de reproducibilidad general se calculó mediante la prueba Kappa de Fleiss y la concordancia por medio de la prueba de Kendall.

**RESULTADOS**

Se encontró un índice de Kappa de 0,241 en los resultados de las lecturas de las citologías en los centros. Según la escala de Fleiss, se observó una baja reproducibilidad en la lectura de las placas citológicas entre los cuatro laboratorios involucrados en el estudio. La concordancia general fue moderada, con un coeficiente de Kendall de 0,592. La concordancia por pares de laboratorios presentó índices de Kappa entre 0,54 y 0,40.

**CONCLUSIONES**

Existe una alta variabilidad en la interpretación de los resultados citológicos entre los centros estudiados. Es necesario implementar procesos de entrenamiento y unificación de criterios de lecturas de la citología en nuestro medio.

**PALABRAS CLAVES**

Cáncer cervical. Citología. Incidencia. Reproducibilidad

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: Jorge E. Salazar, [jemilio.s@gmail.com](mailto:jemilio.s@gmail.com)

## PCL-13. Respuesta inmune en niños con desnutrición aguda grave y anemia

Claudia M. Velásquez-Rodríguez\*, Carolina Navarro-Benítez†, Ángel Gonzalez-Marin‡

### INTRODUCCIÓN

La desnutrición, la anemia y las enfermedades infecciosas han coexistido en un círculo vicioso, con alta prevalencia en los países en vía de desarrollo, estas interacciones contribuyen a la morbilidad y mortalidad en niños menores de cinco años; además, se conoce que la desnutrición deteriora la respuesta inmune, especialmente la de tipo celular que se evidencia como una marcada alteración en la producción y en la actividad de mediadores inflamatorios y la proteína C reactiva (PCR), los estudios alrededor del tema son pocos, especialmente en nuestro país, lo que hace evidente la necesidad de estos para entender la capacidad de respuesta inflamatoria de los niños con desnutrición y anemia, y así disminuir la mortalidad y mejorar la sobrevida.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la concentración de la proteína C-reativa (PCR) y citocinas proinflamatorias en niños con desnutrición grave, con y sin anemia.

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de corte transversal, donde se determinaron los niveles de hemoglobina, transferrina, PCR y citocinas proinflamatorias como IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IL-12p70 en un grupo de 40 niños: 10 con marasmo, 10 con kwashiorkor, 10 eutróficos con anemia y 10 eutróficos sin anemia.

### RESULTADOS

La PCR fue significativamente mayor en niños desnutridos que en niños eutróficos. Las concentraciones de las citocinas proinflamatorias fueron más altas en niños con desnutrición tipo kwashiorkor seguidos de eutróficos con anemia, niños marasmáticos y eutróficos sin anemia. La hemoglobina se correlacionó negativamente con los niveles de IL-8 ( $r=-0,409$   $p=0,009$ ), IL-6 ( $r=-0,442$   $p=0,004$ ) e IL-10 ( $r=-0,436$   $p=0,005$ ).

### CONCLUSIONES

Los niños con desnutrición aguda grave pueden desarrollar un adecuado proceso inflamatorio en respuesta a una infección. Adicionalmente, estos resultados sugieren que las citocinas proinflamatorias podrían participar en la patogénesis de la anemia en pacientes con o sin desnutrición.

### PALABRAS CLAVES

Citocinas. Hemoglobina. Kwashiorkor. Marasmo. Proteína C reactiva.

\*Nutricionista Dietista, MSc CBB, Profesora Escuela de Nutrición y Dietética, Grupo de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana. †Estudiante de Microbiología, Grupo de Hemopatología Molecular, Escuela de Microbiología. ‡Bacteriólogo, PhD CBB, Profesor Escuela de Microbiología, Grupo de Hemopatología Molecular, Universidad de Antioquia. Contacto: nabecaro@gmail.com

## PCL-43. Pruebas de valoración fagocítica en neutrófilos

Nini J. Parra-Solórzano\*, Saray Ossa-Coronado\*, Liliana Muñoz-Molina†, Gladys Pinilla-Bermudez‡, Jeannette Navarrete-Ospina‡

### INTRODUCCIÓN

La respuesta inmune innata tiene barreras naturales que permiten la defensa contra agentes agresores. Componentes celulares de esta respuesta inmune, como los polimorfonucleares neutrófilos (PMN), cumplen una función importante, con la función fagocítica, en este mecanismo de defensa. Este proceso incluye varias etapas secuenciales como la quimiotaxis, adhesión, endocitosis y los cambios físicos y bioquímicos intracelulares que capacitan al PMN para endocitar, matar y digerir a los microorganismos. Estos cambios bioquímicos dependen de metabolismos enzimáticos como el sistema NADPH-oxidasa, la mieloperoxidasa, hidrolasas lisosomales, péptidos y proteínas microbicidas, entre otros. Entre las pruebas utilizadas para valorar la función fagocítica de los PMN tenemos: quimiotaxis en cámara de Boyden, prueba de reducción de nitroazul de tetrazolio (NBT), muerte intracelular de *Candida*, quimioluminiscencia, prueba del citocromo C, la eritrofagocitosis, tinción de naranja de acridina, análisis de enzimas, como la fosfatasa alcalina, la mieloperoxidasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. La prueba estándar para valorar la vía metabólica NADPH-oxidasa, en el estallido respiratorio, es el NBT, que permite evidenciar la funcionalidad fagocítica de la célula cuando ésta es capaz de reducir el colorante del NBT a formazan, observándose un producto insoluble de color azul. En la actualidad, el grupo de investigación REMA ha estandarizado una prueba que permite valorar la función fagocítica del neutrófilo mediante la microtécnica de fagocitosis y muerte intracelular de *Cándida*. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio es evaluar la eficiencia de esta microtécnica comparada con la prueba estándar de NBT.

### OBJETIVO GENERAL

Valorar la función fagocítica en adultos sanos a través de las técnicas de nitroazul de tetrazolio (NBT) y la microtécnica de muerte intracelular de *Cándida*.

### METODOLOGÍA

Para el estudio de fagocitosis por medio de NBT y la microtécnica de muerte intracelular de *Cándida*, previo consentimiento informado, se tomarán muestras de sangre de adultos jóvenes sanos de la UCMC, con índice de masa corporal entre 18 y 25, y parámetros hematológicos normales.

### RESULTADOS

La microtécnica de muerte intracelular de *Candida* es altamente eficiente (en un 90%) comparada con la NBT.

### CONCLUSIONES

La microtécnica de muerte intracelular de *Candida* es una técnica confiable para valorar fagocitosis, es rápida, no es dispendiosa, requiere poca cantidad de muestra y es de bajo costo.

### PALABRAS CLAVES

Estallido respiratorio. Fagocitosis. Microtécnica. NBT.

\*Estudiantes VIII semestre del Programa de Bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. †Docente del Programa de Bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. Contacto: Saray Ossa Coronado, sallyotbics@botmail.com

## PCL-48. Evaluación de anemia ferropénica en la primera infancia del Municipio de Sonsón, Antioquia, 2007

Tulia I. Castillo-Salgado\*, Rocío Pérez-Escobar†

### INTRODUCCIÓN

Un trastorno nutricional frecuente en la población infantil es la deficiencia de hierro, la cual representa una de las principales causas de anemia en la primera infancia y un problema de salud pública, tanto en países desarrollados como en países en vía de desarrollo.

Dentro de las causas de anemia por deficiencia de hierro se encuentran: la disminución en el aporte normal de hierro en la dieta, problemas en la absorción o pérdidas excesivas de sangre por diversas vías. Dentro de los grupos afectados están los que tienen mayor demanda de hierro, recién nacidos, mujeres embarazadas y lactantes. La anemia ferropénica se define como una disminución de la concentración de hemoglobina en sangre y de la concentración de hierro en el organismo.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de anemia ferropénica y su asociación con variables como género y edad en la primera infancia del municipio de Sonsón, Antioquia en el año 2007.

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de corte transversal en un grupo de niños de la primera infancia de Sonsón (Antioquia) con edades entre los 0 y 84 meses de edad; además, se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. A cada niño se le tomaron dos muestras una para cuadro hemático y otra para ferritina sérica. Los criterios a tener en cuenta son hemoglobina <11 g/dL y ferritina sérica <12 µg/L.

Los datos obtenidos se presentan como proporciones y medidas de resumen, prueba U de Mann Whitney, prueba de Kruskal Wallis, prueba exacta de Fisher,  $\chi^2$ .

### RESULTADOS

De los 391 niños con edades entre los 0 y 84 meses de edad, el 47,1% (184) correspondió a mujeres y el 52,9% (207) a hombres.

En los niños evaluados se determinó que la prevalencia de anemia fue de 6,6% (26 individuos), de deficiencia de hierro 19,8% (77 individuos) y de anemia ferropénica de 4,4% (17 sujetos), se pudo evidenciar que no hay diferencias estadísticamente significativas según el género con los niveles de hemoglobina y ferritina sérica, pero sí existen diferencias estadísticamente significativas según grupo etario.

### CONCLUSIONES

La prevalencia de anemia ferropénica fue baja para la población infantil del Municipio de Sonsón Antioquia, la edad se consideró un factor crítico, con prevalencia de afectación entre los individuos de dos años de edad. Un aspecto importante para la baja prevalencia de anemia ferropénica fue la pertenencia a un programa de asistencia alimentaria.

### PALABRAS CLAVES

Anemia ferropénica. Ferritina sérica. Hemoglobina. Primera infancia.

\*Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Especialista en Gerencia en Servicios de Salud. Estudiante Especialización en Hematología con Orientación al Banco de Sangre. †Bacterióloga, MSc. en Educación, Especialista en Hematología y Docente Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: Tulia Castillo Salgado, tulitics@gmail.com

## PCL-51. Identificación de deficiencias subclínicas de hierro en deportistas colombianos, a diferentes alturas, mediante el uso del índice receptor soluble de transferrina ferritina

Luz A. Abaúnza-Portela\*, Lina Y. Ballesteros-Muñoz\*, Francy Y. Duque-Rivera\*

### INTRODUCCIÓN

La deficiencia subclínica de hierro es una alteración hematológica importante en el campo deportivo por las consecuencias que genera. Desde los estadios subclínicos se observan manifestaciones clínicas, por lo que se hace relevante la identificación de dichos estadios por medio de la aplicación de pruebas como la ferritina sérica, el receptor soluble de transferrina (sTfR) y el índice receptor soluble transferrina-ferritina (IsTfR-F).

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar, conjuntamente, la ferritina sérica, el receptor soluble de transferrina (sTfR) y, en especial, el índice receptor soluble transferrina-ferritina, involucrándolo directamente en el diagnóstico de estadios subclínicos de deficiencia de hierro y describiendo el comportamiento hematológico que presenta a diferentes alturas: bajas (Cali 995 msnm) e intermedias (Bogotá 2.600 msnm) en una población de deportistas de sexo masculino, sanos y de alto rendimiento.

### METODOLOGÍA

Se estudiaron deficiencias subclínicas de hierro en 43 deportistas colombianos de élite, de sexo masculino, entre 16 y 38 años, y vinculados a INDERVALLE-Cali y a las Fuerzas Militares-Liga de Atletismo de Bogotá. El estudio se realizó en dos etapas: preselección, en donde se socializó el trabajo y se aplicó una encuesta de frecuencia de consumo, y selección, en la que se escogieron las muestras a analizar que, además, cumplían con los criterios de inclusión (valores normales de proteína C reactiva, hemoglobina y hematocrito). Se determinaron ferritina sérica por electroquimioluminiscencia, sTfR por inmunoensayo enzimático (ELISA) e IsTfR-F mediante cálculo matemático.

### RESULTADOS

Los resultados obtenidos del sTfR ( $p=0,025$ ) mostraron diferencias significativas en los deportistas de Cali y Bogotá, presentando mayores valores en Bogotá. Entre los grupos de atletas y otros deportes, la ferritina ( $p=0,673$ ), el sTfR ( $p=0,202$ ) y el IsTfR-F ( $p=0,336$ ) no mostraron diferencias estadísticas. En estos grupos los resultados del IsTfR-F se encontraron aumentados en los atletas, un grupo considerado como susceptible para el padecimiento deficiencias de hierro por su elevado entrenamiento y por la hemólisis intracápsular. Dentro de los hallazgos significativos los atletas, presentaron un 9,09% de deficiencia de hierro tipo II y un 22,73% de anemia de enfermedad crónica más deficiencia de hierro (AEC+DH); el grupo de otros deportes reveló un 19,5% de AEC+DH.

### CONCLUSIONES

Se concluye que el IsTfR-F es un indicador de deficiencias de hierro en fase prelatente y latente, que evalúa el compartimiento funcional y de reserva del hierro. Además, es una prueba que al ser comparada con la biopsia de médula ósea (estándar de oro) es altamente sensible y específica; además, de no ser invasiva, por lo que su implementación generaría beneficios para el deportista.

### PALABRAS CLAVES

Deportistas de alto rendimiento. Deficiencia subclínica de hierro. Índice receptor soluble transferrina-ferritina.

\*Estudiante de Bacteriología de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, semestre X. Contacto: Luz Adriana Abaúnza Portela, adrianita293@hotmail.com

## PCL-57. Comparación de las técnicas turbidimetría y cromatografía de intercambio iónico-espectrofotometría, para la determinación de hemoglobina glucosilada, en pacientes diabéticos

Carol N. Arcila-Franco\*, Juanita Trejos-Suárez†

### INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una de las enfermedades con mayor impacto en el mundo, por lo que a lo largo de la historia han surgido diferentes estudios demostrando la asociación entre el descontrol glucémico y las complicaciones crónicas (microvasculares o macrovasculares). La determinación de la glicación de las proteínas sanguíneas establecida mediante las concentraciones de hemoglobina glucosilada (HbA1c) ha demostrado ser un parámetro objetivo del control glucémico a través de un tiempo determinado; sin embargo, es relevante comparar las técnicas que cuantifican esta fracción, debido a que, basándose en los valores reportados, han surgido cambios importantes en los últimos años, con relación a la estandarización del uso de este parámetro como utilidad clínica para los pacientes con diabetes mellitus.

### OBJETIVO GENERAL

Comparar las técnicas turbidimetría y cromatografía de intercambio iónico-espectrofotometría, para la determinación de hemoglobina glucosilada en pacientes diabéticos.

### METODOLOGÍA

Se realizó la determinación de HbA1c a través de las técnicas de cromatografía de intercambio iónico-espectrofotometría y turbidimetría a 100 muestras provenientes de pacientes ambulatorios del Laboratorio Clínico de Especialidades Bolívar S.A. de Bucaramanga, Santander.

### RESULTADOS

El método de cromatografía de intercambio iónico-espectrofotometría presentó muy baja sensibilidad (41%) y especificidad (59%) con relación a la técnica de turbidimetría.

### CONCLUSIONES

El método de cromatografía de intercambio iónico-espectrofotometría presenta desventajas considerables en otras variables representativas como el tiempo de realización, metodología y reproducibilidad, además del coeficiente de variación (13,4%), lo cual indica imprecisión.

### PALABRAS CLAVES

Control glucémico. Diabetes mellitus. Hemoglobina glicosilada.

\*Estudiante Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Santander. †Docente Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Santander.  
Contacto: Juanita Trejos, juanita.trejos@udes.edu.co

## PCL-62. Determinación *ex vivo* de toll like receptor (TLR) 2 y 4 en células dendríticas de pulpa dental humana con pulpitis irreversible aguda

Astrid V. Camacho-Moreno\*, María X. Molina-Calero\*, Diego A. Sanabria-Naranjo\*, Paul A. Peña-Ulloa\*,  
Aní J. Cortés-Muñoz\*, Jaime Donado-Manotas\*, Juliette de Ávila-Quiroga\*

### INTRODUCCIÓN

En pulpa dental humana se han descrito a las células dendríticas (CD) como primera línea de defensa, las cuales pueden caracterizarse fenotípicamente por la expresión de diversas moléculas de superficie. Las CD sirven como conexión esencial entre los sistemas inmunes innato y adaptativo, teniendo en cuenta su alta capacidad de presentar antígenos y la expresión TLR2 y TLR4, quienes median procesos homeostáticos de recambio y remodelación tisular en respuesta a ligandos endógenos, e inducen la síntesis aumentada de mediadores inflamatorios cuando reconocen patrones moleculares asociados a patógenos, llevando a procesos poco controlados que suelen aportar significativamente al desarrollo de enfermedades como la pulpitis irreversible aguda.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia y abundancia relativa de TLR2 y 4 en CD CD1a+ y subtipos provenientes de pulpa dental humana con diagnóstico de pulpitis irreversible aguda.

