

Presentaciones especiales

VIRUS RESPIRATORIOS

PE-01. Evaluación de la expresión de los interferones de tipo I, II y III en células de pulmón infectadas con el metapneumovirus humano

Lilia J. Bernal¹, Eliana P. Calvo², Myriam L. Velandia-Romero², Jaime E. Castellanos^{1,2}

¹ Grupo de Patogénesis Infecciosa, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

El metapneumovirus humano (hMPV) es un agente responsable de infecciones respiratorias en todo el mundo, especialmente en la población pediátrica y en adultos mayores.

Los interferones (IFN) desempeñan un papel crucial en la respuesta inmune mediante el establecimiento de una respuesta antiviral temprana; sin embargo, muchas veces esta respuesta no es suficiente y la replicación viral causa daño en el tejido respiratorio y desencadena la enfermedad grave. La identificación de los mecanismos inductores de la respuesta inmunitaria podría revelar aquellos que la potencian y permiten la resolución de la infección.

En este trabajo se evaluó la expresión de diferentes interferones en el curso de la infección *in vitro* por hMPV. Para ello, se infectaron células A549 de pulmón con hMPV en una multiplicidad de infección (*multiplicity of infection*, MOI) de 0,2 y se las mantuvo en cultivo durante cinco días. Posteriormente, se cuantificó por PCR en tiempo real la producción viral en diferentes momentos posteriores a la infección, así como los cambios en la transcripción de los interferones (alfa, beta, gamma y lambda 1). De manera simultánea, se evaluó y comparó la expresión de estos interferones en células A549 infectadas con virus sincitial respiratorio.

Los resultados mostraron que luego de la inoculación viral, a las 72 horas de la infección, se indujo el pico máximo en la expresión del ARN mensajero para IFN- α (9-veces), IFN- β (8-veces), IFN- γ (4-veces) e IFN- λ 1 (85-veces). En el sobrenadante de células A549 infectadas con hMPV se detectó el IFN- λ 1 mediante ELISA (100 pg/ml a

los 2 días después de la infección, 90 pg/ml a los 4 días después de la infección y 110 pg/ml a los 5 días después de la infección). Estos resultados sugieren que el IFN- λ 1 podría ser el mediador más importante en la respuesta antiviral en células epiteliales, aunque no se puede descartar la actividad de los interferones de tipo I.

..... ✕

PE-02. Enterovirus 68 en niños cubanos con infección aguda del tracto respiratorio

Mayra Muné-Jiménez, Alexander Piñón-Ramos, Belsy Acosta-Herrera, Odalys Valdés-Ramírez, Amely Arencibia-García, Suset Oropesa-Fernández, Clara Savón-Valdés, Grehete González-Muñoz, Guelsys González-Báez, Bárbara Hernández-Espinosa, Rosmery Arrieta-Roque, Ángel Goyenechea-Hernández

Laboratorio Nacional de Virus Influenza y otros Virus Respiratorios, Departamento de Virología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba

El enterovirus 68 (EV68) es un virus asociado con enfermedad respiratoria. El primer enterovirus 68 fue aislado en California en 1962 a partir de muestras tomadas de niños hospitalizados con infección del tracto respiratorio bajo.

En este trabajo se determinó la presencia de EV68 en muestras clínicas recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Virus Influenza y otros Virus Respiratorios y se hizo el análisis filogenético de las secuencias de los virus estudiados. Se analizaron 2.569 muestras clínicas; el diagnóstico molecular de los virus respiratorios se hizo empleando la técnica multiplex RT-PCR. El ARN se extrajo utilizando el kit QIAamp Viral RNA Minikit (Qiagen), y en la detección del ARN viral se empleó la mutiplex RT-PCR anidada. Se obtuvo la secuencia parcial de la región que codifica para las proteínas de la cápside VP4/VP2. El análisis de la secuencia se hizo con el programa MEGA 5.05, y el árbol filogenético se construyó mediante el método de unión al vecino (*neighbor-joining*). El grado de similitud para cada región del genoma se calculó con el programa MEGA 5.05.

Se obtuvieron 107 muestras positivas para EV68 por RT-PCR; de ellas, 77 correspondían a niños entre 0 y 4 años de edad. Las principales manifestaciones clínicas fueron la bronquiolitis, la neumonía y la bronconeumonía; cuatro de las muestras correspondieron a casos fatales. Se encontró una elevada similitud con el EV68 (100 %) en 15 muestras analizadas por secuenciación. El árbol filogenético de la secuencia parcial confirmó, además, que el EV68 detectado se localizó en el mismo grupo filogenético de otras de cepas del mismo enterovirus reportadas en estudios anteriores.

Los resultados demuestran la importancia de la infección por EV68 en niños con infecciones agudas del tracto respiratorio bajo y sugieren que este puede ser un posible agente causal de la enfermedad grave del tracto respiratorio.

..... ✕

PE-03. Surveillance of influenza A genetic markers associated with resistance to oseltamivir in Brazil

R. Matos, B. C. Caetano, M. Mesquita, F. C. Motta, M. M. Siqueira

Laboratório de Vírus Respiratório e Sarampo, IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

Influenza treatment is currently done with neuraminidase inhibitors such as oseltamivir, but influenza viruses are constantly evolving and, therefore, treatment resistance emerges.

Our laboratory, a national influenza center in Brazil, has been monitoring influenza A/H1N1Pdm09 resistance. We have found viruses with the H275Y mutation, some even before treatment, which suggests community transmission, and some with permissiveness mutations favoring viral fitness.

This project aims at monitoring resistant influenza A virus among Brazilian population by analyzing resistance markers. Initially, samples from sentinel surveillance network of nine states in Brazil were evaluated. In 2014, 777 samples were received, 89 were positive for influenza A/H1N1Pdm09 and 303 for influenza A/H3N2 by real time RT-PCR. This predominance of influenza A/H3N2 has also been observed worldwide.

Influenza A/H1N1Pdm09 NA gene was screened for H275Y resistance marker by pyrosequencing; 68 (76.4%) samples presented reliable pyrograms, and the mutation was not found. It is important

to note that this marker frequency is low (<2%). Influenza A/H3N2 NA gene was screened for E119V resistance marker by pyrosequencing; 208 (68.6%) samples presented reliable pyrograms, and this mutation was not observed. This mutation frequency is even lower.

NA full sequencing by Sanger method is now being done for these samples. So far, we have identified viral permissive mutations V241I and N369K in influenza A/H1N1Pdm09 samples, as has been observed in previous years.

Influenza A/H3N2 samples were positive for the I222V mutation, which has been previously associated with reduced sensitivity to oseltamivir. The analysis of oseltamivir IC50 is under way to determine the influence of this mutation on oseltamivir sensitivity.

Since reports on the presence of resistant strains and permissiveness mutations are growing, it is vital that this monitoring is strengthened in Brazil to include groups associated with worsening disease and immune impairment.

..... ✕

PE-04. Síndrome respiratorio por coronavirus de Oriente Medio: aplicación de métodos de secuenciación del genoma completo

Mónica Galiano

Virus Reference Department, Public Health England, London, United Kingdom

El coronavirus causante del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) se detectó por primera vez en septiembre de 2012. Hasta la fecha se han reportado a nivel mundial más de 900 casos confirmados de infección por este virus, de los cuales 400 han sido mortales.

Genéticamente, el MERS-CoV está estrechamente relacionado con el coronavirus de murciélagos. Sin embargo, la hipótesis más aceptada involucra un animal doméstico, el camello, como huésped intermediario. La gran mayoría de los casos ha ocurrido en Arabia Saudita y, en menor proporción, en otros países del Oriente Medio. Además, algunos casos se han detectado en países europeos y en Estados Unidos en viajeros que regresaban de la península arábiga. En algunos casos se ha reportado transmisión limitada de persona a persona, aunque el caso índice siempre había sido claramente vinculado a viajes en el Oriente Medio.

En el Reino Unido se detectaron cuatro casos entre septiembre de 2012 y febrero de 2013 que pusieron a prueba las técnicas de secuenciación de nuestro laboratorio para resolver el diagnóstico y caracterizar este nuevo virus para el cual no había métodos de detección específicos aún establecidos.

Posteriormente, el desarrollo de métodos de secuenciación paralela masiva del genoma completo del MERS-CoV permitió el análisis de distintos aspectos de la evolución genética del

virus: la determinación de la tasa de mutación, el análisis filogenético de un gran número de secuencias obtenidas de casos, en su mayoría de Arabia Saudita, y el análisis de la presencia y la transmisión de variantes minoritarias dentro del huésped en casos de transmisión de persona a persona. Además, la obtención de secuencias de casos humanos y animales permitió demostrar la ocurrencia, al menos esporádica, de la transmisión entre especies.



VIRUS DE TRANSMISIÓN SEXUAL

PE-09. Efectos en la topología de redes de expresión de genes en macrófagos humanos generados por la integración del virus de la inmunodeficiencia humana

María Juliana Soto, Martha C. Domínguez, Adalberto Sánchez, Felipe García-Vallejo

Laboratorio de Biología Molecular y Patogénesis, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Un proceso clave en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1) es la integración del ADN viral complementario en la cromatina de la célula huésped, con lo cual se asegura tanto la expresión de genes virales como de nuevas progenies. La interacción de los genomas del virus y la célula huésped involucra complejas redes de expresión de genes celulares que alteran la homeostasis celular normal.

Se estudió la complejidad de la perturbación producida en las redes por la interacción de genes expresados en macrófagos mediante la integración del ADN complementario del HIV-1.

Se construyó una red de interacción de genes localizados en la vecindad de regiones ricas en provirus HIV-1 en macrófagos humanos. Se seleccionaron 28 genes previamente identificados como blancos de integración viral en la plataforma de Agilent depositada en Gene Expression Omnibus Profiles del National Center for Biotechnology Information, NCBI (GSE19236), y se construyeron redes de interacción de genes con el programa Cytoscape 3.2. Se silenciaron cinco genes con el mayor número de interacciones y se simuló una red alterada por la integración lentiviral.

Se identificaron 2.770 interacciones alrededor de los 28 genes, los cuales formaron una red principal muy densa conectada a cinco subredes. La red se vio enriquecida con genes asociados a transducción de señales y comunicación celular. Para simular el efecto de la integración del HIV en el genoma de los macrófagos, se silenciaron cinco de los 28 genes. La red simulada tuvo cambios drásticos en su topología que alteraron las funciones celulares y reveló una nueva programación de procesos biosintéticos y metabólicos.