### METODOLOGÍA

Se obtuvieron 47 pulpas dentales humanas de premolares sanos indicados para exodoncia por motivos ortodóncicos y 12 pulpas con diagnóstico de pulpitis irreversible aguda, mediante técnica endodóntica convencional, empleando anestésico sin vasoconstrictor con técnica infiltrativa en superiores y conductiva en inferiores. Los tejidos pulpares fueron homogenizados mecánicamente (BDTM, Medimachine System 113V) en RPMI 1640 (Sigma, Cat. R-5382), durante tres ciclos de cinco minutos cada uno. Se pasaron a través de Filcons (BD Medimachine TM Filcon, syringe type, cat # 340605), para la separación selectiva de la población celular de interés (40  $\mu$ m aproximadamente). Las CD se marcaron con anticuerpos mono específicos conjugados y se identificaron mediante citometría de flujo, los datos obtenidos en número de eventos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS® v.14 para Microsoft Windows®, donde los valores de  $p < 0,05$  se consideraron significativos.

### RESULTADOS

Se evidenció aumento significativo de CD CD1a+ en pulpitis irreversible aguda, fenotipo que mostró mayor expresión de TLR ( $p < 0,05$ ), siendo estos hasta tres veces más altos a los expresados en CD CD1a+ provenientes de pulpas dentales humanas sanas ( $p < 0,05$ ). Así mismo se demostró la existencia de CD inmaduras con fenotipo CD1a+/CD68+ las cuales fueron más abundantes en pulpas dentales humanas sanas ( $p < 0,05$ ) con bajos niveles de TLR2 y 4. CD hiperrespondedoras (CD1a+/CD16+) fueron identificadas, población que parece estar relacionada con procesos inflamatorios pulpares con alta expresión en pulpitis irreversible aguda ( $p < 0,05$ ) mostrando, además, niveles superiores de TLR2 y 4 ( $p < 0,05$ ); sin embargo, la expresión de TLR2 fue significativamente mayor a la de TLR4 en pulpas dentales inflamadas ( $p < 0,05$ ).

### CONCLUSIONES

Aunque algunos autores refieren que células dendríticas CD1a+, correspondientes a células de Langerhans, no se presentan en pulpa dental humana, el presente modelo *ex vivo* demuestra la presencia de CD con este fenotipo, en diferentes estadios de maduración dependientes de la condición inflamatoria pulpar. La expresión incrementada de TLRs en CD CD1a+ y CD1a+/CD16+ provenientes de pulpas dentales humanas con pulpitis irreversible aguda, sugieren un aporte importante de estos receptores en inducción de los procesos inflamatorios pulpares.

### PALABRAS CLAVES

Células dendríticas. Pulpitis irreversible aguda. TLR2. TLR4.

\*Postgrado de Endodoncia, Fundación Centro de Investigaciones y Estudios Odontológicos -CIEO-, Facultad de Ciencias de la Salud- Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Contacto: Juliette De Ávila Quiroga, jdeavila@cieo.edu.co

### PAM-22. Colonización y degradación del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) por hongos *Basidiomycetes*

Yasmín A. Alomía-Aguirre\*, Ana Cristina Bolaños\*, Enrique Peña\*, Gloria Pedraza†

#### INTRODUCCIÓN

El buchón de agua *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms es una macrófita acuática que ha causado serios impactos medioambientales y socioeconómicos en muchas regiones del mundo como consecuencia de la eutroficación de los lagos. Las grandes cantidades de biomasa producida por esta planta justifican su empleo en tecnologías que permitan la degradación de sus constituyentes vegetales. En la naturaleza, la degradación de residuos vegetales la llevan a cabo los hongos de pudrición blanca de una forma más eficiente que cualquier otro grupo de organismos, gracias a que cuentan con un conjunto de enzimas oxidativas.

#### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la colonización y degradación de un sustrato elaborado con buchón de agua por las especies de hongos *Basidiomycetes ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*.

#### METODOLOGÍA

##### Zona de estudio

El buchón se extrajo de la laguna de la granja “Pozo Verde”, ubicada en el municipio de Jamundí (Valle del Cauca, Colombia), a una altura de 970 msnm. Según el sistema Holdridge, la zona está enmarcada dentro del bosque seco tropical (bs-T), con temperatura media de 22,2°C, precipitación media anual de 1.400 mm y estacionalidad bimodal.

##### Organismos de estudio

- *Eichhornia crassipes* (buchón de agua).
- Hongos basidiomycetes: *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*.

##### Fases de trabajo

- Caracterización de los componentes para la elaboración de los sustratos.
- Caracterización de las cepas y cinética de crecimiento en medio de cultivo.
- Preparación de la semilla o inóculo.
- Test de colonización de las cepas sobre dos sustratos: B = Sustrato a base de buchón de agua y BE = Sustrato elaborado con buchón de agua y estiércol bovino en una relación 1:1. Ambos sustratos se evaluaron bajo las condiciones: estéril y no estéril.
- Comparación de la degradación de lignina, celulosa y hemicelulosas del buchón de agua entre la especie de hongo con mayor crecimiento y la microflora asociada normalmente al buchón.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El buchón de agua presentó un alto contenido de celulosas (34,8%) y hemicelulosas (34,3) y una menor proporción de lignina (6,98%). Además, cumplió con todos los niveles de contenido de metales pesados permitidos por la normatividad colombiana.

Los hongos presentaron diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en su capacidad de colonización. La prueba de Duncan señaló que *P. ostreatus* fue la especie que presentó el mejor comportamiento, tanto en sustratos estériles como no estériles. Sin embargo, los sustratos estériles ofrecieron condiciones óptimas para el completo desarrollo del micelio (100% en 20 días) mientras que sobre los sustratos no estériles el crecimiento máximo fue del 18%. Se presentó un comportamiento muy similar de las tres especies de hongos en ambos tipos de sustratos elaborados (B y BE), aunque la adición de estiércol pareció potenciar su crecimiento.

*P. ostreatus* demostró ser un organismo eficiente en la degradación de lignina y celulosas (52,15% y 43,88% respectivamente), mientras que la flora normalmente presente sobre el buchón de agua degrada principalmente hemicelulosas (40,88%). Esto puede deberse a que el hongo utiliza sus enzimas para degradar las moléculas más complejas de las que extrae los nutrientes para su desarrollo.

#### CONCLUSIONES

- Las tres especies evaluadas presentan mecanismos de acción diferentes, de tal manera que sólo *P. ostreatus* logra aprovechar eficientemente el buchón como sustrato para su crecimiento. Esta especie tiene una mayor acción de degradación de las moléculas complejas de lignina y celulosas en comparación con la microflora normalmente presente en el buchón, que asimila más fácilmente moléculas de estructura menos rígida como las hemicelulosas.
- Las relaciones de antagonismo y competencia que se puedan presentar entre *P. ostreatus* y otros organismos presentes en los sustratos (insectos, microorganismos, etc.), influyen sobre el desarrollo del micelio cuando los sustratos no se someten a procesos de esterilización.

#### PALABRAS CLAVES

*Basidiomycetes*. Degradación. *Eichhornia crassipes*. Hongos. *Pleurotus ostreatus*.

\*Universidad del Valle. †Fundación CIPAV. Contacto: yasminal@univalle.edu.co

## PAM-26. Evaluación de la viabilidad de *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Enterobacter cloacae* y *Pantoea* spp., preservados en glicerol al 10% y leche descremada, durante seis meses

Lina V. Ospina-Valbuena\*, Diana P. Sánchez-Tobón\*, Martha C. Ramírez-Galeano†

### INTRODUCCIÓN

Es fundamental conservar y almacenar el material microbiano de interés, puro y debidamente identificado, para garantizar la idoneidad y reproducibilidad en la experimentación, por esto es necesario contar con métodos de conservación *ex situ*. El programa de Bacteriología de la Universidad Católica de Manizales, ampliando su visión y tratando de responder a los desafíos del tercer milenio, ha formulado la línea de investigación en Diversidad Microbiana, en cuyo desarrollo se plantea, en primera instancia, realizar un reconocimiento del patrimonio genético de los microorganismos nativos y exóticos, aislados de diversos hábitats, mantener un paquete completo de este material didáctico de utilidad para docentes, investigadores y estudiantes, favoreciendo la retroalimentación permanente al facilitar procesos de comprensión y análisis en los esquemas de difícil aislamiento y seguimiento, y apoyar procesos investigativos, suministrando los microorganismos identificados en género y especie, que aseguren confiabilidad de los resultados.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la viabilidad de *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Enterobacter cloacae* y *Pantoea* spp., preservados en glicerol al 10% y leche descremada, durante seis meses.

### METODOLOGÍA

El estudio será de tipo descriptivo (en la preservación y evaluación de las características morfológicas y bioquímicas) de los microorganismos (bacterias y hongos) preservados en glicerol al 10% y en leche descremada.

### RESULTADOS

De la parte realizada se tienen los siguientes resultados: antes de la preservación, al realizar pruebas de germinación y la determinación de conidias viables mediante azul de tripano al 2%, se determinó un porcentaje de germinación del 24% y una viabilidad del 89% para el hongo *Aspergillus* spp. Después de preservado en glicerol al 10% y a temperatura de -22 °C, a los quince y treinta días, los resultados de viabilidad fueron de 87,7% y 84,7%, respectivamente, en la solución madre; 65,2% y 58,2% en la dilución 10-1, lo que se evidenció que a través del tiempo se afecta la capacidad de expresión del hongo. Posada y Vélez, 1997, afirman que el glicerol es una sustancia crioprotectora que evita el daño causado en la etapa de congelación, manteniendo la integridad del hongo.

### CONCLUSIONES

Esta propuesta de investigación parte de los resultados de un trabajo realizado en el Programa de Bacteriología, donde determinaron al *Aspergillus* spp. como patógeno asociado con frutos de mandarina (*Citrus reticulata* variedad Oneco). Además, se recuperaron microorganismos antagonistas naturales (*Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Enterobacter cloacae* y *Pantoea* spp.) hacia el hongo *Aspergillus niger*, patógeno de frutos de mandarina (*Citrus reticulata* variedad Oneco), provenientes de cuatro supermercados en cadena, Manizales. Las conclusiones de este estudio servirán de base para determinar el método que brindará mayor viabilidad a estos microorganismos después de analizar dos métodos diferentes de preservación (glicerol al 10% y leche descremada) a través del tiempo, lo que asegurará material genéticos para futuros trabajos en áreas de como la biotecnología, epidemiología y fitopatología.

### PALABRAS CLAVES

Glicerol. Microorganismos. Preservación. Viabilidad

\*Estudiantes Bacteriología. Universidad Católica de Manizales. †Profesor Tutor, Universidad Católica de Manizales. Contacto: lina\_ov@hotmail.com

## PAM-39. Variación de la comunidad bacteriana en sistemas acuáticos del Parque Nacional Natural "Los Nevados", Colombia

Yuliana M. Arango-Escudero\*, Ana C. Mesa-Ortiz\*, Catalina Ramírez-Portilla\*, Jennifer Urdán-Alvarez\*, María C. García-Chaves\*, Juan P. Niño-García\*

### INTRODUCCIÓN

La extraordinaria diversidad que el *dominio bacteria* ha desarrollado durante el tiempo que ha habitado el planeta, se encuentra relacionada con la abundancia y amplia distribución de este grupo filogenético y manifiesta, tanto el desempeño de un papel central en los procesos de la ecósfera, como su adaptación a diferentes hábitats. La heterogeneidad geológica de los sistemas volcánicos del Parque Nacional Natural "Los Nevados" sugiere que sus sistemas acuáticos asociados pueden considerarse hábitats que albergan gran variedad de comunidades bacterianas con la capacidad de realizar diferentes procesos en condiciones diversas. En consecuencia, representan un objeto potencial para el estudio de la evolución y para la bioprospección; no obstante, han sido poco estudiados.

### OBJETIVO GENERAL

Analizar los cambios en la estructura y la respuesta funcional de la comunidad bacteriana frente a la variabilidad de las condiciones fisicoquímicas de sistemas acuáticos del Parque Nacional Natural "Los Nevados".

### METODOLOGÍA

Se tomaron muestras integradas de agua y de sedimento de cinco fuentes acuáticas ubicadas dentro del Parque "Los Nevados". En cada muestra se evaluó el potencial metabólico y la estructura de la comunidad bacteriana, que corresponde a la densidad bacteriana total, la composición taxonómica, genética y morfológica. El potencial metabólico de las comunidades microbianas se evaluó mediante el uso de Biolog ECO Plate, que genera un perfil fisiológico comunitario como respuesta al uso de diferentes fuentes de carbono. Para la determinación de la abundancia y variabilidad morfológica microbiana, se evaluaron las muestras mediante el uso de la técnica de microscopía de epifluorescencia acoplada a un sistema de análisis de imágenes. La composición taxonómica y genética de la comunidad se caracterizó mediante el aislamiento y caracterización de tres grupos funcionales de microorganismos (fotótrofos oxigénicos, fotótrofos anoxigénicos y heterótrofos aerobios). Adicionalmente, se utilizaron métodos independientes de cultivo basados en la extracción del DNA y la posterior amplificación (PCR) del rDNA comunitario y análisis de los perfiles comunitarios con la técnica de electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE).

### RESULTADOS

Se observó que las diferentes condiciones ambientales de estos sistemas acuáticos, generadas por el grado de influencia magmática, se ven reflejadas en cambios consistentes de la densidad celular, la composición taxonómica, la estructura de tamaños y morfologías celulares, así como la respuesta funcional comunitaria bacteriana.

### CONCLUSIONES

En este trabajo se presenta el análisis de la influencia de parámetros fisicoquímicos sobre las respuestas encontradas, tanto a nivel comunitario como celular, y se ilustra cómo ésta información contribuye a la bioprospección microbiana y a la comprensión de las condiciones necesarias para el aislamiento y mantenimiento de microorganismos con potencial biotecnológico.

### PALABRAS CLAVES

DGGE. Diversidad bacteriana. Bioprospección. Respuesta fisiológica comunitaria.

\*Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: Juan Pablo Niño, mjuanp@udea.edu.co

## PAM-54. Efecto bactericida del cloro residual libre del agua potable en la planta de tratamiento de la empresa de servicios públicos de Agustín Codazzi "Emcodazzi", del Departamento del César

Giovanna T. Sanchez-Mora\*, Milessa-Charris\*

### INTRODUCCIÓN

La Empresa de Servicios Públicos de Agustín Codazzi "Emcodazzi" debe cumplir con lo establecido en el decreto 1575 de la resolución 2115 del 2007, para garantizar la calidad del agua potable que suministre a la comunidad y para prevenir un problema de Salud Pública que pueda ser ocasionado por bacterias patógenas propias de esa fuente hídrica, en vista de que la cantidad aplicada del químico bactericida por el dosificador puede permitir que muchos microorganismos se encuentren vivos y en capacidad de producir enfermedades.

### OBJETIVO GENERAL

Para conocer la dosificación ideal del cloro gaseoso se determinó el efecto bactericida del cloro residual libre del agua potable en la planta de tratamiento de la Empresa de Servicios Públicos de Agustín Codazzi "Emcodazzi", del departamento del Cesar.