La comprensión de las complejas interacciones entre el virus y el huésped durante la infección por el HIV-1 puede proveer información valiosa para el desarrollo de nuevos tratamientos enfocados en el manejo de redes específicas de interacción de genes asociados con la integración. Hasta donde se conoce, esta es la primera simulación que describe las interacciones de genes relacionados con la integración en macrófagos humanos.



PE-10. La expresión elevada de proteínas antivirales en las mucosas se asocia con el control del virus de la inmunodeficiencia humana.

Sandra Milena González¹, Natalia Andrea Taborda, Manuel Gerónimo Fera, David Arcia, Wbeimar Aguilar-Jiménez, Wildeman Zapata², María Teresa Rugeles

¹ Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo Infettare, Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia

La exposición al virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) no siempre conduce a una infección,

y la evolución clínica varía entre los individuos que la adquieren. En este sentido, las personas expuestas que son seronegativas no tienen manifestaciones clínicas ni serológicas de infección, a pesar de exponerse frecuentemente al virus, mientras que los llamados controladores del HIV son individuos infectados que mantienen cargas virales indetectables o por debajo de 2.000 copias/ml sin tomar antirretrovirales. En estos individuos la presencia de factores solubles con capacidad de inhibir diferentes pasos de la replicación del virus podría asociarse con la resistencia a la infección.

En este trabajo se evaluó la expresión de factores solubles en diferentes tejidos de personas expuestas seronegativas y en controladores del HIV y se correlacionó esta expresión con la protección frente a la infección en los primeros y el control viral en los segundos.

Se evaluaron dos cohortes: i) 58 individuos expuestos seronegativos, que se compararon con 59 individuos sanos, y ii) 13 individuos controladores del HIV comparados con 20 personas en quienes la infección progresaba de la forma usual. Se obtuvieron muestras de sangre periférica, así como de mucosa oral y genital en la cohorte i, y de mucosa gastrointestinal en la cohorte ii, para analizar la expresión del Elafin, la APOBEC3G, la SAMHD1, la TRIM5 α , la RNase 7 y el SerpinA1 mediante PCR en tiempo real.

En comparación con los individuos sanos, los expuestos seronegativos presentaron un incremento en la expresión de Elafin, APOBEC3G, SAMHD1, TRIM5 α , RNase 7 y SerpinA1, con un patrón diferencial dependiente del tejido evaluado. Además, en los controladores del HIV se observó un incremento en la expresión del SerpinA1 en las muestras de mucosa gastrointestinal comparada con la expresión en los individuos en quienes la infección progresaba de la manera usual. Los hallazgos sugieren que estos factores hacen parte esencial de la respuesta inmunitaria de las mucosas y eventualmente pueden evitar la instauración de la infección, reducir la carga viral y modular la susceptibilidad a la infección por el HIV.

..... ✕

PE-11. Interacción de proteínas reguladoras codificadas por el genoma del HIV-1 con genes asociados al envejecimiento en humanos

Adalberto Sánchez, Martha C. Domínguez, Felipe García-Vallejo

Laboratorio de Biología Molecular y Patogénesis, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

El envejecimiento definido como un deterioro funcional progresivo asociado con un incremento temporal de la mortalidad y la inmunosenescencia prematura en pacientes con sida/HIV-1, es un tema ampliamente documentado. La gran cantidad de datos generados a partir de experimentos con micromatrices de ADN permite adoptar un enfoque sistémico de las interacciones de los genes asociados con el envejecimiento debido a efectores ambientales.

En el presente trabajo se simuló mediante computador la interacción de proteínas reguladoras del HIV-1 con genes de envejecimiento y su efecto en las relaciones topológicas de las redes de interacción, así como su asociación con la inmunosenescencia durante la progresión de la infección. Se seleccionaron 60 genes celulares directamente comprometidos con el envejecimiento humano en la base de datos Human Ageing Genomic Resources, los cuales se sometieron a un análisis cruzado con las proteínas Tat, Nef, Vpr y Vpu usando la base de datos HIV-1 Human Protein Interaction Database. Además, se construyeron redes de interacción de genes y proteínas para obtener las categorías GO más significativas.

Las proteínas virales Tat (63,3 %) y Tef (36,7 %) tuvieron el mayor porcentaje de interacción con los genes de envejecimiento analizados. Las redes de interacción fueron, en general, complejas y revelaron grupos de proteínas que intervienen en funciones de apoptosis y necrosis, así como de transducción de señales. La mayor probabilidad de interacción de las proteínas Tat, Nef y Vpr en las categorías GO correspondieron a rutas de señalización mediadas por citocinas ($p=3,3$); a rutas de señalización ligadas a receptores celulares ($p=6,68$), y a la regulación positiva por cascadas de cinasas celulares ($p=1,07$).

La interacción de las proteínas virales Tat, Nef y Vpr con las proteínas celulares de envejecimiento explicaría el papel de las complejas redes de interacción de genes en la senescencia inmunológica asociada con la progresión a sida/HIV.

..... ✕

PE-29. Variantes del virus del papiloma humano de tipo 16 y su relación con la respuesta al tratamiento en pacientes con carcinoma escamocelular invasivo de cuello uterino que reciben radioterapia

Pablo Moreno-Acosta¹, Mónica Molano², Antonio Huertas³, Martha Cotes⁴, Óscar Gamboa⁵, Nicolás Magné⁶.

¹ Grupo de Investigación en Radiobiología Clínica, Molecular y Celular, Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

² The Royal Women's Hospital, Melbourne VIC, Australia

³ Biobanco, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Grupo Área de Radioterapia, Grupo de Investigación en Radiobiología Clínica, Molecular y Celular, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Unidad de Análisis, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

⁶ Département de Radiothérapie, Institut de la Loire Cancérologie, Saint Priest en Jarez, France

La infección por el virus del papiloma humano es un evento inicial importante del proceso tumoral en el carcinoma de cuello uterino. La presencia del virus del papiloma humano de tipo 16 (HPV-16), se ha reportado como un factor que incide negativamente en la respuesta a la radioterapia. Se conoce la variación en la secuencia del genoma del HPV-16 en diferentes poblaciones étnicas y hay datos científicos que sugieren que las variantes no europeas tienen un mayor potencial oncogénico, aunque aún no hay reportes sobre la presencia de variantes del HPV-16 y su relación con la respuesta al tratamiento.

El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de variantes del HPV-16 y analizar su relación con la respuesta al tratamiento. La detección y el estudio de variantes del HPV-16 se hizo mediante el análisis de las regiones E6 y LCR con PCR-SSCP y secuenciación directa en biopsias tomadas antes del tratamiento. La respuesta completa a la radioterapia tres meses después de terminado el tratamiento se definió como ausencia de enfermedad residual.

De un grupo de 59 pacientes con cáncer cervical en estadios IIB a IVB, 34 (57,6 %) fueron positivas para HPV-16 y se identificaron dos grupos de variantes: un primer grupo de 30 (88,2 %) pacientes presentaron la variante europea, y un segundo grupo de cuatro pacientes presentó la variante no europea, y de estas, tres correspondían a la

variante asiático-americana. De las 34 pacientes, 15 recibieron radioterapia completa, ocho con respuesta completa, cuatro con respuesta parcial y en tres persistió el tumor.

La distribución de las variantes europeas y no europeas fue similar en las pacientes que respondieron a la radioterapia y en aquellas que no; sin embargo, es importante tener en cuenta que la variante natural L83V (E-350G), entre otras, contribuye a la formación de tumores por degradación del gen p53, y que la variante E R10G acorta significativamente la vida media de p53, interrumpiendo su acción en la apoptosis después de la irradiación.

..... ✕

PE-50. Determinantes asociados a la prevalencia, adquisición y persistencia de la infección genital por el virus del papiloma humano en hombres colombianos. Fase I: estimación de la prevalencia y diseño del modelo de adquisición y persistencia viral

Hernán Vargas^{1,2}, Dayanne Rodríguez¹, Sandra Gómez¹, Liliana Díaz¹, Carminia Varón²

¹ Laboratorio de Salud Pública, Secretaria de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Secretaria de Salud, Ibagué, Tolima, Colombia

La infección genital por el virus del papiloma humano (HPV) es una de las infecciones de transmisión sexual más comunes a nivel mundial. Al igual que en otras infecciones de este tipo, los hombres están involucrados en la cadena de contagio al actuar como portadores de la infección, por lo que contribuyen al riesgo que tienen sus parejas sexuales de desarrollar lesiones de cuello uterino y otras del tracto anal y genital.

Los objetivos del presente estudio fueron: (i) establecer la prevalencia global y específica por tipo de la infección genital en un grupo de 912 hombres colombianos (18 a 63 años), y (ii) estimar la adquisición y la persistencia de la infección genital por el virus del papiloma humano en un grupo de 51 hombres evaluados cada seis meses durante un año.

Se hizo un estudio descriptivo en 912 hombres y uno de cohorte (0, 3 y 6 meses de seguimiento) con 51 participantes. Se incluyeron los frotis de la zona balano-prepucial, de la cara interna del prepucio y del glande de hombres sexualmente activos

de 18 a 63 años de edad. Se detectó el virus de manera genérica y específica por tipo mediante la técnica de *Linear Array* (Roche®). Se usó el paquete estadístico SPSS®, Statistics, versión 21, para evaluar el comportamiento de variables como la edad, el número de parejas sexuales, el uso del condón, el estado civil y la edad de inicio de las relaciones sexuales en contraste con la positividad global y específica.

El estudio descriptivo reveló una prevalencia general del virus de 36 % y de 20,9 y 35,1 % para los tipos de riesgo alto y bajo, respectivamente. Las infecciones múltiples se detectaron en el 12,6 % de los participantes. El HPV-16 fue el tipo viral de alto riesgo más común, con 10,2 % (n=93), seguido del HPV-51 con 1,5 % (n=14). Los tipos virales de bajo riesgo más comunes fueron el HPV-61, HPV-53 y CP-6108, con una prevalencia de 11,5, 5,6 y 2,4 %, respectivamente. No se evidenció diferencia estadísticamente significativa entre las variables de edad, pareja sexual regular y uso de condón.

Por otro lado, al inicio del estudio de seguimiento los resultados positivos para el virus del papiloma humano fue de 37,25 % (19/51), del cual el 47,36 % (9/19) correspondió a infecciones únicas y el 52,63 %

(10/19), a infecciones múltiples. A los tres meses de seguimiento, el 56,86 % (29/51) seguía siendo negativo para el virus, en el 89,47 % (17/19) se había resuelto la infección, el 9,37 % (3/32) la había adquirido y el 10,52 % (2/19) seguía infectado. A los seis meses de seguimiento, el 96,55 % (28/29) estaba libre de infección, en el 66,6 % (2/3) esta se había resuelto, el 23,52 % (4/17) la había adquirido y el 100 % (2/2) seguía infectado. La incidencia de la infección por el virus fue de 6,25, 5,55, 5,88 y 7,69 % para los tipos HPV-26, -51, -84 y el CP-6108, respectivamente.

Este es el primer estudio en Colombia con resultados sobre la prevalencia global y específica por tipos de la infección genital por el virus del papiloma humano en hombres sexualmente activos sin lesiones visibles asociadas a su presencia. Igualmente, es el primero en el país que establece un modelo de adquisición, eliminación y persistencia de la infección viral en hombres.

La identificación molecular del virus en hombres contribuye al conocimiento de su dinámica infecciosa y podría complementar el rediseño de las políticas de promoción y prevención del cáncer de cuello uterino en nuestro país.

..... ✕

VIRUS DEL SARAMPIÓN

PE-12. Certificación de la eliminación del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en Colombia

José Orlando Castillo¹, Pilar Andrea Tavera-Rodríguez²

¹ Grupo de Enfermedades Transmisibles, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

En noviembre del 2002 se alcanzó la eliminación del sarampión en la Región de las Américas con la interrupción de la transmisión endémica del virus por el brote que afectó a Venezuela y Colombia, y en el 2004 se estableció la meta de eliminación de la rubéola y el síndrome de rubéola congénita.

Se describe el proceso de certificación de la eliminación del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en Colombia.

Se elaboró un reporte para la Comisión Internacional de Certificación, el cual se entregó en enero de 2014. El 8 de abril del 2010 se había creado la Comisión Nacional de Certificación de la Eliminación para informar sobre los siguientes componentes propuestos por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para verificar la interrupción de la transmisión endémica de estas enfermedades: 1) epidemiología del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita; 2) calidad de la vigilancia del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita; 3) epidemiología molecular de los virus del sarampión y la rubéola; 4) sostenibilidad del programa de inmunizaciones, y 5) cohortes de población vacunadas contra sarampión y rubéola.

Para dar cumplimiento a la resolución de la 27ª Conferencia Panamericana de la Salud, el país inició la recopilación y el análisis de los datos para la documentación y verificación de la elimi-

nación del sarampión, la rubéola y el síndrome de rubéola congénita, los cuales fueron analizados por la Comisión Nacional y presentados a la Comisión Internacional.

Evaluada la información presentada por la Comisión Nacional, el país fue declarado como territorio libre de los virus autóctonos del sarampión y la rubéola.

..... ✕

VIRUS DEL DENGUE

PE-17. Respuesta antioxidante en pacientes con complicaciones por dengue

Anyela Lozano-Parra^{1,2}, Víctor Herrera^{1,2}, Luis Villar-Centeno^{1,2}

¹ Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

² Red de Conocimiento y Cooperación AEDES

La infección por dengue se ha asociado con la inducción de estrés oxidativo, sin embargo, se desconoce si este es un factor de predicción de sus complicaciones.

Este estudio evaluó el comportamiento de algunos indicadores de estrés oxidativo en pacientes con síndrome febril agudo por dengue como factor de predicción de su gravedad.

Se hizo un estudio de casos y controles anidado en la cohorte AEDES. Se incluyeron pacientes febriles captados en la consulta ambulatoria con diagnóstico confirmado de dengue (por RT-PCR o ELISA NS1 positiva en muestra única, o seroconversión - cuadruplicación de títulos IgM o IgG en muestras pareadas). Los casos fueron pacientes que desarrollaron hemorragia grave o hipotensión arterial durante el seguimiento. Se determinó la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx: n[casos]=44; n[controles]=88), la concentración de la superóxido dismutasa (SOD: n[casos]=27; n[controles]=31) y la concentración de la capacidad antioxidante total (CAT: n[casos]=27; n[controles]=32), en sueros obtenidos entre las 48 y las 96 horas del inicio de los síntomas. Se estimaron los *odds ratios* para los cuartiles de cada marcador, ajustando por edad, género, horas de fiebre y tipo de infección en modelos de regresión logística múltiple.

Se evaluaron 132 pacientes (edad media: 25,2 años; 49,2 % de mujeres) con actividad promedio de GPx de 131,8±23,0 mmol/min/ml, concentración de SOD de 6,6±1,9 U/ml y concentración de CAT de 2,0±0,7 mM. En el análisis multivariado, los *odds ratios* asociados al segundo, tercer y cuarto

cuartil de GPx fueron 1,19 (IC_{95%} 0,43-3,29), 0,49 (IC_{95%} 0,15-1,56) y 0,94 (IC_{95%} 0,31-2,90), respectivamente. Los *odds ratios* correspondientes a los mismos cuartiles de concentración de SOD fueron 2,50 (IC_{95%} 0,50-12,7), 2,58 (IC_{95%} 0,45-14,8) y 6,59 (IC_{95%} 1,07-40,4), y para CAT fueron 5,26 (IC_{95%} 0,93-29,7), 5,06 (IC_{95%} 1,02-25,1) y 4,87 (IC_{95%} 0,92-25,7).

Se observó un gradiente no estadísticamente significativo entre la respuesta enzimática antioxidante y la probabilidad de complicaciones. Este hallazgo requiere confirmación en estudios que cuenten con muestras de mayor tamaño.

..... ✕

PE-18. Evaluación del papel de la vitamina D en la replicación del virus del dengue y en la respuesta inflamatoria en macrófagos humanos

John F. Arboleda¹, Jolanda Smit², Silvio Urcuqui¹

¹ Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Experimental Virology, Department of Medical Microbiology – Molecular Virology, University Medical Center Groningen, Groningen, Holland

Los síntomas graves de la enfermedad causada por el virus del dengue se han asociado con una producción descompensada de citocinas proinflamatorias. Por otro lado, la vitamina D ha adquirido gran relevancia dada su capacidad de modular la respuesta inflamatoria. Recientemente se ha sugerido una posible conexión entre la actividad de la vitamina D, la poca tolerancia celular a la infección por el virus del dengue y la regulación negativa de la producción de citocinas proinflamatorias a través de la modulación de los receptores de tipo *toll* y sus vías de señalización, por lo que se plantea que la vitamina D puede estar implicada en la regulación de la respuesta inflamatoria excesiva ocasionada durante la infección por el virus del dengue.

Se evaluó el efecto de la vitamina D en la infección y la replicación del virus del dengue, en la expresión de los receptores de tipo *toll* y en la producción de citocinas proinflamatorias en macrófagos derivados de monocitos retados *in vitro* con el virus del dengue. En dichos macrófagos se cuantificó el porcentaje de infección y de replicación del virus del dengue y la expresión de los receptores de tipo *toll* mediante citometría de flujo y reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa. Asimismo, se cuantificó mediante ELISA la secreción de citocinas proinflamatorias.

Los macrófagos derivados de monocitos diferenciados en presencia de vitamina D y estimulados con lipopolisacárido bacteriano modularon la expresión de TLR4, TLR2 y la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β). En dichos macrófagos retados con el virus del dengue se observó una disminución en el porcentaje de infección y replicación del virus, así como en la producción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) y los niveles del ARN mensajero de TLR2 y TLR4.

Los resultados sugieren que los macrófagos derivados de monocitos diferenciados en presencia de vitamina D podrían jugar un papel importante en el control de la infección por el virus del dengue y en la producción de citocinas proinflamatorias.

..... ✕

PE-19. Una década de investigación del virus del dengue, una experiencia divergente en Antioquia

Juan Carlos Gallego-Gómez

Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Diez años atrás no existían los grupos que hoy trabajan con el virus del dengue y los trabajos de biología celular y molecular estaban en sus inicios. Gracias al apoyo de varios colegas investigadores a nivel nacional e internacional, logramos impulsar en la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia una investigación que abarca desde el enfoque más reduccionista hasta otros ámbitos más integradores como la ecología viral y el estudio de los factores socioculturales implicados en la emergencia viral.

En este trabajo se hace el recuento de una visión particular de la investigación del virus del dengue que incluye la historia filogenética, la búsqueda de

fármacos antivirales y la obtención de sofisticadas herramientas moleculares y celulares, campos que han abierto caminos cada vez más divergentes pero de importancia en el contexto nacional e internacional.

Se emplearon los métodos tradicionales de la virología, y otras aproximaciones más novedosas como la biología molecular, la biología celular de la infección viral y la biología computacional, además de los nuevos desarrollos de la ecología viral, para obtener datos sobre el complejo patrón de la realidad de la enfermedad de mayor magnitud en los últimos años en Colombia.

Se presentan resultados con base en artículos científicos internacionales y nacionales ya publicados, y en manuscritos en proceso de elaboración, además de las trayectorias científicas promovidas por los proyectos de Colciencias que han financiado tales investigaciones.

El virus del dengue ha evolucionado muy rápidamente en las últimas tres a cuatro décadas, lo cual podría correlacionarse con factores propios de la ecología viral y la realidad sociocultural. Se han identificado y postulado nuevos candidatos a fármacos antivirales que actúan sobre blancos celulares; se obtuvo un clon infeccioso del virus del dengue de mucha utilidad en los estudios básicos y aplicados, y se ha desarrollado la ecología viral del virus del dengue y de otros virus emergentes, así como de la imaginología de células vivas, de ARNnc y de ARNmi como biomarcadores en el diagnóstico y pronóstico del virus del dengue en medicina de translación.

..... ✕

PE-20. Eliminar el dengue, desafío de Colombia

Iván D. Vélez

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

“Eliminar el dengue, desafío de Colombia” hace parte de una iniciativa internacional que busca interrumpir la transmisión del virus del dengue mediante el control biológico con la bacteria *Wolbachia pipientis*. Las investigaciones realizadas en la Universidad de Monash, Australia, revelaron que cuando el insecto vector *Aedes aegypti* está infectado con esta bacteria es incapaz de transmitir el virus del dengue. Este hallazgo dio origen a

la iniciativa internacional “Eliminar el dengue, nuestro desafío”, en el cual participan actualmente Australia, Indonesia, Vietnam, Brasil y Colombia. En Colombia, el programa está a cargo del PECET, con el apoyo y la asesoría directa de la Universidad de Monash, y cuenta con el aval del Comité de Ética de la Universidad de Antioquia y de las autoridades ambientales y de salud.