### METODOLOGÍA

Aislado 27 morfotipos de varios puntos de la planta de tratamiento de agua potable Ecodazzi, de los cuales se seleccionaron siete microorganismos correspondientes a la familia de las enterobacterias (*Klebsiella* sp., *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter* sp., *Escherichia coli* y otro microorganismo correspondiente a enterococo). Se evaluó el efecto bactericida *in vitro* del cloro poniendo a prueba el hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio, a concentraciones de 0,5 ppm, 1,0 ppm, 1,5 ppm y 2,0 ppm y los microorganismos, a partir de un bioensayo de laboratorio.

### RESULTADOS

Los microorganismos empleados en el bioensayo para el hipoclorito de sodio a las 2 y 4 horas de crecimiento no presentaron diferencias de inhibición muy notorias en algunas concentraciones.

### CONCLUSIONES

La concentración de 1,0 ppm, 1,5 ppm y 2,0 ppm alcanza a inhibir la mayoría de los microorganismos estudiados; sin embargo, la concentración de 2,0 ppm es la que presenta mayores efectos de inhibición, pero para el ensayo con el hipoclorito de calcio en tiempo de crecimiento de 2 y 4 horas, se presentaron inhibiciones muy parecidas en las cuatro concentraciones empleadas del químico (2,0 ppm, 1,5 ppm, 1,0 ppm y 0,5 ppm).

### PALABRAS CLAVES

Agua potable. Hipoclorito de calcio. Hipoclorito de sodio. Inhibición.

\*Universidad Popular del Cesar. Contacto: Giovanna Sánchez Mora, florsilvestre2222@botmail.com, kevinma07@botmail.com

## PAM-56. Respuesta del crecimiento del bacterioplancton frente al enriquecimiento con nitrógeno y fósforo en el epilimnio y el hipolimnio del Embalse de La Fe, El Retiro, Antioquia, Colombia

Edison A. Parra-García<sup>†‡</sup>, John J. Ramírez-Restrepo<sup>‡</sup>, Juan P. Niño-García<sup>†‡</sup>

### INTRODUCCIÓN

La comunidad de bacterias planctónicas heterotróficas, desempeña un papel central en el reciclaje de nutrientes, la descomposición de la materia orgánica, la producción secundaria y el acoplamiento de las redes alimenticias pelágicas y limnéticas. Sin embargo, el crecimiento y la actividad de estos microorganismos están regulados por factores ambientales, nutritivos y por la mortalidad generada por virus y protistas heterotróficos. Los recursos nutritivos limitantes para las bacterias en la columna de agua suelen ser los compuestos de carbono orgánico y nutrientes minerales como el fósforo y el nitrógeno. Esta limitación del crecimiento del bacterioplancton puede afectar radicalmente la cantidad de carbono que se transfiere o se respira a través del "bucle microbiano".

Teóricamente se dice que en los lagos tropicales existe una alta probabilidad de limitación por nitrógeno, consecuencia de la alta pérdida interna generada por la desnitrificación, favorecida, a su vez, por las altas temperaturas dominantes en los sistemas tropicales y la consecuente actividad microbiana alta. Perfiles de oxígeno realizados en el embalse, indican que existe una estratificación vertical que genera un hipolimnio anóxico. Esto implicaría que los microorganismos se encuentran limitados por nitrógeno, cuyo efecto se magnifica en el hipolimnio.

### OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto del enriquecimiento artificial con nitrógeno (N) y fósforo (P) en la abundancia del bacterioplancton entre botellas de experimentación puestas en el hipolimnio y epilimnio de la presa, del embalse La Fe.

### METODOLOGÍA

El embalse de la Fe es un sistema oligo-mesotrófico que presenta una estratificación térmica y química estable, utilizado para la potabilización de agua para Medellín. Mediante un diseño factorial con interacción se analizó el efecto de tres factores sobre el crecimiento del bacterioplancton en el embalse: Profundidad (1,5 m, 17m), fraccionamiento de la muestra (sin fraccionar (SF), fracción <0,8 µm (F)) y adición de nutrientes (N (37 µM), P (7 µM), y NP combinados). Un total de 76 botellas de 50 mL se incubaron en cada profundidad; se sacrificaron tres botellas de cada tratamiento a las 9, 22 y 32 horas. En campo, se congelaron las muestras con nitrógeno líquido y se estimó el incremento en la densidad de bacterias en cada botella mediante conteo con la técnica de microscopía de epifluorescencia acoplada a un sistema de análisis de imágenes.

### RESULTADOS

Se observaron diferencias en la respuesta del bacterioplancton en epilimnio y el hipolimnio. En el primero, los mayores incrementos se registraron en el tratamiento fraccionado con adición de nitrógeno, mientras que en el hipolimnio no se observaron diferencias entre los tratamientos.

### CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que en la zona superficial del embalse, el nitrógeno limita la producción de biomasa de las bacterias. Por el contrario, en el fondo, otros factores diferentes a los controlados en este trabajo podrían explicar este comportamiento.

### PALABRAS CLAVES

Bacterioplancton. Control *Bottom-up*. Embalse tropical. Nutrientes.

<sup>†</sup>Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. <sup>‡</sup>Grupo de Limnología Básica y Experimental, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia.  
Contacto: Juan Pablo Niño, mjuanp@udea.edu.co

### PIN-15. Validación de la inactivación de residuos hospitalarios contaminados en el laboratorio con *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus stearothermophilus* en un establecimiento coprocesador

Eduardo J. Corpas-Iguarán\*

#### INTRODUCCIÓN

Los procesos de eliminación de residuos hospitalarios se han realizado tradicionalmente por medio de incineración, y para el caso de los constituidos por PVC (policloruro de vinilo) que han sido desinfectados con cloro. Se ha demostrado que durante la incineración se generan contaminantes orgánicos persistentes (COP) representados en dioxinas y furanos, los cuales pueden causar cáncer y otras alteraciones en el organismo humano. Como alternativa, los residuos hospitalarios pueden ser inactivados por métodos de alta eficiencia, para convertirlos en ordinarios, de manera que sirvan como materia prima para otros procesos.

#### OBJETIVO GENERAL

Validar el proceso de inactivación mediante calor húmedo, de residuos hospitalarios contaminados experimentalmente con *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus stearothermophilus* durante el 2009.

#### METODOLOGÍA

El presente fue un estudio de carácter experimental bajo el diseño en bloques y aleatorizado, mediante el cual se determinó la existencia o no de diferencias significativas en torno a la variable de respuesta supervivencia (estimada por recuento a partir de filtración por membrana) de las cepas inoculadas experimentalmente, durante el proceso de alta eficiencia de esterilización por calor húmedo con autoclave industrial a diferentes tiempos y temperaturas aplicados a los residuos hospitalarios.

#### RESULTADOS

Se validó la eliminación por autoclavado a diferentes tiempos y temperaturas, de los residuos hospitalarios acopiados en un establecimiento coprocesador, contaminados con *P. aeruginosa* y *B. stearothermophilus* a una concentración de  $10^6$  microorganismos/mL. El autoclave utilizado efectuó una destrucción eficiente a  $140^\circ\text{C}$  en un tiempo mínimo de 10 minutos de los microorganismos utilizados como variables de respuesta.

#### CONCLUSIONES

El proceso de esterilización de residuos hospitalarios en el establecimiento coprocesador, objeto de estudio, debe llevarse a cabo a  $140^\circ\text{C}$  en un tiempo igual o mayor a diez minutos para garantizar la eliminación de patógenos y poder considerar estos residuos como ordinarios. El proceso de inactivación por calor húmedo llevado a cabo en el establecimiento coprocesador resultó afectado por el tipo de microorganismo utilizado como variable de respuesta. Se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre las temperaturas utilizadas con relación a la supervivencia de los microorganismos y no hubo diferencias significativas entre los tiempos utilizados.

#### PALABRAS CLAVES

Autoclavado. *Bacillus stearothermophilus*. *Pseudomonas aeruginosa*. Residuos hospitalarios.

\*Bacteriólogo de la Universidad Metropolitana de Barranquilla, Especialista en Microbiología Industrial de la Universidad Católica de Manizales (UCM), Investigador del Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico para el Sector Agroindustrial y Agroalimentario INDETA - UCM. contacto: eduardocorpas@hotmail.com

### PIN-21. Evaluación del efecto antimicrobiano de nanopartículas de plata en telas de uso hospitalario

Erika P. Fernández-Calle\*, Jaime A. Uribe-López\*, Yasmín L. García†, Mario A. Zapata-Tamayo‡

#### INTRODUCCIÓN

El brote de bacterias patógenas y su resistencia a los antibióticos es un problema tanto para la salud pública como para la industria farmacéutica en todo el mundo. Esta situación ha hecho que se investiguen agentes antimicrobianos alternativos como las nanopartículas, agrupaciones de átomos que se hallan a escala entre 1 y 100 nm y que pueden ser utilizadas como agentes biocidas contra bacterias y hongos. Debido a estas propiedades, se le ha dado gran interés a metales como la plata (Ag). Cuando las nano partículas de plata tienen contacto con la pared celular interactúan con grupos azufre de algunas proteínas de la pared, esto hace que se acumulen alrededor de la bacteria y generen canales de traspaso, lo que conlleva a la muerte celular por varios efectos como plasmólisis, inhibición de síntesis de pared, disturbios metabólicos e interrupción de la cadena respiratoria. Estos efectos hacen que las nano partículas de plata sean consideradas como agentes biocidas de amplio espectro.

#### OBJETIVO GENERAL

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano de nanopartículas de plata en material textil de uso hospitalario contra dos tipos de microorganismos.

#### METODOLOGÍA

Se realizó un diseño comparativo de dos bloques de tiempo, unifactorial con siete niveles de lavado del material textil, se valoró como variable de respuesta el crecimiento de UFC de *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Se utilizó como control material textil sin aplicación de nanopartículas de plata y sin lavado; cada medición fue realizada por triplicado. El análisis estadístico se realizó utilizando cálculo del porcentaje de reducción del crecimiento microbiano, utilizando la ecuación ASTM-E 2149-01. Para identificar diferencia entre los bloques y los tratamientos se realizó comparación de muestras pareadas utilizando la T de student y ANOVA de un Factor.

#### RESULTADOS

El promedio de porcentaje de reducción calculado de UFC. de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en todas las telas con aplicación de nanopartículas de plata fue de 99,9%, independiente al número de lavados realizados. El crecimiento microbiano a las 8 y 24 horas de ambos microorganismos fue en promedio menor a  $1 \times 10^3$  UFC en las telas con nanopartículas de plata que habían sido lavadas 0, 1, 3, 5, 10, 20 y 30 veces. El crecimiento microbiano en UFC para ambos microorganismos no fue diferente en los dos tiempos de medición ( $p > 0,05$ ) en ningún nivel de lavado; el nivel crítico asociado al estadístico F fue mayor a 0,05, lo que significa que no hay diferencias entre los tratamientos.

#### CONCLUSIONES

En todas las muestras de material textil con aplicación de nano partículas de plata, se observa una actividad antibacteriana muy fuerte con una reducción de crecimiento microbiano (UFC) hasta del 99,99% de *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); este efecto es independiente a los dos tiempos evaluados y al número de tratamientos de lavados realizados.

#### PALABRAS CLAVES

Biocida. Nanopartículas. Plata.

\*Estudiante de Microbiología Industrial y Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Especialista Gestión ambiental. Coordinadora Laboratorio Microbiología Industrial y Ambiental Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. ‡Bacteriólogo y laboratorista Clínica, Epidemiólogo, MSc. Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Microbiología Veterinaria, Universidad de Antioquia. Contacto: Mario Zapata Tamayo, mszapataudea@gmail.com

## PIN-23. Evaluación de dos cepas de *Lactobacillus* sp. para la obtención de ácido láctico a partir de hidrolizado de harina de yuca en condiciones aerobias y anaerobias

Joan E. Quintero Mesa\*, Carlos E. Mejía†, Alejandro Acosta-Cárdenas‡, Ana Torres-López§, Rigoberto Ríos-Esteva ||

### INTRODUCCIÓN

El interés por la producción de ácido láctico incrementó en los últimos años, debido a la diversidad de aplicaciones que encuentran tanto el ácido como sus sales y derivados. Recientemente su consumo ha aumentado considerablemente, hasta 19% por año, debido a su uso como monómero en la producción de ácido poliláctico (PLA) biodegradable. El 90% del ácido láctico producido mundialmente es obtenido mediante fermentación; las bacterias ácido lácticas (BAL) utilizadas son microorganismos grampositivos y anaerobios facultativos. Debido a que las BAL tienen una limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B, requieren nutrientes complejos, lo cual aumenta el costo de producción; por tal motivo, resulta conveniente estudiar sustratos complejos de bajo costo. En la presente investigación se evaluó la producción de ácido láctico a partir de hidrolizado de yuca, empleando cepas de *Lactobacillus* sp. en condiciones aerobias y anaerobias.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de ácido láctico a partir de dos cepas de *Lactobacillus* sp. en condiciones aerobias y anaerobias, empleando hidrolizado de harina de yuca como sustrato.

### METODOLOGÍA

Se emplearon dos cepas de *Lactobacillus* sp., una aislada de yogurt denominada cepa LV, y la otra disponible en el grupo Biotransformación de la Escuela de Microbiología, denominada cepa LF1. Se evaluaron tres medios: MRS, medio GM (compuesto de glucosa, extracto de levadura y sales), medio HY (compuesto de hidrolizado de harina de yuca, extracto de levadura y sales). Los ensayos se realizaron por duplicado, en matraz con 50 mL de medio, a 35°C y 150 rpm durante 72 h. Para garantizar condiciones anaerobias, después de la inoculación se hizo el arrastre de oxígeno empleando nitrógeno. Al final del proceso se cuantificó la concentración de ácido mediante HPLC.

### RESULTADOS

La mayor concentración de ácido láctico se alcanzó bajo condiciones anaerobias en el medio MRS: 14,3 ± 0,9 g/L, 17,6 ± 0,1 g/L, obtenidos con la cepa LV y LF1 respectivamente. Sin embargo, el medio HY resultó ser un buen sustrato para la producción del ácido, ya que las concentraciones alcanzadas con este (12,9 ± 0,4 g/L, 13,6 ± 0,2 g/L, obtenidos con la cepa LV y LF1 respectivamente) fueron mayores que las alcanzadas en el medio con glucosa (11,2 ± 0,4 g/L, 12,6 ± 0,2 g/L, obtenidos con la cepa LV y LF1 respectivamente) y ligeramente inferiores a las alcanzadas con el medio MRS. Estos resultados se explican al considerar que el hidrolizado de harina de yuca contiene, además de los azúcares reductores, otros nutrientes que favorecen el crecimiento de las BAL y la síntesis del ácido.

### CONCLUSIONES

Las mayores concentraciones de ácido láctico se obtuvieron con la cepa LF1. La producción de ácido láctico se vio favorecida por una adecuada disponibilidad de nutrientes y la ausencia de oxígeno. El hidrolizado de HY es un sustrato alternativo adecuado para la producción de ácido láctico, debido al contenido de azúcares reductores y nutrientes disponibles para la fermentación y a su bajo costo.

### PALABRAS CLAVES

Ácido láctico. Anaerobiosis. Azúcar reductor. *Lactobacillus* sp.

\*Estudiante de Ingeniería Química, Universidad de Antioquia. †Coordinador del grupo Biotransformación. Docente, Universidad de Antioquia. ‡Docente, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. §Docente, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia. ||Docente, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia. Contacto: toxy18@gmail.com

## PIN-29. Aceleración del proceso de compostaje de productos poscosecha (cereza) del café con la aplicación de microorganismos nativos

María Cristina Vásquez-de-Díaz\*, Beatriz E. Fuentes-Orozco\*, Elva O. Pinto-Cotes\*, Andrea P. López-Daza\*

### INTRODUCCIÓN

Los cuantiosos volúmenes de desechos de la cosecha cafetera, como la cereza, han sido causa de problemas ambientales, ya que se consideran contaminantes de las fuentes hídricas y del paisaje cuando no son tratados debidamente; por esto, un uso práctico de estos subproductos es utilizarlos para la elaboración de abono orgánico que aporta nutrición a los cafetales y baja los costos en la producción. El proceso de compostaje tarda cerca de 150 días, este proyecto se plantea para disminuir el tiempo de dicho proceso a cuarenta días (40) utilizando microorganismos nativos por medio de la bioaumentación.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar cuatro consorcios bacterianos de cepas aisladas de la cereza y, por medio de análisis fisicoquímicos, determinar las características del producto obtenido.

### METODOLOGÍA

Se inició este trabajo con el aislamiento de microorganismos propios de la pulpa del café para su posterior aplicación. Se realizó un preenriquecimiento de la muestra de cascarilla en un medio basal salino (MBS) durante 12 días, a temperatura ambiente, con agitación continua (120 rpm). A partir del séptimo día, y hasta al doceavo, se sembró en Agar MacKonkey, Agar tripticosa de soja, Agar celulolítico y Agar Saboraud; fueron aisladas e identificadas ocho cepas con características de bacilos gramnegativos. Posteriormente, se realizaron los montajes de cinco pilas para experimentación, con un peso de 175Kg cada una, y una pila testigo. Los microorganismos aislados y utilizados fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter koseri*, *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Cromobacterium* spp., *Pseudomonas* spp., se inocularon por aspersión cada 10 días con una concentración de  $3 \times 10^7$  UFC/mL. Los días 10, 20 y 30 se realizaron las inoculaciones, el volteo y la monitorización de parámetros microbiológicos, como el recuento de microorganismos viables, y los parámetros físicos, como temperatura, humedad y pH. A los 40 días se tomaron muestras de cada una de las pilas, y se hizo el análisis fisicoquímico correspondiente a productos orgánicos.

### RESULTADOS

Se disminuyó, ostensiblemente, el tiempo y bajo el costo en mano de obra frente a tiempo, aunque se debe verificar, en la próxima fase, el manejo del pH. Se obtuvo en 40 días un compost que cumple con los parámetros exigidos por la NTC 5167 del 2004 y la resolución 00150 de enero de 2003 del ICA, la cual regula los materiales orgánicos usados como fertilizantes y acondicionadores de suelos para Colombia.

### CONCLUSIONES

El análisis estadístico no nos muestra diferencias significativas con los diferentes consorcios, pero se propone seguir trabajando con el consorcio *Pseudomonas* spp- *Stenotrophomonas aeruginosa*, y el consorcio *Citrobacter koseri* y *Pseudomonas aeruginosa*, donde se pueden observar los mejores resultados.

### PALABRAS CLAVES

Bacterias nativas. Bioaumentación. Cereza. Compostaje. Contaminación.

\*Universidad de Santander, UDES. Contacto: María Cristina Vásquez, mariacristinav@gmail.com

## PIN-44. Evaluación de la producción de metano por bacterias anaerobias en biorreactores mesofílicos y termofílicos a partir de ruminasa y vástago de plátano

Sergio E. Arango-Osorno\*, Gustavo Peñuela†, Sergio Agudelo‡, Jorge Montoya§

### INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo de investigación se aprovechan los residuos ganaderos de las plantas de sacrificio (ruminasa) para hacer codigestión anaerobia con residuos vegetales de vástago de plátano a varias temperaturas y producir biogas, el cual es una fuente alternativa de energía, y disminuir de esta forma la emisión de metano como gas efecto invernadero.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la temperatura bajo condiciones mesofílicas y termofílicas en la producción del metano en el biogas a partir de la codigestión anaerobia de residuos de ganado con residuos vegetales de vástago de plátano.

### METODOLOGÍA

Arreglo factorial de tres temperaturas (25, 35 y 45°C) por cuatro relaciones de sustrato, con tres réplicas. El proceso experimental fue el siguiente:

Se recolectaron las muestras: ruminasa, proveniente de la central ganadera y vástago de plátano de la central Minorista de Medellín. Se realizó un pretratamiento del vástago de plátano mediante trituración por medio de un Ultraturrax. Se mezclaron los residuos de ambas fuentes para obtener las cuatro relaciones de sustrato y sus réplicas, y se llevaron a biorreactores de 750 mL. Se analizaron condiciones iniciales y finales de parámetros fisicoquímicos y las unidades formadoras de colonia (UFC/mL) de bacterias anaerobias. A cada biorreactor se le puso un tapón de caucho y se le inyectó N<sub>2</sub> para eliminar el O<sub>2</sub>. Se calentó en baño María a T constante y se midió el metano contenido en cada biorreactor en un cromatógrafo durante 40 días.

### RESULTADOS

Sobre la producción de metano por la acción de las bacterias anaerobias, los valores mayores corresponden a una temperatura de 35°C, teniendo un máximo de 101,2 L CH<sub>4</sub> /kg ST para solo biomasa de rumen, sin vástago de plátano. Comparando estos valores con los reportados por Lehtomaki, son inferiores, pero se debe tener en cuenta que sus datos obtenidos para diferente mezcla de sustratos fueron con agitación y en un período de más de 100 días, alcanzando valores de 268, 229 y 213 L CH<sub>4</sub>/kg VS, mientras que en esta investigación se trabajó sin agitación y con un tiempo de retención hidráulica de 40 días.

Las bacterias anaerobias de los biorreactores en las condiciones iniciales presentan un mayor contenido de UFC/mL para el sistema a 35°C que para 45°C. Se obtienen valores altos para vástago al 100%, aunque estas bacterias no son metanogénicas, ya que no hay producción de metano.

### CONCLUSIONES

A menor contenido de vástago, mayor producción de metano. A 35°C se obtiene mayor producción de metano que a 25°C, lo cual está apoyado por la literatura. Las bacterias anaerobias presentan un mayor valor de UFC/mL en las condiciones iniciales que para el tiempo final de descarga de los biorreactores de 40 días.

### PALABRAS CLAVES

Bacterias anaerobias. Biogas. Codigestión. Metano.

\*Ingeniero Químico, Aspirante a Magister en Ingeniería (Ambiental), Universidad de Antioquia. Docente, Universidad de Antioquia. †PbD. Docente, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia. Coordinador Grupo de Investigación GDCON. ‡PbD(c), Docente, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia. Coordinador del Grupo de Investigación GEA. §Director de Investigación, Tecnológico de Antioquia. Contacto: Sergio Arango Osorno, [seruecaris@gmail.com](mailto:seruecaris@gmail.com)

## PIF-02. Tipificación del cassette cromosómico MEC de *Staphylococcus Aureus* en instituciones hospitalarias de Medellín, 2008-2009

Erika A. Rodríguez-Tamayo\*, Ana M. Ocampo-Rios\*†, Carlos E. Muskus-López‡, Lázaro Vélez§, Carlos Rojas ||, Carlos Garcés\*\*, Andrea V. Restrepo-Gouzy††, Olga Molina††, Sigifredo Ospina\*\*, Luz A. Patiño\*\*, Liliana Franco‡‡, Margarita Restrepo‡‡, Margarita M. Correa-Ochoa\*, Judy N. Jiménez-Quiceno\*

### INTRODUCCIÓN

*Staphylococcus aureus* es responsable de altas tasas de morbilidad y mortalidad en la comunidad y en hospitales, en parte, debido a su capacidad de adaptación, adquisición y desarrollo de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. La resistencia del *S. aureus* a metilina (MRSA, por su sigla en inglés) se debe a la presencia de una proteína alterada de unión a la penicilina (PBP2a), codificada por el gen mecA. Éste se encuentra en un elemento genético móvil conocido como el cassette cromosómico mec (SCCmec).

Con el propósito de realizar análisis de epidemiología molecular, se han definido diferentes tipos de SCCmec. En la actualidad se han descrito ocho tipos, designados del I al VIII. Los tipos I, II y III se han identificado en cepas MRSA nosocomiales, los tipos IV y V se han reportado principalmente en cepas de *S. aureus* resistentes a metilina (MRSA) asociadas a la comunidad alrededor del mundo y recientemente, causando infecciones asociadas al cuidado de la salud.

Estudios de tipificación molecular de MRSA han permitido concluir que para una mejor caracterización de estas cepas se requiere definir no solo su perfil genético, sino también identificar los tipos estructurales SCCmec. Es así como recientemente se han descrito numerosos métodos de PCR que permiten detectar y tipificar MRSA con base en el SCCmec, de forma rápida y específica.

### OBJETIVO GENERAL

Genotipificar aislados de MRSA provenientes de pacientes del Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP), Hospital Pablo Tobón Uribe (HPTU) y la Clínica Cardiovascular (CC) de Medellín basados en el SCCmec.

### METODOLOGÍA

Se seleccionaron 400 muestras MRSA de las instituciones de estudio, en cada una de ellas se realizó la confirmación molecular de género y especie de *S. aureus* y la resistencia a metilina empleando el gen mec y nuc, respectivamente. Para la tipificación del SCCmec se utilizó la metodología descrita por Kondo et al. (2007), la cual emplea seis múltiplex PCR.

### RESULTADOS

Los resultados muestran que tanto en el HUSVP como en el HPTU predomina el SCCmec tipo IVc, seguido por el SCCmec tipo I, mientras que en la CC es mayor el número de aislamientos tipo I. En las tres instituciones la presencia los SCCmec tipo II y V es baja. El SCCmec III no ha observado.

### CONCLUSIONES

El predominio de las cepas tipo IVc, normalmente de comunidad, como causante de infección intrahospitalaria, sugiere un desplazamiento de las cepas tradicionalmente asociadas al ambiente hospitalario. Es necesario complementar estos resultados con información epidemiológica y otras técnicas de tipificación. Es importante considerar estos resultados en la toma de decisiones clínicas sobre el tratamiento de MRSA y control de infecciones en los hospitales.

### PALABRAS CLAVES

Cassette cromosómico mec (SCCmec). *Staphylococcus aureus* metilino resistente (MRSA).

\*Grupo Microbiología Molecular, Universidad de Antioquia. †Estudiante de Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia. ‡PECET, Universidad de Antioquia. §GRUPE, Universidad de Antioquia. ||Grupo de Epidemiología, Universidad de Antioquia. \*\*Hospital Universitario San Vicente de Paúl. ††Hospital Pablo Tobón Uribe. ‡‡Clínica Cardiovascular de Medellín.

\*Contacto: Yudy Natalia Jiménez: judynatalia@yahoo.com

## PIF-5. Determinación de integrones clase I, II, III y cassettes genéticos en cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa*

Ángela Y. Rivera-Molina\*, Vivian V. Rubio\*, Mayra A. Vargas-Rojas\*, Bibiana Chavarro-Portillo†, Jennifer C. Gutiérrez-Suárez‡, Jeannette Navarrete-Ospina§, Gladys Pinilla-Bermúdez§, Liliana C. Muñoz-Molina§

### INTRODUCCIÓN

El aumento en los mecanismos de resistencia bacteriana por patógenos como *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN), han originado un incremento en la morbimortalidad en neonatos. Un mecanismo es la incorporación de elementos genéticos móviles como los integrones descritos inicialmente en bacterias gramnegativas y por transferencia horizontal de genes, en bacterias Gram positivas. Estos consisten en dos segmentos conservados localizados en la región 5' y 3' separados por una región variable, en donde se insertan genes cassettes involucrados en multiresistencia; en el extremo 5' se encuentra el gen intI que varía en su secuencia y genera diferentes tipos de integrasas de las cuales se han descrito tres de importancia clínica; en el extremo 3' se encuentra un gen que le confiere resistencia a sulfonamidas (Sul1) y a amonio cuaternario (qacEA).

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de las integrasas clase I, II y III, los genes Sul1, qacEA, y los cassettes genéticos Caadattc, Caac y aadA2 en cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa*, aisladas de puntas de catéteres y hemocultivos en tres unidades neonatales de Bogotá.

### METODOLOGÍA

Se realizó un análisis bioinformático en *National Center Biotechnology Information* (NCBI), y se diseñaron primers para la caracterización molecular. La extracción del ADN bacteriano se obtuvo con el Kit de Wizard Promega y la presencia de los genes se determinó mediante PCR múltiplex. Como control se utilizaron cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis*.

### RESULTADOS

Teniendo en cuenta los pesos moleculares dados por el análisis bioinformático encontramos los genes intI 1 (483pb), el gen de intI 3 (303pb), el gen sul1 (378pb) y qacEA (215pb) en las cepas de *E. coli* y *K.pneumoniae* y el gen intI2 (185pb) sólo se encontró en las cepas de *E. coli*.

### CONCLUSIONES

El análisis bioinformático de las secuencias genéticas fue óptimo para el diseño de los primers, ya que al compararlas con los resultados obtenidos se evidenció que los pesos moleculares de cada una de las bandas corresponden a los genes a determinar. Las concentraciones y condiciones de la PCR múltiplex fueron adecuadas para la amplificación de los genes en estudio. La presencia de integrones y cassettes en cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa* pueden asociarse con altos niveles de resistencia.

### PALABRAS CLAVES

Cassettes genéticos. Integrones. PCR múltiplex. Resistencia.

\*Estudiantes de VIII semestre Programa de Bacteriología Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. †Bacterióloga, MSc. Básicas Biomédicas. ‡Joven Investigadora COLCIENCIAS. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. §Docente, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

Contacto: Ángela Rivera Molina: angeyrm@gmail.com

## PIF-06. Papilomavirus humano en carcinoma escamocelular de cabeza y cuello

Andrés Giraldo-Gómez\*, Katherine Quintero-Martínez\*, Carolina Urán†, Carolina Escobar-Arango‡, Mary L. Uribe-Ríos\*, Efraín del C. Álvarez-Martínez§, Gloria I. Sánchez-Vasquez\*

### INTRODUCCIÓN

El cáncer de cabeza y cuello se ha asociado a múltiples factores de riesgo como el consumo de tabaco y alcohol, así como también a la infección por Virus del Papiloma Humano (VPH). El ADN de este virus se ha encontrado en lesiones de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello (CECCC), principalmente en la orofaringe. El genotipo de VPH más encontrado en estas lesiones es el 16, seguido del 18.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de VPH en CECCC en la ciudad de Medellín y su zona de confluencia.

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio transversal retrospectivo en el que se incluyeron 151 casos de CECCC. Los casos fueron inicialmente identificados en los libros de registros de patológicos de tres laboratorios de Medellín de casos diagnósticos entre 1998 y 2008. Una vez reconfirmado el diagnóstico en la lámina del archivo, los bloques de parafina fueron recuperados y cortados nuevamente. De los cinco cortes obtenidos, dos se utilizaron para tinción con H&E y marcaje de las lesiones, el resto se utilizaron para disección y extracción de ADN. La calidad del ADN se evaluó por PCR del gen de  $\beta$ -Globina y el VPH por PCR GP5/GP6 seguido de hibridación reversa (RLB).

### RESULTADOS

De los 151 casos recolectados, el 29,8% fueron de cavidad bucal, 19,9% orofaringe y 50,3% de laringe. El 34,4% pertenecieron a mujeres y el 65,6% a hombres. El 77,4% de las muestras fueron positivas para el gen  $\beta$ -globina. En cavidad bucal no se detectó infección con VPH1, en orofaringe la prevalencia encontrada fue del 11,5%; en cáncer de laringe la prevalencia de ADN de VPH encontrada fue 1,7%. Se encontró exclusivamente infección por el genotipo VPH 16.

### CONCLUSIONES

VPH 16 también es agente etiológico de cáncer de la laringe y de la orofaringe en Colombia. Estos resultados son la base para el diseño de estudios que nos permitan evaluar los factores de riesgo de la infección del tracto superior por este virus y la fracción en la cual contribuye VPH 16 al desarrollo de este cáncer en nuestro medio. Estos datos son útiles para determinar el impacto de la vacuna contra VPH en la población colombiana.