La actividad principal del proyecto se fundamenta en la liberación controlada de mosquitos *A. aegypti* portadores de *W. pipientis* que al aparearse con las poblaciones locales del insecto pasan la infección con la bacteria a su descendencia, incapacitándola para transmitir el virus del dengue.

La prueba piloto se está llevando a cabo en el barrio París del municipio de Bello, Antioquia. Allí se tiene una clínica de fiebre para el diagnóstico y la identificación de los serotipos circulantes del virus. Se logró demostrar la presencia simultánea de los serotipos 1, 2 y 3, y, además, la mayor incidencia de la enfermedad en niños menores de 10 años. Actualmente se está haciendo la prospección entomológica mediante la instalación de ovitrampas y la captura manual de *A. aegypti*, y una muy intensa labor de comunicación y divulgación del programa en la comunidad.

Los ensayos de competencia vectorial con cepas de *Aedes* spp. en el barrio París y de virus aislados de pacientes del mismo barrio han confirmado que la replicación del virus en el vector se ha controlado. El equipo se prepara para iniciar las liberaciones en campo en los próximos meses.

..... X

PE-38. Imaginología celular y máquina de aprendizaje para evaluar la distribución subcelular de mitocondrias en células infectadas con dengue

Leandro Ariza-Jiménez¹, Juan Carlos Gallego-Gómez¹, Juan Carlos Cardona-Gómez²

¹ Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Espectroscopia Óptica y Láser, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia

El estudio de las infecciones virales mediante la imaginología de células vivas constituye un área de grandes oportunidades para la biología celular computacional. Esto se ilustra mediante el análisis computacional de la distribución subcelular de mitocondrias en células infectadas con el virus del dengue.

Se implementó una plataforma de imaginología de células vivas, la cual es necesaria para alimentar una máquina de aprendizaje con el objetivo de interpretar computacionalmente la alteración que experimenta la distribución subcelular de mitocondrias en células infectadas con el virus del dengue. Se obtuvieron líneas celulares epiteliales estables con versiones fluorescentes de mitocondrias para hacer registros de cultivos celulares con el virus del dengue y sin este. Los videos se tomaron durante una noche con fotogramas cada 20 minutos en un microscopio confocal de disco giratorio. La densidad de distribución de mitocondrias alrededor del núcleo como una función del espacio y el tiempo, $\rho(r, \theta, t)$, se modeló numéricamente mediante la interpolación suavizada de la intensidad registrada en las imágenes y usada para el análisis posterior.

El comportamiento de la densidad de las mitocondrias es sustancialmente distinto cuando las células están infectadas, evidenciando una distribución más difusa y con una variación angular más fuerte. Este comportamiento se cuantificó usando descriptores convencionales del procesamiento de imágenes: la entropía y la uniformidad.

Hubo una acentuada diferencia entre la densidad de distribución de las mitocondrias en las células infectadas y en las no infectadas, lo que apareció en todos los fotogramas, sin evidencia de dependencia del tiempo. Las infecciones celulares presentaron desde el principio patrones subcelulares alterados en la distribución de las mitocondrias.

En trabajos futuros sería crucial analizar series de tiempo para aclarar si existe alguna tendencia o comportamiento periódicos. Estos hallazgos sugieren que usando descriptores de imágenes (entropía y uniformidad), puede crearse una máquina de aprendizaje para reconocer si en una determinada población existe una célula infectada o no.

..... X

VIRUS DEL CHIKUNGUÑA

PE-33. Fiebre por virus del chikunguña con manifestaciones mucocutáneas atípicas en neonatos y lactantes de los municipios de Cúcuta, Los Patios y Villa del Rosario, Norte de Santander, 2014

Daniela Salas¹, José Orlando Castillo², Claudia Marcela Muñoz³, Milena Alexandra Valderrama⁴, Claudia Teresa Rangel⁵, Heidy Vargas⁶

¹ Grupo de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Enfermedades Transmisibles, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Epidemiología Aplicada, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Grupo de Vigilancia en Salud Pública, Instituto Departamental de Salud de Norte de Santander, Cúcuta, Colombia

⁵ Vigilancia en Salud Pública, Secretaría de Salud Municipal de Cúcuta, Cúcuta, Colombia

⁶ Grupo de Vigilancia en Salud Pública, Instituto Departamental de Salud de Norte de Santander, Cúcuta, Colombia

En las epidemias de fiebre por el virus del chikunguña se han documentado manifestaciones clínicas atípicas que se pueden presentar con mayor frecuencia en los menores de edad.

Se caracterizaron los casos de neonatos y lactantes con fiebre por virus del chikunguña que presentaban lesiones mucocutáneas atípicas.

Se hizo un análisis descriptivo transversal a nivel hospitalario en neonatos y lactantes con diagnóstico de chikunguña que presentaron lesiones mucocutáneas atípicas. Se analizaron los registros médicos y los resultados de laboratorio y de patología. Se hizo una búsqueda activa comunitaria en los barrios de residencia de los pacientes.

Se documentaron 12 casos sospechosos de chikunguña en neonatos y lactantes, de los cuales 11 se confirmaron como fiebre por el virus del chikunguña con manifestaciones mucocutáneas atípicas (ocho por laboratorio y tres por clínica) en niños menores de cinco meses; el 54,5% (6/11) de los casos confirmados correspondió a varones. Los signos y síntomas más comunes fueron la

fiebre, la erupción, la irritabilidad y la diarrea. Se documentó infección concomitante con dengue en tres casos. Las lesiones se presentaron en cuero cabelludo, abdomen, genitales y zona perianal. En las búsquedas activas comunitarias se encontraron altas tasas de ataque de la enfermedad.

Las manifestaciones mucocutáneas son las primeras reportadas en Colombia en neonatos y lactantes afectados con fiebre por el virus del chikunguña. Llamaron la atención las úlceras de rápida evolución que se presentaron posiblemente por reacciones inmunológicas ante el virus. Es necesario priorizar la atención de las madres que presenten síntomas días antes del parto y hacer el seguimiento de los neonatos para descartar posibles complicaciones.

..... ✕

PE-34. Chikunguña: manifestaciones atípicas

Sandra Muvdi

Grupo de Investigación en Dermatología Tropical, Hospital Universitario Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta, Bogotá, D.C., Colombia

La fiebre del chikunguña es una enfermedad producida por el virus del mismo nombre y transmitida por los vectores *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Se describió por primera vez en 1952 en África, continente en el que ha habido grandes epidemias espaciadas cada siete a 20 años. El virus luego pasó a Asia, donde causó una gran epidemia en islas del Océano Índico entre el 2005 y el 2006, y, más recientemente, se detectó en América y el Caribe. A finales del 2014 se presentaron los primeros casos en Colombia. Se trata de una epidemia sin precedentes con manifestaciones muy graves y, al parecer, algunas muertes. En la epidemia del Océano Índico se describieron por primera vez formas graves y atípicas, así como una tasa de ataque alta (38 % en La Reunión) y una letalidad de 1 por 1.000; de igual manera, se reportó la transmisión durante el parto y la presencia de lesiones graves en neonatos.

El objetivo de este trabajo fue hacer una revisión de los aspectos más relevantes del virus, patogenia y manifestaciones clínicas, así como presentar algunos casos con manifestaciones dermatológicas atípicas observadas en la actual epidemia en Colombia.

La epidemia de chikunguña en Colombia es de gran magnitud y los pacientes están presentando manifestaciones atípicas; incluso algunos casos han resultado en muertes. Es importante que los médicos, los microbiólogos y los profesionales de la salud nos familiaricemos con los signos y los síntomas de esta enfermedad para hacer el diagnóstico oportuno.

..... ✕

PE-36. Mecanismo de acción del favipiravir (t-705) en la replicación del virus del chikunguña

Nidya Alexandra Segura^{1,2}, Leen Delang², Gilles Querat³, Boris Pastorino³, Kai Dallmeier², Dirk Jochmans², Felio Bello¹, Ali Tas⁴, Eric Snijder⁴, Xavier Delamballerie³, Byron Martina⁵, Johan Neyts², Martin van Hemert⁴, Pieter Leyssen²

¹ Salud Pública, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C., Colombia

² RegaInstitute, KU Leuven, Leuven, Belgie

³ Université de la Méditerranée, Marseille, France

⁴ Leiden University Medical Center, Leiden, Holland

⁵ Erasmus Medical Center, Rotterdam, Holland

El virus del chikunguña causa la fiebre del mismo nombre, la cual se caracteriza por artritis, artralgia y dolores articulares persistentes durante meses o años después de la infección. El virus se encuentra en África, Asia y en algunos países de Europa, y se ha convertido en un problema de salud pública en las Américas y el Caribe. No existen drogas antivirales o vacunas contra este virus. El nucleótido análogo favipiravir (T-705), que inhibe

la replicación de virus ARN, está en las fases 2 y 3 de los ensayos clínicos para el tratamiento de la influenza en Estados Unidos y Japón.

En este trabajo se describió la actividad antiviral de T-705 en la replicación del virus del chikunguña y se demostró que esta molécula protege contra la infección letal del virus *in vivo*. Se hicieron ensayos con el virus del chikunguña empleando T-705 en células Vero; la producción viral se estableció mediante PCR cuantitativa en tiempo real y placas. Se siguió un protocolo de cinco pasos para seleccionar variantes virales resistentes a T-705, que luego fueron secuenciadas, y para identificar las mutaciones. Empleando ingeniería inversa, las mutaciones se introdujeron en clones de ADN complementario del virus del chikunguña y se hicieron ensayos antivirales empleando T-705. Por último, el efecto de T-705 se probó con administración por vía oral en ratones AG129.

T-705 presentó actividad selectiva contra el virus del chikunguña y otros alfavirus en cultivo celular; la CE50 estuvo entre 2 y 25 μ M para cepas de laboratorio y aislamientos clínicos. Además, el efecto contra el virus del chikunguña se demostró en ratones AG129 al reducir la mortalidad. Empleando las variantes del virus resistentes a T-705, se encontraron mutaciones en las proteínas no estructurales que confirieron resistencia, y mediante ingeniería inversa se estableció que la mutación K291R en la ARN polimerasa es la principal responsable de la resistencia al efecto antiviral de T-705. Hasta donde se sabe, esta es la primera evidencia directa de que el blanco molecular de T-705 es la polimerasa viral en el contexto celular.

..... ✕

VIRUS DEL DENGUE Y DEL CHIKUNGUÑA

PE-35. Inhibición de la infección por el virus del dengue y del chikunguña *in vitro* e *in vivo*

Andrea Trujillo-Correa¹, James Weger-Lucarelli¹, Jorge Osorio²

¹ Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA

Los virus transmitidos por mosquitos, como el virus del chikunguña y el virus del dengue, son un gran problema de salud pública en regiones tropicales donde se superponen geográficamente. Estos dos virus pueden producir síndromas febriles y las infecciones que producen son difíciles de diagnosticar tempranamente. Además, no existe una vacuna o tratamiento comprobado.

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antiviral del flavivir sobre la replicación de los

virus del dengue y del chikunguña en modelos *in vitro* e *in vivo*.

La citotoxicidad del compuesto se evaluó en células A549, BHK-21, MRC-5 y Vero utilizando el ensayo MTT. La actividad antiviral se evaluó bajo diferentes estrategias de tratamiento: antes de la inoculación, durante la inoculación y después de la inoculación.

En el modelo *in vivo*, el esquema de tratamiento se inoculó dos veces al día y comenzó antes de la infección en ratones C57BL/6 con el virus del chikunguña y en ratones AG129 con virus del dengue.

Los resultados de citotoxicidad demostraron que el flavivir solo reduce la viabilidad significativamente cuando se usa en altas concentraciones. En los ensayos antivirales se observó un efecto dependiente de la dosis que inhibe drásticamente la producción de partículas virales de ambos virus *in vitro*. El tratamiento con flavivir en el caso del virus del chikunguña es eficaz para reducir la viremia y la inflamación de la pata en el modelo de ratón competente C57BL/6, además de algunas citocinas proinflamatorias. En el modelo animal inmunodeficiente para el virus del dengue no se observaron diferencias significativas entre el control y el tratamiento.

El flavivir es un potente antiviral para el virus del dengue y el virus del chikunguña en diferentes líneas celulares, observándose un mayor efecto en células sin deficiencia de interferón. El tratamiento antiviral fue efectivo contra el virus del chikunguña en ratones C57BL/6, pero no contra el de dengue, lo cual podría deberse a que el mecanismo de acción estaría relacionado con la estimulación de la respuesta inmunitaria antiviral y estos ratones son deficientes para el interferón de tipos I y II.

..... ✕

PE-40. Interacción de moléculas derivadas de *Psidium guajava* contra las proteínas de envoltura del virus del chikunguña y del virus del dengue

Andrea Trujillo¹, Carolina Quintero-Gil², Fredyc Castillo³, Sergio Orduz², Sara Robledo¹, Marlén Martínez-Gutiérrez⁴

¹ Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Medellín, Colombia

² Grupo de Ecología y Sistemática, Universidad Nacional, Medellín, Colombia

³ Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas, LIFFUC, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

⁴ Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

El virus del chikunguña está circulando en Colombia desde finales de 2014 en las mismas zonas en donde ya había presencia del virus del dengue. No hay tratamiento antiviral específico contra ninguno de los dos virus.

En este estudio se evaluó la interacción de cuatro moléculas de la planta *Psidium guajava* con las glucoproteínas de envoltura de los virus del chikunguña y del dengue, por simulación en computador e *in vitro*.

La estructura cristalizada de las glucoproteínas de ambos virus, con resolución de 3,01 y 2,10Å, respectivamente, se descargaron de la base de datos del *Protein Data Bank* (PDB, códigos 3N41 y 3UZV), y las estructuras de las moléculas, de la base de datos DrugBank.

Posteriormente, se determinó la energía de afinidad mediante acoplamiento molecular con el programa Autodock Vina. Además, se hizo un ensayo de citotoxicidad de las moléculas (400 µg/ml – 6,2 µg/ml), y actualmente se están llevando a cabo los ensayos de efectividad antiviral.

Las cuatro moléculas (ácido gálico, catequina, quercetina y naringina) son antivirales potenciales para el virus del chikunguña, con afinidades de -3,8, -4,5, -4,8 y -4,8 kcal/mol, respectivamente, pero solo las tres primeras moléculas tienen potencial antiviral para el virus del dengue (afinidad de -3,0, -3,7 y -2,9, respectivamente), pues la afinidad de la naringina es de 5,9.

Por último, el ensayo de citotoxicidad demostró que el ácido gálico, incluso en concentraciones bajas (25 µg/ml) es altamente tóxico (viabilidad del 48 %), mientras que la catequina, la quercetina y la naringina no son tóxicas (viabilidad mayor al 90 % en concentraciones de más de 100 µg/ml).

Se encontraron porcentajes adecuados de afinidad entre las moléculas evaluadas y las glucoproteínas de envoltura de ambos virus, siendo más afines a la glucoproteína del virus del chikunguña que a la del virus del dengue. A su vez, las moléculas más afines se mostraron muy poco tóxicas, lo que las convierte en excelentes candidatas para los ensayos de efectividad que estamos llevando a cabo.

VIRUS ZONÓTICOS

PE-13. Estudios de epidemiología molecular de la rabia en Colombia

Andrés Páez

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

La infección por el virus de la rabia en mamíferos causa encefalitis aguda, la cual, aunque prevenible por vacunación, es responsable de más de 55.000 muertes humanas anuales. Este virus pertenece a la familia *Rhabdoviridae*, género *Lyssavirus*, y su genoma consiste en una cadena de ARN de, aproximadamente, 11.000 pares de nucleótidos. La rabia se transmite en dos ciclos epidemiológicos: el urbano, con el perro como transmisor, y el silvestre, con diversas especies silvestres como transmisoras.

El objetivo de este estudio fue investigar las dinámicas de transmisión de los virus de la rabia en Colombia desde la perspectiva temporal, geográfica y de las especies animales involucradas.

Los virus de la rabia aislados de muestras de tejido encefálico de animales y humanos se caracterizaron antigénica y genéticamente. Las relaciones filogenéticas se infirieron mediante el análisis de la distancia de las secuencias parciales de los genes de la glucoproteína, la polimerasa y la nucleoproteína.

En Colombia, los avances en el control de la rabia urbana son evidentes, sin embargo, la rabia silvestre continúa siendo una gran amenaza para la población. Los gatos son transmisores eficientes del virus desde los ecosistemas silvestres hacia los humanos. La rabia en zorros en la Región Caribe se originó como consecuencia de contactos individuales con perros infectados, pero en la actualidad es posible que el virus ya se haya establecido en las poblaciones de zorros. La vigilancia de la rabia canina en la Región Caribe no ha sido lo suficientemente sensible para identificar la totalidad de los casos, lo que podría ser la situación en otras regiones colombianas. Se evidencia que las barreras geográficas han limitado la transmisión de la rabia en Colombia.

La tipificación serológica ha sido inespecífica y esto puede propiciar inferencias equivocadas, por lo que la secuenciación genómica se hace indispensable para una vigilancia eficaz de la rabia por el laboratorio.

Los estudios de epidemiología molecular de la rabia en Colombia han contribuido a entender las dinámicas de transmisión entre las especies animales y los humanos en cuanto a la geografía y el tiempo, constituyéndose en herramienta fundamental para el diseño y la implementación de acciones de prevención y control.

..... x

PE-14. Rabia en Chile

Verónica Yung

Sección de Rabia, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago de Chile, Chile

Desde 1929, el diagnóstico de la rabia en Chile ha estado a cargo del Instituto de Salud Pública, lo que ha permitido tener un panorama global de cómo ha ido cambiando la situación epidemiológica a lo largo de los años y cómo han influido los programas de control de la rabia en la disminución de los casos. La rabia fue endémica entre los años 1950 y 1960, registrándose numerosos casos humanos y animales, lo que llevó a la instauración de un programa de control orientado a reducir la población canina, inmunizar masivamente los perros y aumentar la cobertura del diagnóstico. La efectividad del programa se hizo evidente a partir de 1962, con una drástica disminución de los casos, que comenzaron a presentarse solo esporádicamente.

En 1990 se registró el último caso de rabia en perros, causado por la variante 1, lo que permitió que en el 2010 la Organización Mundial de la Salud y la Organización Mundial de Sanidad Animal declararan al país libre de la circulación de las variantes caninas 1 y 2.

La importancia de los murciélagos insectívoros en la transmisión de la rabia fue reconocida en 1985; a partir de entonces, el patrón epidemiológico se ha caracterizado por una endemia en quirópteros, los cuales constituyen un reservorio del virus. Dicha circunstancia ha dado origen a casos en animales domésticos y en el hombre, y aunque la vigilancia activa indica que la prevalencia es baja en colonias de murciélagos (0,4 %), la vigilancia pasiva da cuenta de una gran proporción de murciélagos positivos (6-8 %).

Los estudios de tipificación viral antigénica y genética han permitido identificar la circulación viral de cuatro variantes asociadas con reservorios específicos de murciélagos insectívoros: *Myotis chiloensis*, *Tadarida brasiliensis*, *Lasiurus* sp. E *Histiotus macrotus*. Con esta metodología se confirmó el fenómeno de compartimentación y mantención del ciclo por parte de la especie principal, así como la necesidad de tener un mejor conocimiento de la epidemiología de la rabia en murciélagos y tomar medidas de control eficientes para la situación epidemiológica.

..... ✕

PE-15. Alteraciones en la estructura de las neuronas piramidales de la corteza cerebral en ratones inoculados con rabia

Orlando Torres-Fernández, Gerardo Santamaría, Andrea P. Hurtado, Aura C. Rengifo, Jeison Monroy-Gómez, Jorge A. Rivera, Ladys E. Sarmiento

Grupo de Morfología Celular, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Las células piramidales de la corteza cerebral son neuronas muy susceptibles a la infección con el virus de la rabia. Esto se demuestra por la presencia de cuerpos de Negri y antígenos virales dentro de su pericarion. La histopatología convencional, incluida la inmunohistoquímica, es suficiente para el diagnóstico post mórtem de la rabia, pero es muy limitada para revelar otros cambios en las neuronas. Por esta razón, ha sido necesario acudir a métodos alternativos para estudiar el efecto del virus de la rabia sobre la estructura neuronal.

En el presente trabajo se determinó el efecto de la infección con el virus de la rabia en tres aspectos importantes de la estructura de las neuronas piramidales del cerebro de ratón: su morfología celular, la ultraestructura dendrítica y la expresión de la proteína asociada a microtúbulos (MAP-2).

Se inocularon ratones ICR con virus de la rabia ("fijo" o "calle") por vía intramuscular o cerebral. Los animales enfermos y sus controles fueron anestesiados y sometidos a fijación por perfusión intracardiaca con paraformaldehído y glutaraldehído. Luego se extrajeron los encéfalos para procesarlos separadamente mediante diferentes técnicas: método de Golgi, microscopía electrónica e inmunohistoquímica de la MAP-2.