### PALABRAS CLAVES

Carcinoma escamocelular. Prevalencia. Sexo orogenital. Virus del papiloma humano.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Cirujano Maxilofacial, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. §Cirujano Maxilofacial y Estomatólogo, Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: Gloria Sánchez, [sanchezg@une.net.co](mailto:sanchezg@une.net.co)

## PIF-08. Prevalencia de papilomavirus humano en mujeres que asisten a centros de diagnóstico citológico en la ciudad de Medellín

Mary L. Uribe-Ríos\*, Armando Baena-Zapata\*†, Jehidys E. Montiel-Ramos\*, Víctor A. Flórez-García\*, Santiago Martínez-Jaramillo\*, Astrid M. Bedoya\*†, Catalina Martínez-Jaramillo\*, Cesar J. López-Pinto\*†, Yexania Y. Arboleda-Moreno\*, Víctor A. Vanegas-Posada\*, Ruth E. Arboleda-Pulgarín\*, Gloria I. Sánchez-Vásquez\*

### INTRODUCCIÓN

Evidencias epidemiológicas y de laboratorio demostraron una relación causal entre ciertos tipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) y el cáncer de cérvix; la infección por este virus es necesaria, pero no suficiente para el desarrollo de lesiones premalignas y cáncer invasor. Se ha observado que la prevalencia de VPH 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 VPH importantes para la implementación de programas de vacunación.

### OBJETIVO GENERAL

Estimar la prevalencia de los diferentes genotipos de VPH 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 1.110 muestras de raspados cervicales. Se extrajo el ADN y se verificó su calidad con la amplificación del gen  $\beta$ -globina. El ADN viral se determinó por medio de la técnica PCR GP5+/GP6+ seguido de hibridación reversa (RLB). Se estudió, además, la relación entre la infección con el VPH 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 VPH se encontró en 113 mujeres (10,2%) de las cuales 93 (8,4%) estaban infectadas con genotipos de alto riesgo y 20 (1,8%) con genotipos de bajo riesgo. El genotipo más prevalente fue VPH 16 (2,3%), seguido por VPH 18 (1,7%) y VPH 56 (1,4%). Se encontró una diferencia significativa en la prevalencia de VPH entre los grupos de edad ( $p=0,0021$ ). La infección por VPH se relacionó con tener dos o más parejas sexuales (OR: 1,95, 95% CI: 1,07-3,57) y con tener un resultado de citología anormal (OR: 2,76, 95% CI: 1,05-7,25).

### CONCLUSIONES

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

### PALABRAS CLAVES

Colombia. Medellín. Papilomavirus. Prevalencia.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: Gloria Sánchez, [sanchezg@une.net.co](mailto:sanchezg@une.net.co)

## PIF-09. Detección de genotipos del virus del papiloma humano en papilomatosis respiratoria recurrente en Colombia

Gloria I. Sánchez\*, Gustavo Cuello†, Roberto Jaramillo‡, Katherine Quintero\*, Adriana Obyrne‡, Antonio Reyes§, Consuelo Santamaría†, Harold Cuello†, Ana M. Arrunategui‡, Alberto Cortez||, Julio Cesar Reina†, Nubia Muñoz\*\*

### INTRODUCCIÓN

La papilomatosis respiratoria Recurrente (PRR) es una neoplasia benigna de la laringe asociada a infección con VPH. Esta enfermedad, presente tanto en niños como adultos, se caracteriza por obstrucción de las vías respiratorias con frecuentes recurrencias, y difícil evolución y tratamiento. Una vacuna profiláctica contra VPH representa una herramienta prometedora para la prevención de la incidencia de esta enfermedad.

### OBJETIVO GENERAL

Estimar la prevalencia de los genotipos de VPH en casos de PRR de Cali y Medellín.

### METODOLOGÍA

Los registros de casos de PRR diagnosticados entre 1985 y 2009 fueron obtenidos de laboratorios de patología de Cali y Medellín, y se recuperaron los bloques de parafina de la mayoría de estos casos. Una vez revisadas las laminas histopatológicas de dichos bloques, estos se cortaron nuevamente y se hicieron cinco cortes de cada bloque. El primero y último se utilizó para tinción con H&E, los otros para diseccionar la lesión y extraer ADN con xileno y proteinasa K. Los genotipos de VPH se determinaron mediante la prueba de SPF 10 LiPA (versión 1.0), y la calidad del ADN amplificando un segmento de 209 pb de  $\beta$ -globina.

### RESULTADOS

Se identificaron 358 registros de PRR de los cuales 140 tenían bloques y eran casos primarios. Un caso no presentó lesión histopatológica compatible con PRR y nueve fueron  $\beta$ -globina negativos. La edad media de los 130 casos incluidos fue 33 años; 46,2% mayores de 17 años al momento del diagnóstico y 60% hombres. El 94,6% de los casos fueron positivos para VPH. El VPH 6 y 11 se detectó en el 67,7% y 26,9% de los casos, respectivamente, y en 9 casos (6,9%) se detectó VPH 16. En 11 casos se observaron múltiples infecciones. En siete de estos casos se detectó infección simultánea con VPH 11 y 6. Los VPH 16 y 6; 6 y 52, y VPH 6 y 54 fueron simultáneamente detectados entre diferentes casos.

### CONCLUSIONES

El VPH 6 y 11 se encuentran en el 95% de los casos de PRR en Colombia. Una vacuna profiláctica contra estos genotipos tendría un gran impacto en la incidencia de PRR en Colombia.

### PALABRAS CLAVES

Colombia. Papilomatosis respiratoria recurrente. VPH 6. VPH 11.

\*Grupo Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Centro Médico Imbanaco, Cali, Colombia. ‡Departamento de Patología, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia. §Departamentos de Otorrinolaringología y Pediatría, Universidad del Valle, Cali, Colombia. ||Laboratorio de Patología, Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. \*\*Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá Colombia. Contacto: Katherine Quintero, kty01@hotmail.com

## PIF-16. Vaginosis bacteriana, candidiasis y tricomoniasis en mujeres del régimen subsidiado que asisten al servicio de citología de Metrosalud, diagnosticado mediante la coloración de Papanicolaou en el Laboratorio de Citología de la Escuela de Microbiología de La Universidad de Antioquia, Medellín, 2008

Lucía S. Tamayo-Acevedo\*, Edwin C. Guevara-Romero†

### INTRODUCCIÓN

La vaginosis bacteriana, la candidiasis y la tricomoniasis representan, en todo el mundo, el 90% de los casos de infecciones cervicovaginales en edad reproductiva, en clínicas de primer nivel. Las prevalencias varían de acuerdo a la población, según los reportes de literatura la candidiasis va de 10% a 25%, la vaginosis bacteriana entre 20% y 45% y la tricomoniasis entre 10% y 31%.

### OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el comportamiento de las infecciones: vaginosis bacteriana, candidiasis y tricomoniasis diagnosticadas por citología ginecológica (coloración de Papanicolaou), en mujeres del régimen subsidiado que asistieron al servicio de citología de la ESE Metrosalud durante el 2007.

### METODOLOGÍA

Estudio descriptivo con análisis de corte, realizado en 53.283 registros de citologías procesadas y analizadas, bajo estándares de calidad en el Laboratorio de Citología de la Escuela de Microbiología, se utilizaron criterios microbiológicos y citológicos para identificar las infecciones. Se hizo análisis estadístico univariado y bivarido, se calculó prevalencia, Odds Ratio (OR), IC: 95%,  $\chi^2$  y significancia 0,05.

### RESULTADOS

El rango de edad fluctuó entre 11 y 97 años (promedio 37,7 años, DE 14,9). Las prevalencias fueron: vaginosis bacteriana 30,3%, candidiasis 5,0%, tricomoniasis 1,4% e infecciones mixtas 10,6%. En las tres infecciones se observó una tendencia al aumento en las OR a medida que disminuye la edad, a diferencia de las infecciones mixtas en las cuales el riesgo aumenta con la edad. El 53,4% no utilizan métodos de planificación, el 22% utilizan métodos quirúrgicos. Los anticonceptivos hormonales y el DIU no mostraron relación con ninguna de las tres infecciones (OR vaginosis: 1,02, IC95%: 0,98-1,07; OR candidiasis: 0,98, IC95%: 0,89-1,08; OR tricomoniasis: 1,06, IC95%: 0,89-1,27).

### CONCLUSIONES

Las tres infecciones afectaron, principalmente, a mujeres menores de 30 años; ningún método anticonceptivo presentó relación con las infecciones mencionadas. Se destaca la alta prevalencia de vaginosis bacteriana, lo cual debe conducir a mejorar la vigilancia y control de estas infecciones, siendo la citología ginecológica (coloración de Papanicolaou) una herramienta clave.

### PALABRAS CLAVES

Candidiasis. Citología. Tricomoniasis. Vaginosis.

\*Profesora Investigadora, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación Citología Ginecológica y Prevención del Cáncer Cervicouterino. †Microbiólogo y Bioanalista. Estudiante de Maestría en Epidemiología, Universidad de Antioquia. Contacto: edwinguevararomero@gmail.com

## PIF-17. Estrategias que utilizan un grupo de personas que viven con VIH/Sida para proteger su salud, Medellín, 2009

Felipe Higueta-Gutierrez\*, Jaiberth A. Cardona-Arias†

### INTRODUCCIÓN

El VIH continúa siendo un problema de salud pública mundial, en el que se impactan no solo factores biológicos, sino además económicos, socioculturales y psicológicos de quienes padecen la infección. Desde el plano económico, el VIH aumenta los gastos de atención médica, disminuye el número de personas económicamente activas, suscita el abandono de la actividad económica por deterioro de la salud, entre otros. El plano sociocultural se ve afectado, debido a que la infección se desarrolla en un contexto de problemas previos no superados como temor a la muerte y discriminación de grupos minoritarios, esto deriva en actitudes de estigmatización, rechazo, abandono y persecución hacia las personas portadoras. En este contexto, la salud física y mental se deteriora, generando reacciones de miedo, ansiedad, tristeza, frustración, desesperanza, impotencia, ideas suicidas y trastornos obsesivos.

La multiplicidad de dimensiones que se ven afectadas por la infección crea la necesidad de abordar a la persona que vive con VIH (PVVIH) desde una perspectiva holística en el que se rescate la subjetividad como un determinante de la salud. Un abordaje multidimensional debe incluir la visión de los actores, debido a que ellos aportan nuevas categorías de análisis del fenómeno, pueden orientar las políticas de salud pública y la toma de decisiones médicas hacia las necesidades percibidas de las PVVIH; además, pueden optimizar las intervenciones del personal de la salud al revalorar los conocimientos y experiencias acumuladas por los sujetos que padecen la infección.

### OBJETIVO GENERAL

Describir las estrategias que utilizan un grupo de personas que viven con VIH/Sida para proteger la salud, Medellín, 2009.

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio cualitativo con 13 personas que viven con VIH/Sida pertenecientes a una organización no gubernamental. La selección de los casos de estudio se hizo a través de muestreo teórico. La recolección de la información se hizo con entrevistas semiestructuradas, diarios de campo, observación no participante y observación participante. Se utilizó la teoría fundada como método para el análisis de la información y se siguieron los criterios de rigor metodológico de credibilidad, auditabilidad y transferibilidad.

### RESULTADOS

Los hallazgos se centraron en tres tópicos: los determinantes de la salud que se ven más afectados por la infección, las estrategias que utilizan el grupo de infectados para minimizar el impacto de la infección y la necesidad sentida de educación como alternativa para reintegrarse a la sociedad.

### CONCLUSIONES

Los sujetos vieron su salud considerablemente afectada después de conocer su condición de infectados y resaltan la estigmatización como el tópico que impacta en mayor medida las dimensiones de la salud. Ante esta situación emerge el efecto positivo de las prácticas religiosas, el soporte social, la adherencia terapéutica y el autocuidado.

### PALABRAS CLAVES

Salud. Teoría fundada. VIH/Sida.

\*Estudiante Microbiología y Bioanálisis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Docente Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.  
Contacto: jaiberth Cardona, njaca162@gmail.com

## PIF-24. Caracterización de genes de virulencia en cepas de *Staphylococcus aureus* de población pediátrica del Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, 2009

Johanna M. Vanegas-Múnera\*, Ana M. Ocampo-Ríos\*, Patricia A. Guamán-Cujilema\*, Carlos Garcés-Samudio†, Luz A. Patiño‡, Sigifredo Ospina-Ospina‡, Margarita M. Correa-Ochoa§, Judy N. Jiménez-Quiceno§

### INTRODUCCIÓN

*Staphylococcus aureus* es un microorganismo asociado con gran variedad de cuadros clínicos, que van desde infecciones superficiales de la piel, como forunculosis, hasta infecciones graves como osteomielitis y bacteriemia. Un alto porcentaje de individuos, muchos de ellos niños, están colonizados por *S. aureus*, lo cual constituye un factor de riesgo para su diseminación. Parte del éxito de este microorganismo como patógeno se debe a su gran variedad de factores de virulencia y a su enorme habilidad para desarrollar mecanismos de resistencia a los antibióticos, tales como la meticilina, situación que ha dificultado el tratamiento. La presión antibiótica y la capacidad de adaptación de *S. aureus* han favorecido su evolución y en la actualidad encontramos cepas que presentan diferentes patrones de susceptibilidad y perfiles variables de virulencia que difieren clínica y epidemiológicamente: *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA) y cepas resistentes a meticilina (MRSA). Las cepas de MSSA poseen gran capacidad de virulencia y patogenicidad; sin embargo, en los últimos años se ha descrito que algunas cepas de MRSA han adquirido nuevos factores de virulencia, para compensar la pérdida de *fitness* asociada con la resistencia. La epidemiología de *S. aureus* varía dependiendo de las condiciones particulares de cada lugar o institución. En el ámbito local se conoce poco al respecto, por lo cual resulta de gran importancia determinar las diferencias en el perfil de virulencia entre MSSA-MRSA, para aportar información que facilite el establecimiento de medidas de control.

### OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los genes de virulencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y meticilino sensible, provenientes de población pediátrica del Hospital Universitario San Vicente de Paúl de Medellín durante el año 2009.

### METODOLOGÍA

Se seleccionaron 60 pacientes pediátricos (0-14 años) con aislamientos de *S. aureus* del HUSVP y a todos ellos se les solicitó consentimiento informado. A los aislados se les realizó confirmación molecular de especie y susceptibilidad a meticilina. Posteriormente, se detectaron genes que codifican para las enterotoxinas estafilocócicas (sea-see), las toxinas exfoliativas (eta, etb), la toxina del síndrome del shock tóxico (tst) y la leucocidina de Pantón-Valentine (pvl); mediante PCR múltiple. En las cepas de MRSA se tipificó el Cassette cromosómico mec (SCCmec). Para el análisis de datos se utilizó la prueba  $\chi^2$ .

### RESULTADOS

Entre las cepas MSSA y MRSA se observaron diferencias significativas en la presentación de los genes de factores de virulencia e incluso entre cepas resistentes con diferente SCCmec, ya que las cepas de MRSA tipo IVc presentaron principalmente pvl, mientras que las cepas tipo I fueron en su mayoría negativas. Las combinaciones más frecuentes fueron tst-pvl en cepas MRSA y enterotoxinas-pvl-tst en MSSA.

### CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio coinciden con hallazgos en todo el mundo, que sugieren un costo en la eficacia biológica que genera la resistencia a meticilina en *S. aureus*. Sin embargo, esta particularidad no parece cumplirse en las cepas MRSA que portan el SCCmec tipo IVc.

### PALABRAS CLAVES

Factores de virulencia. *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (MRSA). *Staphylococcus aureus* meticilino-sensible (MSSA).

\*Estudiante de Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia. †Grupo Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ‡Laboratorio Clínico, Hospital Universitario San Vicente de Paúl. §Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: Judy Natalia Jiménez, judynatalia@yahoo.com

## PIF-31. Comparación de técnicas de cuantificación del virus dengue: Cell-ELISA y RT-qPCR

Andrea I. Trujillo-Correa\*, Carolina Quintero-Gil†, Marlén Martínez-Gutiérrez‡

### INTRODUCCIÓN

El método de titulación basado en la capacidad que tiene el virus para formar placas en medio semisólido es el que más se usa para la cuantificación de virus dengue (DENV). Sin embargo, tiene algunas desventajas, entre las que se encuentran el largo tiempo requerido para la obtención de resultados, el hecho de que no todas las cepas virales producen placa o en algunos casos no son muy definidas y la necesidad de conteo directo que genera errores en la estimación del título. Tratando de superar estas desventajas, en los últimos años se han venido usando técnicas como el Cell-ELISA o la RT-qPCR para cuantificar la cantidad de partículas virales infecciosas, pero hasta el momento no se ha hecho una comparación real de estas técnicas con el “estándar de oro” de referencia que es el plaqueo.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la utilidad de dos técnicas de cuantificación de virus (CELL-ELISA y RT-qPCR) para la titulación de cepas virales de difícil formación de placas, comparando con el estándar de titulación por plaqueo.

### METODOLOGÍA

Se titularon DENV de referencia de cada uno de los serotipos (DENV-1 West Pac 74; DENV-2 S16803; DENV-3 CH53489 y DENV-4 TVP360) y algunos aislados clínicos, por la técnica de plaqueo convencional y por la técnica de Cell-ELISA. Los dos ensayos se hicieron sobre monocapas de células VERO. A las dos horas postinfección, el inóculo se retiró y los platos se incubaron por cinco días. En el caso de la titulación por plaqueo, el medio semisólido se retiró y las monocapas se fijaron y tñieron con cristal violeta; además, se contaron las placas; en el caso del Cell-ELISA, las monocapas se fijaron y el antígeno viral se detectó con anticuerpos específicos. Adicionalmente, se hizo extracción de RNA total en todos los casos para posteriormente hacer una retrotranscripción; y con el cDNA que se obtuvo, se hizo la PCR en tiempo real. La cantidad de copias genómicas se calculó por medio de cuantificación absoluta, mediante el uso de las curvas estándares específicas de cada serotipo.

### RESULTADOS

Los títulos obtenidos por el ensayo convencional de titulación por plaqueo y Cell-ELISA fueron: DENV-1 West Pac 74  $8,0 \times 10^3$  ( $8,1 \times 10^3$ ), DENV-2 S16803  $9,9 \times 10^3$  ( $1,0 \times 10^5$ ), DENV-3 CH53489  $3,1 \times 10^4$  ( $1,5 \times 10^5$ ), DENV-4 TVP360  $4,6 \times 10^4$  ( $9,0 \times 10^5$ ) y los títulos cuantificados solo por Cell-ELISA DENV2  $1,4 \times 10^3$  y DENV3  $2,4 \times 10^4$ . En todos los casos se encontró una alta correlación ( $R^2 > 0,85$ ) entre el logaritmo correspondiente a los títulos virales obtenidos por plaqueo y por CELL-ELISA. Adicionalmente, logramos obtener títulos virales por la técnica de Cell-ELISA, de aislados clínicos de virus que no forman placas. Por RT-qPCR logramos determinar el número de copias genómicas de las muestras evaluadas y correlacionarlas con las dos técnicas celulares; los datos obtenidos por RT-qPCR también mostraron una alta correlación con las otras técnicas, y de otro lado la RT-qPCR también nos permitió serotipificar, hecho que resulta muy útil para diagnóstico.

### CONCLUSIONES

En todos los casos se encontró una alta correlación entre el logaritmo correspondiente a los títulos virales obtenidos por plaqueo y Cell-ELISA o RT-qPCR. Adicionalmente, logramos obtener títulos virales, por la técnica de Cell-ELISA, de aislados clínicos de DENV que no forman placas por la técnica de titulación convencional. Estas dos técnicas son una novedosa herramienta para la cuantificación de muestras provenientes de aislados clínicos y podría reemplazar el plaqueo especialmente para aquellos virus no formadores de placa.

### PALABRAS CLAVES

Técnicas de cuantificación. Titulación. Virus dengue.

\*Estudiante de Doctorado, Posgrado de Biología, Universidad de Antioquia. †Estudiante de Maestría, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Becaria del Programa Jóvenes Investigadores-COLCIENCIAS. ‡Coordinadora Unidad de Virosis Tropicales Emergentes, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia. Docente cátedra Universidad de Antioquia. Contacto: Marlén Martínez-Gutiérrez, [mmartinezg@pecet-colombia.org](mailto:mmartinezg@pecet-colombia.org)

## PIF-33. Evaluación de la capacidad replicativa de cepas de virus dengue provenientes de aislados clínicos en células de insecto

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

### INTRODUCCIÓN

El virus dengue (DENV) es la principal enfermedad viral transmitida por artrópodos, y la presencia tanto del virus como de su mosquito vector pone en alto riesgo de contraer la enfermedad a la población que habita en áreas tropicales y subtropicales de todo el mundo. El DENV posee un genoma RNA que se caracteriza por tener altas tasas de mutación, lo cual favorece la aparición de nuevas cepas y, por tanto, variaciones en la infectividad. Existen cuatro serotipos de DENV (DENV-1 a 4) que cocirculan en Colombia; recientemente esta cocirculación se ha visto relacionada con un aumento en el número de casos. Estudios filogenéticos con virus provenientes de aislados clínicos de Medellín en los últimos años, demuestran que existe un alto grado de evolución entre ellos y, por tanto, se vuelve importante determinar si entre ellos existen diferencias que favorezcan la replicación de unos más que de otros, y de ese modo aportar a la comprensión de los patrones de transmisión de los diferentes serotipos.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad replicativa de dos cepas provenientes de aislados clínicos de la ciudad de Medellín de los serotipos 2 y 3.

### METODOLOGÍA

Las cepas DENV-2 469/95, DENV-2 3986/07, DENV-3 15859/02 y DENV-3 3832/06 aisladas en Medellín, se amplificaron en células C6/36 HT. Después de 12 días de infección, se recolectaron sobrenadantes y se realizó una extracción de RNA usando el método de TRIzol (Invitrogen). El RNA extraído se cuantificó y, posteriormente, se llevó a cabo una retrotranscripción usando  $0,5 \mu\text{g}$  de RNA como molde. Con el cDNA obtenido se realizó una PCR cuantitativa (qPCR) utilizando *primers* específicos para cada serotipo. Con los virus cuantificados se infectaron cultivos de células de insecto C6/36 HT con  $2,5 \times 10^8$  copias genómicas y 96 horas postinfección se colectaron sobrenadantes para llevar a cabo una nueva qPCR, para evaluar la eficiencia en la replicación de cada aislado. Los datos obtenidos de cada aislado se compararon entre ellos mediante una prueba t-Student con  $n=6$  y rechazando la hipótesis nula con valores de  $p$  menores de 0,05.

### RESULTADOS

Al cuantificar el número de copias de las cepas de DENV-2 469/95 y 3986/07 no se encontraron diferencias significativas entre ellas ( $p > 0,05$ ) con valores del orden de  $7 \times 10^8$  copias genómicas en ambos casos. Para el caso de las cepas de DENV-3 15859/02 y 3832/06, tampoco se encontraron diferencias significativas entre ellas ( $p > 0,05$ ) con valores del orden de  $7 \times 10^4$  copias genómicas. Sin embargo, al comparar entre los serotipos, encontramos diferencias significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ) con mayor cantidad de copias genómicas cuantificadas para las cepas pertenecientes al serotipo 2, respecto a las cepas del serotipo 3.

### CONCLUSIONES

Al comparar la capacidad replicativa entre cepas de un mismo serotipo, aisladas en diferentes años, no encontramos diferencias estadísticamente significativas, lo cual sugiere que la distancia evolutiva entre ellas no representa cambios que afecten la eficacia biológica de cepas del mismo serotipo. Sin embargo, con este estudio hemos confirmado que cepas del serotipo 2 replican mejor *in vitro* que cepas del serotipo 3; hecho que es de gran importancia epidemiológicamente, ya que el serotipo 2 siempre ha estado asociado con una mayor virulencia que los demás serotipos y, además, puede estar implicado en las formas severas de la enfermedad.

### PALABRAS CLAVES

Aislados clínicos. Capacidad replicativa. Células de insecto. Virus dengue.

\*Estudiante de Maestría, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Becaria Programa Jóvenes Investigadores, COLCIENCIAS. †Coordinadora Unidad de Virosis Tropicales Emergentes, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia. Docente cátedra Universidad de Antioquia. ‡Bacterióloga, Laboratorio Departamental de Antioquia. §Docente Facultad de Medicina, Investigador Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia. ||Profesor Asistente, Universidad de Wisconsin. Madison, Estados Unidos de América. Contacto: Marlén Martínez-Gutiérrez, [mmartinezg@pecet-colombia.org](mailto:mmartinezg@pecet-colombia.org)

## PIF-35. Detección de anticuerpos neutralizantes para virus fiebre amarilla por una prueba de microneutralización cuantificada por Cell-ELISA

Deisi J. Rave-Pérez\*, Andrea I. Trujillo-Correa†, Marlén Martínez-Gutiérrez‡

### INTRODUCCIÓN

Las virosis tropicales emergentes son un serio problema de salud pública en regiones de todo el mundo, incluido nuestro país. Entre ellas encontramos las causadas por el virus dengue (DENV) y el virus de fiebre amarilla (YFV), ambos pertenecientes a la familia Flaviviridae. La fiebre amarilla es una enfermedad reemergente transmitida por mosquitos y que se caracteriza por falla renal, hepática, miocárdica y hemorragias generalizadas. La forma más adecuada de evaluar inmunidad frente a este virus es determinar anticuerpos neutralizantes (AcN) debido a que evitan que el virus ingrese a la célula, bloqueando la infección. El ensayo más utilizado para la detección de AcN es la prueba de neutralización por reducción de la placa (PRNT), la cual está sujeta al error dependiente del observador. Adicionalmente, se realiza en placas de cultivo de seis pozos, lo que implica el uso de cantidades mayores de reactivos. Por esta razón es necesario optimizar técnicas de neutralización que muestren mayores ventajas que la técnica actual de PRNT.

### OBJETIVO GENERAL

Optimizar una técnica de microneutralización para YFV por una prueba de Cell-ELISA.

### METODOLOGÍA

Se utilizaron *pool* de sueros de voluntarios vacunados y no vacunados contra el YFV para la validación de la técnica de microneutralización. Para ello, se sembraron 25.000 células VERO por pozo en placas de 96 pozos. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas en base 2 por cuadruplicado de los sueros de los voluntarios (1:25 hasta 1:800). Estas diluciones se mezclaron con un volumen igual de una cepa vacunal de YFV 17D (dilución 1:10) y se dejaron incubar por UNA hora a 37°C. Después de la incubación, esta mezcla se puso sobre las células sembradas y se incubó por seis días a 37°C. Se dejaron pozos control negativos (sin suero de voluntarios y sin virus o con sueros de voluntarios no vacunados). Al finalizar este tiempo se procesaron las placas a través de un ensayo inmunoenzimático espectrofotométrico (Cell-ELISA) cuantificando la proteína viral con anticuerpos monoclonales específicos, se utilizó un sistema de revelado por peroxidasa con un sustrato cromogénico soluble - tetrametilbenzidina (TMB).

### RESULTADOS

Encontramos que los sueros de los voluntarios vacunados son capaces de neutralizar la cepa vacunal de YFV a una dilución de 1:50. Esta neutralización es tres veces mayor en comparación con los sueros control negativo. La técnica de microneutralización cuantificada por Cell-ELISA mostró buena correlación con la técnica de neutralización estándar (PRNT), con mayores ventajas con respecto a esta: 1) La lectura se hace en un espectrofotómetro, lo que origina un valor de absorbancia que no depende del observador; 2) Se realizó en menor tiempo (seis días frente a nueve días en la técnica de PRNT), y 3) El gasto de reactivos fue menor por realizarse en placas de cultivo de 96 pozos.

### CONCLUSIONES

La técnica de microneutralización cuantificada por Cell-ELISA presenta mayores ventajas que la técnica de cuantificación estándar (PRNT) para la detección y cuantificación de anticuerpos neutralizantes dirigidos contra YFV. Esta técnica podría también emplearse para la microneutralización de DENV y de otros virus de importancia en nuestro país.

### PALABRAS CLAVES

Anticuerpos neutralizantes. Cell-ELISA. Virus fiebre amarilla.

\*Estudiante de pregrado, Programa de Microbiología y Bioanálisis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Estudiante de Doctorado, Posgrado de Biología, Universidad de Antioquia. ‡Coordinadora Unidad de Virosis Tropicales Emergentes, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia. Docente cátedra Universidad de Antioquia. Contacto: Marlén Martínez-Gutiérrez, mmartinezg@pecet-colombia.org

## PIF-36. Efecto antiviral de la lovastatina sobre la infección por virus dengue 2: estudios *in vitro* e *in vivo*

Marlén Martínez-Gutiérrez\*, Jaime Castellanos-Parra†, Jorge Osorio‡, Juan C. Gallego-Gómez§

### INTRODUCCIÓN

Las estatinas son fármacos que inhiben la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMGCoA) reductasa, produciendo la disminución del colesterol o causando efectos pleiotrópicos explicados principalmente por la prenilación de proteínas celulares, algunas de las cuales participan en los ciclos replicativos de diversos agentes virales, como el del virus dengue (DENV). Debido a que no existe una vacuna licenciada para prevenir el desarrollo de la enfermedad o un tratamiento específico para combatirla, la búsqueda de medicamentos que puedan inhibir la infección es una prioridad de investigación.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la Lovastatina (LOV) sobre la replicación del DENV en dos modelos *in vitro* (células VERO, fibroblastos y HMEC, endoteliales) y en un modelo *in vivo* (ratones knockout AG129, deficientes en interferón, IFN  $\alpha/\beta$  y  $\gamma$ ).

### METODOLOGÍA

Las células se sometieron a diferentes tratamientos con LOV: Antes (PRE), durante (TRANS) y después (POST) de la infección con DENV-2 cepa Nueva Guinea. Los sobrenadantes se recolectaron para hacer titulación por plaqueo, y las monocapas se procesaron por Cell-ELISA para cuantificar proteína viral y por RT-qPCR para cuantificar genomas virales. Por otro lado, grupos de ocho ratones AG129 (6 a 8 semanas), se sometieron a dos esquemas de tratamiento: a) Tratados diariamente con lovastatina por tres días antes de infectarse con DENV-2, y b) Infectados con DENV-2 y posteriormente tratados por varios días (1, 2, 3, 4, 5, 6 días). En todos los casos se administró LOV a 200 mg/kg/día por vía oral y la infección se hizo por vía intraperitoneal. A los tres días postinoculación viral se obtuvieron sueros para cuantificar viremia. Los animales se monitorizaron diariamente, los signos clínicos se describieron y se evaluó la supervivencia hasta que se sacrificaron los animales.

### RESULTADOS

En pretratamiento y postratamiento hubo una reducción en la producción de partículas virales (80% para HMEC y 25% para VERO), y por otra parte, en las mismas células y con los tratamientos, hubo un notable incremento de dos a nueve veces en la cantidad de +RNAs virales, mientras que la proteína viral (POST) sólo aumentó de 13%-23%. Estos resultados (incremento de genomas y proteína viral, con una reducción de viriones infecciosos) muestran un efecto antiviral de la LOV sobre la infección por el DENV *in vitro*, representado probablemente en una dificultad en el ensamblaje más que en la replicación, dado que muchos genomas y proteínas virales no están tomando la vía normal de ensamblaje viral. Estos resultados se corroboraron por microscopía fluorescente, en donde se observa proteína viral acumulada en el interior de las células infectadas. Por otro lado, en ninguno de los grupos tratados con LOV, se encontró una reducción significativa de la viremia, sin cambios en los grupos tratados con LOV después de la infección, se encontró un aumento significativo en los días de supervivencia. Estos resultados, en conjunto, nos permiten plantear que la LOV estaría afectando el proceso de ensamblaje del virus, retardando en los ratones el proceso de maduración viral que permite la liberación sincronizada y masiva a la sangre, dando tiempo para que la respuesta inmune controle eficazmente la infección sin causar daños colaterales y muerte en los animales tratados. Siendo la LOV un fármaco tan seguro y de amplio uso, estudios clínicos en pacientes podrían ayudar a entender sus beneficios reales frente a la infección natural por DENV.

### PALABRAS CLAVES

Antivirales. Estatinas. Ratones AG129. Virus Dengue.