La técnica de Golgi, con análisis cuantitativo, reveló alteraciones notables en la morfología del soma y las dendritas de las neuronas piramidales (atrofia dendrítica). Esto se correlacionó con el hallazgo de cambios ultraestructurales como la pérdida de microtúbulos y la formación de vacuolas y figuras mielínicas en las dendritas distales. Además, se registró un incremento inesperado en la expresión de la proteína de citoesqueleto MAP-2, especialmente en las dendritas apicales.

La infección con el virus de la rabia induce daños estructurales en las neuronas que pueden explicar el carácter mortal de esta enfermedad, pero es necesario contar con métodos de investigación especializados para escudriñar en el tejido nervioso más allá de la patología convencional.

..... ✕

PE-16. Caracterización molecular de poxvirus zoonóticos en Caquetá, Colombia, 2014

José A. Usme-Ciro¹, Andrea Paredes², Diana M. Walteros², Natalia Tolosa², María del Carmen Pinzón³, Brett W. Petersen⁴, Nadia F. Gallardo-Romero⁴, Yuli Kimberly Wilkins⁴, P. S. Satheshkumar⁴, Nishi Patel⁴, Andrés Páez¹

¹ Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Programa de Entrenamiento en Epidemiología de Campo (FETP), Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Laboratorio Departamental de Salud Pública de Caquetá, Caquetá, Colombia

⁴ Poxvirus and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA

Los poxvirus causan lesiones exantemáticas en diversas especies, incluido el humano. Un importante representante del género *Orthopoxvirus*, el virus de la viruela, causó la muerte de millones de personas antes de su erradicación en 1980, en tanto que el virus vaccinia se usó como vacuna contra esa misma enfermedad. Recientes brotes del virus de la vaccinia asociado a la vacunación en países como Brasil e India demuestran el establecimiento de ciclos de transmisión endémica. Por otro lado, miembros del género *Parapoxvirus*, como el paravaccinia se han estudiado poco en Sudamérica.

El objetivo del presente trabajo fue detectar y caracterizar serológica y molecularmente los poxvirus zoonóticos causantes de enfermedad exantemática en humanos en el departamento del Caquetá.

En muestras de suero de seis ordeñadores con lesiones cutáneas se detectaron anticuerpos IgM e IgG anti-orthopoxvirus. Para la detección y caracterización molecular se extrajo ADN de tejidos, se amplificó por PCR y se hizo la secuenciación de los genes *A25R* y *A56R* de orthopoxvirus, y del *p37K* de parapoxvirus. El análisis filogenético permitió caracterizar las especies de poxvirus presentes en Colombia y establecer su relación con otras cepas previamente reportadas.

Las lesiones en humanos se asociaron al contacto con animales que presentaban el mismo tipo de lesiones en la ubre. Tres de los pacientes presentaron elevados niveles de IgM e IgG anti-orthopoxvirus. El análisis filogenético permitió demostrar la presencia del linaje 1 del virus vaccinia, previamente reportado en Brasil. En dos pacientes se logró identificar la presencia del de paravaccinia.

En este estudio se da cuenta por primera vez en Colombia de la detección y caracterización molecular de los virus vaccinia y paravaccinia. Los hallazgos demuestran la necesidad de establecer una vigilancia intensificada de poxvirus en humanos y en animales bovinos, así como de desarrollar estudios de ecología viral que permitan identificar los reservorios y huéspedes involucrados en la transmisión de estos virus en la naturaleza.

..... ✕

PE-45. Virus transmitidos por roedores en Colombia: una historia por escribir

Francisco Javier Díaz

Grupos de Inmunovirología y Centauro, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El arenavirus y el hantavirus son agentes etiológicos de varias enfermedades potencialmente fatales como la fiebre hemorrágica, la falla renal, el síndrome de dificultad respiratoria del adulto y la meningitis. La distribución de las diferentes especies de dichos virus y de las enfermedades asociadas está determinada por la distribución de la especie del roedor que le sirve de reservorio.

En Colombia, la investigación en dichos agentes se inició en los años 60 con el descubrimiento del virus Pichindé, un arenavirus no patógeno para

el humano. Se ha reportado la presencia de anticuerpos reactivos a este virus y al Guanarito, otro arenavirus, en roedores y humanos del noroccidente del país. En la misma región se ha demostrado en pruebas serológicas y genéticas la infección por hantavirus en humanos y roedores. Un hantavirus denominado Necoclí se caracterizó genéticamente y los datos preliminares sugieren que está asociado a la enfermedad febril no fatal. *Zygodontomys (brevicauda) cherriei*, un roedor común en las zonas rurales de Colombia, se ha asociado tanto al hantavirus como al arenavirus en el país.

La información disponible, aunque escasa, indica que al menos un arenavirus y un hantavirus son enzoóticos en Colombia. Las implicaciones de esta situación para la salud humana aún se desconocen.

..... ✕

PE-46. Primeros resultados serológicos positivos para hantavirus en casos febriles en el departamento del Quindío, 2014

Jhon Carlos Castaño-Osorio¹, María Mercedes González¹, Diana Patricia Londoño¹, Ana Cecilia López², Delia Piedad Recalde¹, Carlos Andrés Rodríguez¹

¹ Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

² Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

Las enfermedades agrupadas bajo la denominación de síndrome febril icterico y febril hemorrágico son un motivo frecuente de consulta. Se han reportado previamente resultados de pruebas serológicas que demostraban la circulación hantavirus en humanos en Antioquia, así como de pruebas genéticas y serológicas en roedores en Antioquia y Sucre. No existen evidencias de circulación del hantavirus en el Quindío.

En este estudio se determinó la participación del hantavirus en la etiología del síndrome febril mediante pruebas serológicas en personas del departamento del Quindío.

En los pacientes que consultaron por síndrome febril en los hospitales de todos los municipios del Quindío durante el segundo semestre del 2014, se hicieron pruebas rápidas de detección NS1, IgG e IgM para dengue, de IgG e IgM para leptospira, de IgM para malaria, de antígeno de superficie para hepatitis B, así como la prueba ELISA para IgM de hantavirus y la prueba de IFI para IgG e IgM de

Rickettsia rickettsii y *Rickettsia typhi*. Como prueba confirmatoria para el dengue se utilizó la prueba ELISA para la captura de IgM.

Se analizaron 206 muestras provenientes de todos los municipios del departamento, de las cuales ocho fueron positivas para IgM de hantavirus; no se presentó ningún caso de infección concomitante con los demás agentes patógenos estudiados. Los pacientes procedían de los municipios de Armenia (4) y Calarcá (4). El 87,5 % de ellos presentó fiebre y cefalea; 75 %, mialgias; 62,5 %, dolor abdominal; 50 %, vómito y artralgias; 37,5 %, diarrea; 25 %, dolor retroorbital y 12,5 % otros síntomas como ictericia, hiperemia conjuntival, erupción cutánea, oliguria, epistaxis e hipotensión. Todos los pacientes presentaron mejoría clínica.

Se reportan por primera vez en el departamento del Quindío resultados de pruebas serológicas positivas para hantavirus como agente causal del síndrome febril icterico y febril ihemorrágico con evolución clínica favorable en todos los pacientes.

..... ✕

PE-47. Seroprevalencia de arenavirus y hantavirus en tres comunidades indígenas del Caribe colombiano

Amada Bolaños¹, Carolina Montoya², Juan C. Pérez², Juan D. Rodas², Camilo Guzmán¹, Salim Máttar¹

¹ Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

² Grupo Centauro, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Los arenavirus y los hantavirus son agentes etiológicos de fiebres hemorrágicas, principalmente transmitidos por roedores.

El objetivo del presente estudio fue establecer la seroprevalencia de los arenavirus y hantavirus en tres comunidades indígenas del Caribe colombiano.

Se usó la técnica de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos del tipo IgG contra arenavirus y hantavirus. Se utilizaron antígenos de hantavirus (Maciel) y de arenavirus (Junín) cultivados en células Vero, los cuales fueron donados por Silvana Levis, del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas de Argentina. Se analizaron 506 sueros correspondientes a las poblaciones indígenas de los kankuamos (n=158, César), de los wayuu (n=167, La Guajira) y de la población indígena de Tuchín (n=181, Córdoba).

De 506 muestras, cinco (1 %) fueron positivas para el hantavirus Maciel y dos para el arenavirus Junín (0,40 %). Tres de las cinco muestras seropositivas para el hantavirus Maciel correspondieron a la población de los kankuamos en Cesar y dos a los indígenas de Tuchín en Córdoba. De los tres individuos positivos para hantavirus de los kankuamos, dos eran hombres dedicados a la agricultura, ninguno había sido hospitalizado recientemente ni presentaba síntomas compatibles con fiebres hemorrágicas, convivían con ratones y sus casas eran de tablas, adobe o bahareque. Una de las personas seropositivas para hantavirus de Tuchín era un ama de casa en cuya vivienda había roedores. Las muestras positivas para el arenavirus Junín fueron de dos mujeres kankuamo adultas, sin síntomas compatibles con fiebres hemorrágicas, que refirieron haber tenido contacto con roedores en sus viviendas. De los 167 sueros de la población wayuu de la Guajira, ninguno fue positivo para hantavirus o arenavirus.

La seroprevalencia, aunque baja, demostró la circulación de estos virus hemorrágicos en las poblaciones indígenas del Caribe. Llama la atención que los individuos seropositivos para arenavirus fueran habitantes de regiones cercanas a Venezuela donde se han reportado casos de fiebre hemorrágica por el arenavirus Guarinito.

..... ✕

PE-48. Resultados serológicos indicativos de infecciones por *Leptospira*, virus del dengue, hantavirus y arenavirus en indígenas embera-katío de Colombia

Berta Nelly Restrepo¹, Juan David Rodas², Carolina Montoya-Ruiz², Angélica M. Zuluaga², Gabriel Parra-Henao^{1,3}, Piedad Agudelo-Flórez^{1,4}

¹ Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Colombia

² Grupo Centauro, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

³ Epidemiología y Bioestadística, Universidad CES, Medellín, Colombia

⁴ Facultad de Medicina, Universidad CES, Medellín, Colombia

La comunidad indígena embera-katío del alto Sinú, Córdoba, vive en condiciones ambientales, climáticas y sociales que la exponen a diferentes agentes infecciosos reemergentes y emergentes,

así como a agentes zoonóticos o transmitidos por vectores, los cuales representan nuevos problemas de salud para esas comunidades.