\*Estudiante de Doctorado, Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET. †Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. ‡Profesor Asistente, Universidad de Wisconsin, Madison, Estados Unidos de América. §Profesor Facultad de Medicina Universidad de Antioquia. Contacto: Marlén Martínez-Gutiérrez, mmartinezg@pecet-colombia.org

## PIF-37. Evaluación del efecto antiviral de la doxiciclina sobre la infección por virus dengue

Oladier Hoyos-Bastidas\*, Andrea I. Trujillo Correa†, Luis A. Villar‡, Marlén Martínez-Gutiérrez§

### INTRODUCCIÓN

El dengue es, en la actualidad, la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en el mundo. La causa es el virus dengue (DENV), perteneciente a la familia Flaviviridae, género flavivirus y es transmitida por algunos mosquitos del género *Aedes*, principalmente *Aedes aegypti*, el cual se encuentra ampliamente distribuido en las zonas tropicales de América Central, América del Sur, Asia y África. Actualmente, sólo están disponibles tratamientos de soporte para la enfermedad causada por DENV. Estudios recientes involucran la búsqueda *in silico* de blancos terapéuticos en la proteína de envoltura (E) del virus. Gracias a los modelos virtuales se han descubierto algunas estructuras que se pueden acoplar al dominio extracelular de la proteína E, como algunas tetraciclinas, lo que permite postularlas como posibles inhibidores de la infección.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la doxiciclina sobre la infección con DENV en células VERO.

### METODOLOGÍA

La actividad citotóxica de la doxiciclina se evaluó sobre la línea celular VERO, utilizando concentraciones de 1.000, 500, 250 y 125  $\mu\text{M}$ , durante 24 horas, mediante el método colorimétrico del MTT. La actividad antiviral se evaluó por medio de Cell-ELISA, el cual ayudó a determinar la inhibición de la proteína E del DENV generada por la doxiciclina. Paralelamente en los sobrenadantes de los cultivos celulares infectados se determinó el comportamiento de las partículas virales infecciosas por medio de un ensayo de reducción de placa y la inhibición de la replicación viral mediante qPCR-*Real Time*. En los ensayos de actividad antiviral se evaluaron las mismas concentraciones del fármaco, aplicando el tratamiento con doxiciclina en las etapas antes (Pre), durante (Trans) y después (Post) de la infección con el DENV-2. En la etapa antes de la infección, el fármaco se colocó en contacto con las células durante 48 horas antes de ser expuesto al virus; en la etapa durante la infección, el virus y el fármaco se pusieron en el cultivo al mismo tiempo, y en la etapa posterior a la infección, el fármaco se adicionó a las células después de ser infectadas con el virus.

### RESULTADOS

Los resultados obtenidos por la técnica de MTT, mostraron que la doxiciclina en concentraciones inferiores a 500  $\mu\text{M}$ , no tiene un efecto tóxico sobre las células. El cell-ELISA demostró que la doxiciclina que se empleó para tratar las células infectadas con DENV posee un efecto inhibidor moderado sobre la proteína viral, comparado con los controles sin fármaco. La qPCR evidenció que el comportamiento del genoma viral cuando el cultivo se trató con el fármaco tiene una tendencia a disminuir en los diferentes momentos del tratamiento (pre, trans y post), principalmente en el tratamiento trans, donde se observa la mayor disminución de RNA viral. Finalmente, el ensayo de reducción de placa mostró que las partículas virales infecciosas se logran disminuir casi en un 98% cuando los cultivos celulares se tratan con doxiciclina.

### CONCLUSIONES

El posible éxito del tratamiento con doxiciclina es que podría afectar tanto los pasos de entrada, como replicación y salida del DENV-2 en ensayos *in vitro*. Teniendo en cuenta que este es un fármaco licenciado, es más factible hacer la evaluación del fármaco en ensayos clínicos.

### PALABRAS CLAVES

Antivirales. Doxiciclina. Virus dengue.

\*Estudiante de pregrado, Programa de Microbiología Industrial, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Estudiante de Doctorado, Posgrado de Biología, Universidad de Antioquia. ‡Docente Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander. §Coordinadora Unidad de Virosis Tropicales Emergentes, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECT. Universidad de Antioquia. Docente cátedra Universidad de Antioquia. Contacto: Marlén Martínez-Gutiérrez, mmarinezg@pecet-colombia.org

## PIF-41. Parasitosis intestinales y su relación con factores higiénicos y sanitarios en habitantes de las Veredas Río Abajo, Los Pinos, Rionegro, Antioquia, 2008

Sebastián Hernández-Rendón\*, Mauricio Chaurra-Silva\*, Juan D. Montoya Giraldo\*, Ana M. Urrego-Álvarez†, Leonardo Ríos-Osorio‡§

### INTRODUCCIÓN

En todo el mundo, el 80% de las enfermedades infecciosas parasitarias gastrointestinales y una tercera parte de las defunciones causadas por éstas, se deben al uso y consumo de agua insalubre. La falta de higiene y carencia, o mal funcionamiento, de los servicios sanitarios son algunas de las razones por las cuales la diarrea continúa representando un importante problema de salud pública en países en desarrollo.

### OBJETIVO GENERAL

Relacionar la presencia de parasitosis intestinales en los habitantes de las veredas Río abajo, Los Pinos con factores higiénicos y sanitarios.

### METODOLOGÍA

Estudio descriptivo de corte transversal realizado con población de la vereda Río Abajo, Los Pinos. A todos los individuos se les realizó examen coprológico por lectura directa en fresco y lugol, y por concentración con la técnica de formol-éter en el Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

### RESULTADOS

La frecuencia de infección por parásitos intestinales fue 74,4% en la vereda Río Abajo y 78,6% en Los Pinos. Se obtuvo relación significativa por  $\chi^2$  cuadrado entre parasitosis intestinales y lavado de manos para el consumo ( $p < 0,013$ ), almacenamiento de basuras ( $p < 0,001$ ) y dolor abdominal ( $p < 0,0345$ ). La presencia de *Blastocystis* spp. fue significativa y se relacionó con vómito ( $p < 0,0138$ ), náusea ( $p < 0,0061$ ), dolor de estómago ( $p < 0,0313$ ), almacenamiento de basuras ( $p < 0,0005$ ) y conexión de agua ( $p < 0,0219$ ).

### CONCLUSIONES

Se evidencia la necesidad de realizar estudios sobre patogenicidad de *Blastocystis* spp., reconocimiento y discriminación de especies circulantes para poder diferenciar su grado de virulencia.

### PALABRAS CLAVES

Infecciones por *Blastocystis*. Parásitos intestinales. Población rural. Riesgo sanitario. Técnicas y procedimientos de laboratorio. Transmisión.

\*Microbiólogo y Bioanalista, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Estudiante de Microbiología y Bioanálisis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. ‡Profesor, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. §Grupo de Investigación Salud y Sostenibilidad, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: Leonardo A. Ríos, mleonardo@udea.edu.co

## PIF-49. Estudio *in vitro* de nuevos derivados porfirínicos en terapia fotodinámica como alternativa terapéutica en Leishmaniasis cutánea

Viviana M. Taylor-Orozco\*, David L. Cedeño†, Diana L. Muñoz-Herrera\*, Marjorie A. Jones‡, Timothy D. Lash‡, Iván D. Vélez-Bernal\*, Sara M. Robledo-Restrepo\*

### INTRODUCCIÓN

Los medicamentos disponibles para el tratamiento de la leishmaniasis presentan inconvenientes relacionados con toxicidad, disminución en la eficacia debido a altas dosis, vías de administración y esquemas prolongados que afectan la adherencia al tratamiento y aparición de resistencia. Estas desventajas han estimulado la búsqueda de alternativas terapéuticas para tratar esta enfermedad; surge así un tratamiento alternativo basado en la incapacidad del parásito para sintetizar el grupo HEMO, que es requisito alimenticio del parásito y debe adquirirse desde el hospedero. Así, nuevos derivados porfirínicos y sistemas de transporte de porfirinas como liposomas, pueden adaptarse para que *Leishmania* los incorpore en lugar del HEMO, con interrupción del metabolismo y causando su daño, deterioro y muerte.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in vitro* la citotoxicidad (células U-937 y macrófagos peritoneales de hámster) y eficacia de nuevos derivados porfirínicos sobre amastigotes de leishmanias patógenas.

### METODOLOGÍA

Se evaluaron seis derivados porfirínicos (tiadiazolebenzoporfirinas y acenaftoporfirinas). Para la síntesis de tiadiazolebenzoporfirinas se preparó un éster tripirrano que se condensó con un dialdehído pirrólico en presencia de ácido para generar la porfirina. Para las acenaftoporfirinas los nitroaromáticos se condensaron con isocianoacetatos en presencia de tetrahidrofurano para obtener acenaftoporirroles como compuestos cristalinos estables. Las formulaciones liposomales estuvieron conformadas por: fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol y colesterol. La citotoxicidad de estos compuestos se evaluó *in vitro*, en la línea celular U937 y en macrófagos peritoneales de hámster por el método enzimático-calorimétrico MTT. La efectividad en y sin liposomas se evaluó en amastigotes axénicos de: *L. panamensis*, *L. braziliensis* y *L. amazonensis*. La efectividad de los amastigotes intracelulares de *L. panamensis* se evaluó por citometría de flujo. Todas las evaluaciones se hicieron con y sin luz.

### RESULTADOS

Los compuestos sin liposoma mostraron alta efectividad en amastigotes axénicos de las tres especies de *Leishmania*, con aumento significativo en su actividad al exponerlos a la luz. La acenaftoporfirina ODP fue el compuesto más efectivo. En los compuestos con liposoma se observó un aumento en la concentración efectiva 50 sobre amastigotes axénicos de *L. panamensis* y aumento de la sensibilidad a los compuestos con luz. En amastigotes intracelulares de *L. panamensis* se observó buena efectividad de los compuestos, estimulada por la luz y el ODP tuvo la mayor efectividad, inclusive comparada con glucantime. Los compuestos mostraron alta citotoxicidad en la línea celular U937, con y sin liposoma, con y sin luz, mientras que en los macrófagos peritoneales los compuestos no fueron citotóxicos y la toxicidad fue aún menor en liposomas. No se observaron diferencias significativas entre los compuestos con y sin luz.

### CONCLUSIONES

Los nuevos derivados porfirínicos son efectivos en la oscuridad y esta efectividad se incrementa por exposición a la luz (efecto fotodinámico). Las formulaciones liposomales disminuyen la citotoxicidad y mejoran ligeramente la selectividad del compuesto en la oscuridad. Estos compuestos son poco citotóxicos sobre cultivos primarios como macrófagos peritoneales de hámster y efectivos sobre varias especies de *Leishmania*.

### PALABRAS CLAVES

Actividad leishmanicida. Citotoxicidad. Derivados porfirínicos. Leishmania.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Departamento de Química, Illinois State University, Normal Illinois. Contacto: Sara Robledo, srobledo@guajiros.udea.edu.co

## PIF-53. Diagnóstico molecular de la leishmaniasis en Colombia empleando una PCR isotérmica y su potencial utilidad en condiciones de campo

Rafael G. Villarreal J.\*, Marcel Marín\*, Iván Darío Vélez\*, Carlos Muskus\*

### INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis afecta más de 12 millones de personas en 88 países del mundo (72 en vía de desarrollo), y en su gran mayoría pertenecientes al área rural, esto se constituye en un impedimento para su desarrollo socioeconómico. En Colombia se presenta la leishmaniosis cutánea, mucocutánea y visceral. Entre las especies más prevalentes se encuentran *Leishmania (V.) panamensis* y *Leishmania (V.) braziliensis*, especies a las que se le atribuye más de un 90% de la totalidad de los casos reportados.

En Colombia el número de casos va en aumento en los últimos cinco años, pasando de tener 5.000 casos a casi 20.000 casos en el 2008, por tanto es de suma importancia contar con nuevas pruebas de diagnóstico eficaces, dado que los procedimientos para diagnosticar la enfermedad toman tiempo, son traumáticos para el paciente y difíciles de realizar, entre otras limitantes. En la actualidad, las mejores alternativas de diagnóstico son las técnicas moleculares; entre éstas, la PCR, por presentar alta especificidad y sensibilidad; no obstante, la PCR muestra como inconveniente la necesidad de un termociclador en su protocolo de ejecución, lo que la imposibilita para utilizarse para el diagnóstico de rutina en laboratorios, así como en condiciones de campo en la mayoría de los países endémicos.

### OBJETIVO GENERAL

Diagnosticar e identificar molecularmente las especies de *Leishmania* causantes de esta patología en Colombia, mediante el uso de PCR isotérmica dirigida al gen que codifica para la proteinasa de cisteína clase B y su potencial utilidad al diagnóstico en condiciones de campo.

### METODOLOGÍA

Se seleccionó como blanco de amplificación el gen de la proteasa de cisteína (CPB). Los oligonucleótidos se diseñaron empleando el programa primer3, siguiendo las especificaciones que deben tener estos para la reacción isotérmica. Los oligonucleótidos seleccionados se sometieron a evaluaciones con distintos programas bioinformáticos para verificar homología, formación de estructuras secundarias, homo y heterodímeros, entre otras características.

La PCR isotérmica se evaluó experimentalmente empleando ADN purificado de diferentes especies de los dos subgéneros *Leishmania* y *Viannia*, ADN purificado obtenido de muestras clínicas (biopsias o raspados de lesiones), tanto humanas como de perros y en especies de *Lutzomyia* infectadas artificialmente en el laboratorio.

### RESULTADOS

Con la PCR isotérmica se amplificó específicamente una región de 108 pb de la secuencia blanco empleada tanto de ADN purificado de parásitos en cultivos, como de muestras clínicas y de vectores infectados en el laboratorio.

### CONCLUSIÓN

El sistema de PCR isotérmica, adaptado para la detección de ADN de *Leishmania*, puede emplearse para la detección de todas las especies de *Leishmania* existentes en Colombia, a partir de muestra de paciente, de reservorio y de vectores, convirtiéndose en un procedimiento alternativo de diagnóstico de la enfermedad por presentar alta especificidad, sensibilidad y rapidez, además podrá emplearse en el diagnóstico de la leishmaniasis en condiciones de campo, mediante el empleo de dispositivos portátiles, logrando así el diagnóstico *in situ* de la enfermedad.

### PALABRAS CLAVES

Diagnóstico. Dispositivo portátil de diagnóstico *in situ*. Leishmaniasis. PCR isotérmica.

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Facultad de Medicina, Sede de Investigación Universitaria, SIU, Universidad de Antioquia. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Contacto: Rafael Villarreal, rajvu177@yahoo.com

## PIF-58. Isolation of fraction from *Botriechis schlegelii* and *Porthidium nasutum* with antimicrobial activity

Leidy J. Vargas\*, Arley C. Patiño\*, Jaime A. Pereañez\*, Vitelbina Nuñez\*†

### INTRODUCTION

After six decades of widespread antibiotic use, bacterial pathogens of human and animal origin are becoming increasingly resistant to many antimicrobial agents, for this reason it has become a necessity to search for alternatives. Animal venoms constitute one of the richest sources of biologically and pharmacologically active substances found in nature. These substances are simultaneously present in single venom, ensuring its usefulness for the producing organism.

### OBJECTIVE

The aim of this work was to ascertain whether two Colombian snake venoms have antibacterial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

### METHODOLOGY

Venoms were obtained from specimens maintained in captivity at the Serpentarium of the Universidad de Antioquia. Crude venoms were fractionated by molecular exclusion chromatography on Sephacryl S-200, dialysed, lyophilized and tested. Electrophoretic profiles of the fractions and the venoms were performed in SDS-PAGE 12% in reducing and not reducing conditions. The antibacterial activity was evaluated using an agar diffusion assay. Culture plates containing Mueller-Hinton agar (MERCK) were inoculated with 100 µL of the bacterial *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) containing the 0.5 MacFarland standard inoculum. Ten minutes was allowed for the surface of the agar to dry before adding 30 µL of the venom or fraction. Plates were incubated and observed at 24-h for bacterial growth. Bacterial diameter zones of growth inhibition were measured in mm. Clorphanicol (10ug/uL) and saline solution (0.9%) were used as a control.

### RESULTS

Once venoms were fractionated, six fractions were obtained for the venom of *P. nasutum* and four fractions for *B. schlegelii*, each named I, II, III, IV, V, VI depending on exclusion order. Each fraction was tested and only one fraction of each venom was active, thus fraction II from *P. nasutum* (0.25 mg/30 µL) against *S. aureus* induced a inhibition halo 11 mm, and fraction I from *B. schlegelii* (1 mg/30 µL) against *E. coli* induced a inhibition halo 9 mm. SDS-PAGE electrophoretic profile demonstrated that fraction I of *B. schlegelii* and Fraction II of *P. nasutum* have proteins with high and medium molecular weight (~ 21- 100 KDa).

### CONCLUSIONS

Crude venoms and one of their fractions showed antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

### KEY WORDS

Antimicrobial activity. *Botriechis schlegelii*. Fractions. *Porthidium nasutum*.

\*Programa Ofidismo y Escorpionismo, Universidad de Antioquia. †Docente Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: Jobana Vargas y Vitelbina Nuñez, jobana2104@gmail.com vitelbina.nunez@siu.udea.edu.co

## PIF-59. Adaptación de la Técnica de *Western Blot* a las condiciones locales para el diagnóstico de la toxoplasmosis en El Laboratorio del Giepi

Ana M. Olave-Velandia\*†, Paula A. Florez-Urbe\*†, Sonia P. Agudelo-Lopez\*‡

### INTRODUCCIÓN

Las pruebas más utilizadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA), la aglutinación de alta sensibilidad (ADHS) y recientemente para la detección de la IgG se ha utilizado la técnica de *western blot*, para perfilar los anticuerpos específicos presentes en el curso de la infección de *Toxoplasma gondii* en el sida; ésta ha venido ofreciendo un valioso apoyo para el diagnóstico serológico de la infección, encontrando diferentes y complejos patrones antigénicos del parásito reaccionando con anticuerpos específicos.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la técnica de *Western Blot* para el diagnóstico de la toxoplasmosis.

### METODOLOGÍA

Se utilizó un *pool* de sueros de pacientes con sintomatología compatible con toxoplasmosis y que tuvieran una inmunofluorescencia indirecta (IFI) reactiva para toxoplasmosis. Se utilizó un *pool* de sueros de personas sanas que tuvieran una inmunofluorescencia indirecta (IFI) no reactiva para toxoplasmosis. Ambos controles se evaluaron a una dilución 1:10, 1:20, 1:40, 1:100. Se utilizó el antígeno cepa RH de *Toxoplasma gondii* obtenido en cultivo de células VERO a las siguientes concentraciones 78,5 µg, 157 µg, 235 µg, 280 µg; cuantificadas por el método de Bradford (Bio Rad).

La separación electroforética de las proteínas se llevó a cabo en un sistema Mini-Protein III (Bio-rad). Los extractos de *Toxoplasma gondii*, se separaron electroforéticamente en un gel de poliacrilamida al 12% (SDS-PAGE) bajo condiciones reductoras. Las fracciones separadas electroforéticamente se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa de 0,2 µm. La reacción inmunológica se realizó en tiras de nitrocelulosa de 3 mm de ancho. La reacción se reveló con diaminobenzidina unido a metal (Pierce). Como segundo anticuerpo se utilizó la Proteína A, diluciones 1:500 y 1:1.000.

### RESULTADOS

Al analizar los resultados de los *immunoblot*, se encontró que la mejor condición para el *western blot* es cuando se utiliza una concentración de antígeno de 200 µg, el anticuerpo primario diluido 1:20 y el anticuerpo secundario a una dilución 1:500. Bajo estas condiciones se puede considerar reactivo todo suero que reaccione con al menos dos bandas que tengan un peso molecular por debajo de 40 kDa y por encima de 10kDa

La proteína A reaccionó efectivamente con los sueros humanos y de cerdos ratificándose su alta afinidad por los anticuerpos tipo IgG de humanos, de burro, conejo, perro, cerdo y cobbya, de ahí la importancia de su utilización, ya que puede reaccionar tanto con las IgG de los humanos como la de algunas animales como los que se mencionaron anteriormente.

### CONCLUSIONES

Según los resultados que se obtuvieron, se dispone de una herramienta útil para el diagnóstico de la toxoplasmosis en humanos y que, adicionalmente, se podría utilizar para el diagnóstico de toxoplasmosis en animales que puedan estar vinculados como fuente de transmisión por ser parte del consumo de los humanos.

### PALABRAS CLAVES

Diagnóstico. Toxoplasmosis. *Western blot*.

\*Estudiante, Escuela de Microbiología y Biotecnología, Universidad de Antioquia. †Investigador, Grupo de Parasitología, Corporación Académica para el Estudio de las Patologías Tropicales, CAEPT. ‡Jefe Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Contacto: Ana María Olave, olave.anita@gmail.com

## PIF-63. Utilización de una metodología molecular para el diagnóstico de sífilis: PCR en tiempo real

David Carreño\*, Diana Jiménez\*, Leidy V. Ramírez-Ladino†, Maryury A. Brown-Jaque‡, Gladys Pinilla-Bermúdez§, Jeannette Navarrete-Ospina§, Liliana Muñoz-Molina§

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión sexual se consideran un problema de salud pública. En Colombia, la sífilis congénita en el año 2005 se presentó en 1,5 de cada 1.000 nacidos vivos. El neonato, por tener un sistema inmunológico inmaduro y debido a la variabilidad genética de proteínas treponémicas, hace que sea más susceptible a adquirir esta infección. El diagnóstico de laboratorio se realiza por medio de pruebas no treponémicas y treponémicas, las cuales presentan baja sensibilidad. La PCR en tiempo real ha sido la opción más eficiente a utilizar, ya que ofrece una alta reproducibilidad, sensibilidad y especificidad.

### OBJETIVO GENERAL

Estandarizar y evaluar la técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico de sífilis.

### METODOLOGÍA

Mediante análisis bioinformáticos, se diseñaron *primers* y sondas que permitieran la amplificación del gen *polA* de *Treponema pallidum* (subespecie *pallidum*). A partir de muestras de ADN de la bacteria se realizó amplificación mediante PCR convencional y PCR en tiempo real. Con el análisis de datos bibliográficos se determinó la muestra biológica ideal para implementar el diagnóstico molecular de sífilis neonatal.

### RESULTADOS

Se establecieron las condiciones de PCR convencional y PCR en tiempo real para la obtención de un amplicon de 125 pb (gen *polA*); se probaron los sistemas de detección sonda Taqman donde se consideró una muestra positiva a partir de un Ct de 37y con el sistema SYBR Green se obtuvo una curva melting específica a 81°C.

### CONCLUSIONES

se estableció que la detección mínima del número de copias de ADN del *Treponema pallidum* es de  $2,42 \times 10^3$ ; es decir, que la sensibilidad alcanzada es de una bacteria por muestra. Por otra parte, mediante análisis de datos bibliográficos, se determinó que la placenta es posiblemente la muestra ideal para el diagnóstico de sífilis neonatal.

### PALABRAS CLAVES

Gen *polA*. qPCR. Sífilis congénita. *Treponema pallidum*.

\*Bacteriólogo. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Bogotá, Colombia. †Estudiante VII semestre Programa de Bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Bogotá, Colombia. ‡Joven Investigadora COLCIENCIAS, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Bogotá, Colombia. §Docentes Programa de Bacteriología Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. Contacto: Leidy V. Ramírez-Ladino, cristalemilia@botmail.com

## PIF-61. Evaluación del estado nutricional de hijos de mujeres con malaria gestacional en Turbo, Antioquia

Olga M. Agudelo-García\*, Maritza Lemos-Cuesta\*, Liliana Zuliani-Arango\*, Yessica Agudelo-Zapata\*, Yineth Agudelo-Zapata\*, Ana C. Gómez-Correa\*, Javier M. Sierra-Abaunza\*, Adriana M. Correa-Botero\*, Jaime Carmona-Fonseca\*

### INTRODUCCIÓN

La infección con parásitos del género *Plasmodium* en mujeres en embarazo pueden causar malaria gestacional, malaria placentaria, o ambas. Varios estudios han revelado que la malaria placentaria ocasiona cambios y daños tisulares, además, parto prematuro, preeclampsia, bajo peso al nacer y retardo en el crecimiento intrauterino, que podrían estar alterando el estado nutricional de los niños a largo plazo. En Urabá y Bajo Cauca, las regiones que producen más de 90% del paludismo en el departamento de Antioquia, el riesgo de desnutrición crónica es de 63% en los niños de 4 a 9 años de edad o 42% en los de 3 a 11,5 años, en el Bagre y en Turbo es 63% en los de 3 a 11,5 años. Evaluar el estado nutricional de los hijos de mujeres con malaria gestacional contribuye en el desarrollo de estrategias que permitan evaluar las repercusiones de la malaria en el embarazo y de la malaria adquirida después del nacimiento en el estado de salud e incluso en el desempeño integral del niño.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar, mediante el uso de indicadores estáticos antropométricos, el estado nutricional de niños de 2,5 a 4 años de edad nacidos de mujeres que tuvieron, o no, malaria gestacional.

### METODOLOGÍA

Diseño descriptivo, transversal y prospectivo. En un estudio previo hallamos un grupo de mujeres con malaria gestacional, junto con otro de mujeres sin la enfermedad. Para la presente evaluación se procedió a buscar una muestra de las familias de mujeres con y sin malaria gestacional, según el anterior estudio, y a hacer el examen de sus hijos nacidos del embarazo afectado o no por la malaria. Las familias evaluadas estaban en áreas urbana y rural del municipio de Turbo (zona de Urabá, departamento de Antioquia). De un total de 68 familias incluidas en la lista inicial de búsqueda (32 con historia de malaria gestacional y 36 sin esa enfermedad), se logró hallar a 46 (68%), dos y medio a cuatro años después del episodio malarial gestacional. De cada niño se obtuvo la fecha de nacimiento y se calculó la edad en meses. El peso corporal, sin ropa exterior y sin zapatos, se midió con báscula electrónica con 100 kg de capacidad y 100 g de sensibilidad. La longitud se tomó acostado y sin zapatos, y se usó un estadiómetro de madera, con 0,1 cm de sensibilidad. Las mediciones de peso y estatura se registraron dos veces cada una. Se calcularon los indicadores antropométricos peso para la talla (peso/talla) para el riesgo de desnutrición aguda, peso para la edad en meses (peso/edad) para el riesgo de desnutrición global, y talla para la edad en meses (talla/edad) para el riesgo de desnutrición crónica, todos ellos con el programa EpiNut de EpiInfo® 6.00, que usa los valores de referencia de NCHS (*National Center for Health Statistics*).

### RESULTADOS

No hubo diferencia alguna entre los niños según el antecedente materno de malaria gestacional; 46% residía en área rural y 54% en zona urbana; la edad en el momento del estudio nutricional fue  $38,8 \pm 4,1$  meses (promedio  $\pm$  desviación típica); con el programa EpiNut®, los índices antropométricos estáticos mostraron estos valores: talla/edad fue menor de -2 desviaciones estándar en 37%; peso/edad fue menor de -2 desviaciones estándar en 17,4% y peso/talla fue menor de -2 en cero (en 26,1% fue menor de -1).

### CONCLUSIONES

La frecuencia de riesgo desnutrición crónica en los niños de 2,5 a 4 años residentes en Turbo, nacidos de madre con o sin malaria gestacional, es muy alta (37%) medida con menos dos desviaciones estándar, sin que existan diferencias en el antecedente materno de malaria gestacional.

### PALABRAS CLAVES

Desnutrición. Embarazo. Malaria. Malaria gestacional.

\*Grupo Salud y Comunidad, César Uribe Piedrabita (Universidad de Antioquia). Contacto: Olga Agudelo García, momag204@gmail.com

## PVE-60. Distribución parcial de *Fasciola hepatica* en bovinos y moluscos en municipios del norte antioqueño

Natalia Valencia-López\*, Catalina Gómez-Carmona‡, Johanna Romero-Palacio‡, Luz E. Velásquez-Trujillo§

### INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una zoonosis causada por el tremátodo *Fasciola hepatica*, que afecta la salud humana y animal generando pérdidas económicas en todo el mundo. En Colombia afecta principalmente a los bovinos de las zonas alto andinas, donde las condiciones ambientales y el manejo de los rebaños favorecen el establecimiento de focos de fasciolosis y su propagación. Las pérdidas millonarias en el sector ganadero del país obedecen a la disminución en la fertilidad, en la producción de leche y de carne y al decomiso de los hígados infectados. En la producción lechera colombiana están involucrados más de 5 millones de bovinos, y se calcula que el 25% de ellos están parasitados por *F. hepatica*. Esta situación hace evidente la necesidad de conocer la distribución geográfica del dígeneo en sus hospedadores vertebrado e invertebrado, con el fin de diseñar y establecer las estrategias de vigilancia, control y prevención de la parasitosis.

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la distribución geográfica de *F. hepatica* en los bovinos y en sus moluscos hospedadores en seis municipios lecheros del norte Antioqueño

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional directo de tipo analítico en predios de los municipios de San Pedro de los Milagros, Entrerriós, Donmatías, San José de la Montaña, Santa Rosa de Osos y Belmira. El tipo de muestreo fue estratificado sin asignación aleatoria y se distribuyó según el tamaño de las veredas, el número de predios por vereda y el tamaño de los predios, de acuerdo al número de vacas en cada uno.

Se recolectaron de forma aleatoria muestras de materia fecal bovina para búsqueda de huevos de *F. hepatica* mediante la técnica de Dennis. En cada sitio de muestreo se buscaron y recolectaron moluscos acuáticos, que fueron clasificados taxonómicamente. Aquellos que correspondieron a especies descritas como hospedadoras de *F. hepatica*, se disecaron para la búsqueda de larvas del tremátodo en sus partes blandas.

Los análisis estadísticos se realizaron con la ayuda del paquete SPSS® 15.0 para Microsoft Windows® y los mapas con DIVA®.

### RESULTADOS

La prevalencia de infección por *F. hepatica* en los bovinos fue la siguiente: San Pedro de los Milagros 25,9%, Entrerriós 14,9%, Donmatías 29%, San José de la Montaña 0,3%, Santa Rosa de Osos 7,34% y Belmira 16,96%.

Además en los municipios, se encontraron moluscos de la familia Lymnaeidae, distribuidos de la siguiente manera: San Pedro de los Milagros 15 veredas con moluscos de 28 muestreadas, Entrerriós 12 veredas con moluscos de 13 muestreadas, Donmatías 14 veredas con moluscos de 19 muestreadas, Santa Rosa de Osos 2 veredas con moluscos de 51 muestreadas, Belmira 3 veredas con moluscos de 20 muestreadas. En San José de la Montaña no se encontraron moluscos.

### CONCLUSIÓN

Los mapas evidencian la amplia distribución geográfica de focos de fasciolosis en la zona evaluada y demuestran el riesgo de infección para otras especies domésticas, para las personas que manejan los hatos y que habitan en el contexto lechero, e incluso para la fauna silvestre. De otro lado, se manifiesta la falta de mecanismos para su control y, por ende, la necesidad de iniciar la construcción de diversas estrategias para disminuir las poblaciones del parásito.

### PALABRAS CLAVES

Bovinos. Distribución geográfica. Fasciola hepatica. Lymneidos.

**Nota.** Este proyecto es financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, la Cooperativa Lechera Colanta y La Universidad de Antioquia.

\*Bióloga, candidata a MSc. Grupo de investigación Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ‡Microbióloga y Bioanalista, candidata a MSc. Grupo de investigación Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET. Facultad de Medicina, Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Microbióloga y Bioanalista, Grupo de investigación Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET. Facultad de Medicina, Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. §Bióloga, MSc. Grupos de investigación Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET. Facultad de Medicina, Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Contacto: Luz Elena Velásquez, luzelena333@yaboo.com