El estudio se propuso la detección de infecciones por leptospira, virus del dengue, hantavirus y arenavirus en una población indígena embera-katio de Colombia, así como explorar las asociaciones entre los resultados seropositivos y los factores sociodemográficos.

Se estudiaron 422 muestras de suero disponibles en el Banco de Sueros del Instituto Colombiano de Medicina Tropical de la Universidad CES mediante pruebas serológicas específicas para los cinco agentes infecciosos de interés.

La seropositividad para IgG contra *Leptospira* spp. fue de 18,1% (IC_{95%} 14,42-22,28). La prueba de microaglutinación determinó que los serogrupos Australis y Bratislava fueron los más

frecuentes, seguidos de *Icterohaemorrhagiae* y Panamá. En cuanto al virus del dengue, el 61,1 % fue positivo de para IgG (IC_{95%} 56,30-65,81), y el 5,0 % para IgM (IC_{95%} 3,55-8,09). La frecuencia de IgG de arenavirus fue de 3,1 % (IC_{95%} 1,7-5,6), y de IgG de hantavirus fue de 1,5 % (IC_{95%} 0,7-3,6). Se estableció asociación entre los resultados seropositivos para el virus del dengue y la condición de ser estudiante. El ser agricultor se asoció con la positividad para *Leptospira* spp. ($p < 0,05$).

Los resultados de las pruebas serológicas señalan que en la población indígena embera-katio han circulado agentes reemergentes y emergentes en un ambiente carente de servicios públicos, con presencia de vectores y de roedores domésticos y silvestres, todas las cuales son condiciones favorables para la diseminación de enfermedades de interés en salud pública.

..... ✕

VIRUS ENTÉRICOS Y ENTEROVIRUS

PE-41. Erradicación de la poliomielitis por poliovirus, ¿un logro mundial cercano?

Dioselina Peláez

Grupo de Virología, Subdirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

Son considerables los avances logrados en la erradicación de la poliomielitis desde el comienzo de la iniciativa para eliminarla lanzada en 1988; el número de casos disminuyó de 350.000 a 14 en marzo de 2015 en todo el mundo gracias a la inmunización rutinaria y suplementaria con vacuna oral, así como a las actividades de “barrido”, a la vigilancia exhaustiva de la parálisis flácida aguda en menores de 15 años, a la vigilancia ambiental y a una red de laboratorios de poliomielitis de altísima calidad dedicados a la búsqueda e identificación adecuada y oportuna del virus en muestras de heces.

En este estudio se presentan los avances de la iniciativa para la erradicación del poliovirus salvaje en el mundo, y los retos y riesgos que persisten para lograr la certificación de la erradicación en el 2018.

Se hizo una revisión detallada de los informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre los avances de la iniciativa de erradicación del

poliovirus salvaje por periodos de cinco años entre 1988 y 2015.

La erradicación del poliovirus salvaje en las regiones del mundo ha sido progresiva y continua. La Región de las Américas fue la primera en lograr la certificación en 1994. Sin embargo, la fecha límite para la declaratoria de la erradicación ha sido postergada al menos 15 años, ya que los avances en las diversas regiones de la OMS han sido diferentes debido a factores epidemiológicos, geográficos y políticos, así como a otras limitaciones imposibles de evitar como los conflictos armados y el nivel de desarrollo general en algunos países de las otras cinco regiones.

La erradicación de la poliomielitis constituye una urgencia programática de alcance mundial para la salud pública. La erradicación y la finalización del Plan 2013-2018 orientan las estrategias de erradicación de todas las formas de poliomielitis, causadas ya sea por el poliovirus salvaje o por el poliovirus derivado de la vacuna.

El legado de esta iniciativa será la provisión de otros servicios de salud a los niños más vulnerables del mundo.

..... ✕

PE-42. *Bifidobacterium adolescentis*, probiótico con actividad antiviral contra el rotavirus

M. F. Gutiérrez, J. C. Ulloa, K. Fernández, S. Salas, J. López, F. Vélez, N. Olaya

Grupo de Enfermedades Infecciosas - Virología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

El rotavirus es la mayor causa de gastroenteritis en niños menores de cinco años a nivel mundial y, aunque existen medidas preventivas como la vacunación y tratamientos como la rehidratación, el mundo se encuentra en constante búsqueda de medidas alternativas, entre ellas el uso de probióticos para el control de este agente patógeno.

El objetivo del estudio fue determinar la capacidad que tienen las bacterias probióticas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium bifidum* para disminuir la infección *in vitro* por rotavirus.

El efecto antiviral de estos probióticos se evaluó con tres estrategias: 1) la bacteria completa y viable; 2) los metabolitos primarios extraídos del cultivo bacteriano en medio MRS, y 3) los extractos proteicos obtenidos de las bacterias mediante sonicación en presencia de lizosima y de laurilsulfato sódico. La actividad contra el rotavirus se visualizó con la disminución *in vitro* de la infección, y la producción de calcio intracelular por parte de la proteína no estructural NSP4. Los efectos se cuantificaron mediante citometría de flujo e inmunocitoquímica.

De las cuatro bacterias estudiadas, solamente *B. adolescentis* logró un efecto antiviral contra el rotavirus con los tres mecanismos evaluados, interfiriendo directamente la acción del virus antes de ingresar a la célula; también se observó que los extractos proteicos de estas bacterias interactuaban con los receptores HSC70 y con la integrina $\beta 3$ de las células susceptibles a la infección por rotavirus inhibiendo la adherencia viral, y ya dentro de la célula sus metabolitos fueron capaces de generar una disminución de la cantidad de la proteína NSP4 y del calcio producidos por la infección.

Bifidobacterium adolescentis disminuyó la infección por rotavirus afectando la entrada del virus a la célula blanco mediante la adhesión de extractos proteicos bacterianos o metabolitos primarios a las moléculas receptoras del virus como la HSC70 y la integrina $\beta 3$. Igualmente, produjo una disminución de la enterotoxina NSP4, regulando la producción del calcio en la célula.

..... X

PE-43. Vigilancia de la enfermedad diarreica aguda causada por rotavirus y otros virus de gastroenteritis en Colombia, 2008 - 2014

Johanna Rodríguez¹, Giselle Clavijo-Yate¹, Mariel Palacios-Vivero¹, Catleya Abella-Barreto¹, Elsa Bravo-de Plata², Jenny Núñez-Carrillo³, Gloria Dussan-Soto⁴, Orlando Castillo-Pabón⁵, Dioselina Peláez-Carvajal¹

¹ Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Laboratorio de Salud Pública, Barranquilla, Colombia

³ Laboratorio de Salud Pública, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Laboratorio de Salud Pública, Neiva, Huila, Colombia

⁵ Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad diarreica aguda es una de las principales causas de muerte que registra altas tasas de morbilidad, especialmente en las edades extremas de la vida, siendo la enfermedad de origen viral la forma más frecuente. En el 2008, Colombia inició la vigilancia centinela de la enfermedad diarreica aguda por rotavirus en menores de cinco años en algunos municipios, y en un estudio anidado se han buscado otros agentes como adenovirus, astrovirus y norovirus.

Este estudio se propuso detectar y caracterizar rotavirus y otros virus causantes de gastroenteritis en muestras fecales remitidas por los hospitales centinela y en muestras recolectadas durante brotes de la enfermedad.

La vigilancia epidemiológica es de tipo centinela y se hace a nivel hospitalario según los criterios de la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud; el flujo de la información también sigue el protocolo establecido por estos organismos.

Las muestras fecales se recolectan y se procesan en los hospitales, en los laboratorios de salud pública o en el Instituto Nacional de Salud. La confirmación se hace mediante ELISA (rotavirus, adenovirus, norovirus y astrovirus), y la caracterización de los genotipos G (VP7) y P (VP4) se hace mediante PCR en tiempo real o secuencia del genoma viral.

Las muestras positivas para rotavirus ha ido en descenso (de 51,9 % en el 2008 a 18,5 % en el 2014); la de norovirus ha aumentado (de 5,7 % en el 2008 a 22,2 % en el 2012); la de adenovirus se

ha mostrado estable (12 % en el 2009 y el 2010), y la de astrovirus ha descendido (de 0,7 % en el 2010 a 3,1 % en el 2014). En cuanto a los brotes, los rotavirus han sido responsables del 47 % de los casos. Los genotipos de rotavirus más frecuentes fueron G2P[6], G2P[4] y G12[8], en tanto que los genotipos G3P[8], G9[6], G9P[4], G2P[6], G2P[8] y G12P[6] tuvieron una menor circulación. Desde el 2009 no circula el G1P[8].

Los genotipos de rotavirus circulantes en Colombia han presentado diversidad genética antes y después de la introducción de la vacuna monovalente. Es importante ejercer un mayor control en las salas de neonatos para evitar brotes como el causado por el genotipo G12P[6] en Bogotá.

..... ✕

PE-44. Los genotipos de rotavirus antes y después de la introducción de la vacuna en los países de la Región de las Américas

Gloria Rey-Benito

Departamento de Familia, Género y Curso de Vida–Inmunización Integral de la Familia (FGL/IM), Organización Panamericana de la Salud

El rotavirus del grupo A es uno de los agentes asociados a la enfermedad diarreica aguda que puede conducir a deshidratación grave, choque y muerte. Se estima que una tercera parte de las gastroenteritis reportadas mundialmente son causadas por este rotavirus. Desde el 2006 se aplican dos vacunas orales con licencia: la monovalente humana y la pentavalente recombinante humano-bovino. La Organización Mundial de la Salud recomienda la introducción de la vacuna en países que reportan más de 10 % de mortalidad en menores de cinco años de edad.

En este estudio se describen los genotipos de rotavirus identificados entre el 2010 y el 2013 mediante la vigilancia centinela en algunos países de Latinoamérica y el Caribe que han introducido la vacuna y en algunos en que no se ha hecho.

Se recolectaron muestras de heces de niños menores de cinco años hospitalizados por diarrea aguda, las cuales se analizaron inicialmente mediante ELISA para detectar el antígeno y después mediante PCR en tiempo real para amplificar los genes *VP4* y *VP7* con el fin de determinar los genotipos P y G.

Los países que han introducido la vacuna reportaron 6.405 genotipos a la Organización Panamericana de la Salud: 1.845, 1.455, 1.942 y 1.163 en los años 2010, 2011, 2012 y 2013, respectivamente. La mayor proporción de positivos por genotipo la registraron el G1P[8] (8,1 %, 5,5 %, 0,7 % y 4,0 %); el G2P[4] (28,8 %, 34,6 %, 29,9 % y 10,7 %); el G3P[8] (14,0 %, 28,2 %, 14,2 % y 14,6 %); el G3P[6] (1,2 %, 6,0 %, 10,6 % y 4,0 %); el G9P[8] (2,3 %, 5,7 %, 3,6 % y 10,7 %); el G9P[4] (30,0 %, 7,1 %, 2,4 % y 0 %), y el G12P[8] (0 %, 0,1 %, 26,4 % y 34,4 %).

Los países que no han introducido la vacuna reportaron 710 genotipos: 119 en el 2010, 194 en el 2011, 228 en el 2012 y 169 en el 2013; la mayor proporción de positivos por genotipo la registraron el G1P[8] (6,72 %, 49,5 %, 51,3 % y 61,5 %); el G2P[4] (19 %, 3,6 %, 8,3 % y 1,8 %); el G3P[8] (0,8 %, 10,0 %, 8,3 % y 1,8 %); el G9P[8] (23,0 %, 8,8 %, 17,0 % y 0,6 %), y el G3P[6] (14,0 %, 1,0 %, 0 % y 0 %).

Se han registrado diferencias en la distribución de los genotipos y en la variabilidad anual tanto en los países que han introducido la vacuna como en los que no, y se evidencia una mayor variabilidad en la circulación de genotipos en aquellos que han introducido la vacuna.

Es importante mantener la vigilancia y llevar a cabo más estudios para documentar cómo la vacuna no ejerce presión selectiva sobre la circulación de los genotipos del rotavirus del grupo A.

..... ✕

PE-49. Identificación molecular de los subgrupos y los tipos de adenovirus entéricos en menores de cinco años de Bogotá, D.C.

Sandra Gómez¹, Sergio Castañeda¹, Leidy Pedraza², Deisy Blanco², Liliana Díaz¹, Diane Moyano³, Patricia Arce³, Hernán Vargas¹

¹ Grupo de Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

² Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

³ Vigilancia en Salud Pública, Secretaría de Salud de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

Al menos 58 serotipos de adenovirus se han identificado y agrupado en seis subgrupos (A-F). Se ha reportado la presencia de los subgrupos A, B, C

y D, que comúnmente corresponden a adenovirus respiratorios, en materia fecal de niños con cuadros clínicos de gastroenteritis; sin embargo, los subgrupos E y F (tipos 40 y 41) presentan tropismo exclusivamente hacia el tracto gastrointestinal, por lo que están directamente relacionados con las gastroenteritis agudas y son responsables de 1 a 20 % de los casos de enfermedad diarreica aguda a nivel mundial.

El objetivo del estudio fue caracterizar molecularmente los adenovirus entéricos (subgrupos y tipos 40 y 41) captados por la vigilancia centinela de la enfermedad diarreica aguda en Bogotá.

Este estudio descriptivo retrospectivo analizó 254 muestras de materia fecal de niños menores de cinco años captados por la vigilancia de la enfermedad diarreica aguda en las siete unidades centinelas de Bogotá durante el 2012 y el 2013. Se estandarizó, validó y aplicó una PCR convencional

para la identificación del adenovirus genérico, así como de los subgrupos y de los tipos 40 y 41.

La prevalencia del adenovirus genérico en el periodo de estudio fue de 5,5 % (IC_{95%}: 2,5 - 8,5), y específicamente de 6,7 % para el 2012 y 4,6 % para el 2013. La positividad viral fue de 78,6 % en niños menores de un año, y de 21,4 % en niños de uno a cinco años. La distribución por subgrupos fue la siguiente: A, 7,2 %; B, 28,5 %; D, 14,3 %; E, 14,3 %, y F, 35,7 %. Se identificó el AdV 40 en cinco muestras, y en una de estas se presentó infección concomitante con el AdV 41.

Este es el primer estudio en Bogotá sobre la prevalencia de los subgrupos y de los tipos 40 y 41 de adenovirus estimada mediante PCR convencional en muestras de materia fecal de niños menores de cinco años cuyos casos fueron captados por la vigilancia centinela de la enfermedad diarreica aguda.

..... X

VIRUS DE LA HEPATITIS

PE-25. Epidemiología de la infección por el virus de la hepatitis B y el virus de la hepatitis delta en Colombia

María Cristina Navas

Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

La incidencia de la hepatitis B en Colombia fue de 4,34 por 100.000 en el 2014, con una acentuada heterogeneidad entre las diferentes regiones del país. Con respecto a la infección por el virus de la hepatitis delta, no hay regularidad en la notificación, pero existe el registro de atención de brotes que da cuenta de los casos de infección concomitante y de superinfección.

En un estudio reciente en individuos asintomáticos de 19 comunidades indígenas del departamento del Amazonas se demostró una frecuencia de casos de superinfección con los virus de hepatitis B y delta de 43,3 %. En nueve de las muestras se identificó un solo genotipo del virus de la hepatitis B (F, subgenotipo F1b) y en siete de ellas, un solo genotipo del virus de la hepatitis delta (III).

Este hallazgo contrasta con los resultados de un estudio llevado a cabo en paralelo en las mismas comunidades. La prevalencia de los marcadores de infección por el virus de la hepatitis B observada en niños menores de 10 años (HBsAg, 0,5 %; anti-HBc, 3,6 %) demostró la efectividad del programa de vacunación, aunque no fue este el caso de las madres (HBsAg, 8,5%; anti-HBc, 30,8 %). El análisis filogenético de siete aislamientos permitió identificar los genotipos F (6/7) y A (1/7). En los aislamientos del genotipo F, cinco correspondieron al subgenotipo F1b y uno al subgenotipo F1a.

La caracterización del genotipo A y el subgenotipo F1a en comunidades indígenas del Amazonas no se esperaba, ya que el genotipo A se ha descrito principalmente en población colombiana afrodescendiente (en Quibdó, Chocó); en el caso del subgenotipo F1a, este circula fundamentalmente en poblaciones de Centroamérica, aunque hay algunos reportes identificados también en población colombiana.

Según estudios previos entre donantes de sangre y pacientes con enfermedades hepáticas terminales, el principal genotipo del virus de la hepatitis B en

población colombiana es el F, subgenotipo F3. Sin embargo, estos estudios recientes sugieren una distribución de los genotipos según regiones debido, probablemente, a la diversidad étnica del país.

..... X

PE-26. Evidencia molecular de virus de la hepatitis E en fuentes de agua en Antioquia

Paula A. Báez¹, Carlos Mario Jaramillo¹, Lina Arismendi², Julio C. Rendón¹, Fabián Cortés-Mancera^{1,3}, Mónica Toro¹, Dioselina Peláez⁴, María Mercedes González⁵, Francisco Molina², María-Cristina Navas¹

¹ Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental, GAIA, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

³ Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GI²B, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

⁴ Grupo de Virología, Subdirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Grupo de Inmunología Molecular, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

La Organización Mundial de la Salud estima que se presentan 20 millones de infecciones por el virus de la hepatitis E cada año en el mundo. En Colombia, la información epidemiológica sobre este agente patógeno de transmisión entérica y de carácter zoonótico es limitada.

En este estudio se buscó determinar la presencia del virus de la hepatitis E en muestras de agua tomadas en la fuente principal de abastecimiento de los acueductos y las plantas de tratamiento de aguas residuales de nueve municipios de cada una de las subregiones de Antioquia.

Entre diciembre de 2012 y mayo de 2013 se obtuvieron tres muestras seriadas de agua previamente tratada en los acueductos, así como en los sitios de descarga de aguas residuales de cada municipio. Las muestras de los acueductos se sometieron a concentración mediante filtración y ultrafiltración tangencial y las de las plantas de tratamiento de aguas residuales mediante las técnicas de polietilenglicol y floculación con leche descremada.

Se extrajo el ARN viral y se amplificó la región ORF 2/3 mediante PCR anidada con transcripción inversa.

El genoma del virus de la hepatitis E se detectó en las muestras de los acueductos de los municipios de Granada, Zaragoza y Puerto Berrío (primer muestreo); de San Pedro de los Milagros, Granada y Frontino (segundo muestreo), y de Girardota, vereda San Andrés (tercer muestreo). En las muestras de las plantas de tratamiento de aguas residuales se detectó el genoma viral en San Pedro de Los Milagros, Venecia y Cisneros (primer muestreo), y en Zaragoza y San Pedro de Los Milagros (tercer muestreo). El genotipo 3 del virus se identificó en tres de las muestras de las plantas de tratamiento de aguas residuales (mediante la herramienta MEGA 5.2). Este genotipo se ha relacionado con casos de zoonosis en Latinoamérica y en países industrializados.

El genotipo 3 del virus de la hepatitis E se identificó en muestras de las plantas de tratamiento de aguas residuales, lo que concuerda con lo reportado previamente en pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis viral en Medellín y en otros países de la región. La detección del genoma del virus de la hepatitis E en las muestras de agua de regiones con una importante producción porcina como San Pedro de los Milagros y Cisneros implica un riesgo de infección para la comunidad.

..... ✕

PE-27. Detección serológica y molecular del virus de la hepatitis E en humanos y en cerdos en Antioquia

Cristian Gutiérrez^{1,2}, Jorge Forero¹, Lina Gutiérrez², Jaime Parra¹, Albeiro López¹

¹ Grupo de Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM), Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

² Grupo de Biología de Sistemas, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín Colombia

La hepatitis E es una enfermedad producida por el virus de la hepatitis E, el cual se considera el agente viral causante del mayor número de casos de hepatitis agudas alrededor del mundo. Las principales vías de transmisión son la fecal-oral y la zoonótica. Se ha demostrado que el cerdo doméstico es un reservorio de este virus. En este estudio se determinaron los anticuerpos totales IgG e IgM seropositivos para el virus de la hepatitis

E mediante ELISA, y se detectó el virus mediante PCR con transcripción inversa en cerdos y en humanos en 10 municipios de Antioquia.

Se analizaron muestras de 750 cerdos en 30 granjas, y de 1.176 humanos. Se utilizó el programa R, versión 2.15.2, para los análisis estadísticos. El 100 % de los cerdos fueron positivos para anticuerpos IgG, mientras que 57 % de las muestras evaluadas fueron positivas para anticuerpos IgM. En el caso de los humanos, el 3,3 % de los evaluados fueron positivos para anticuerpos totales (IgG/IgM), y el 0,2 % lo fue para anticuerpos IgM. El análisis molecular determinó que el 26 % de los cerdos presentó material genético de virus de la hepatitis E en sus heces. Ninguna de las muestras positivas para IgM en los humanos lo fue para el ARN del virus.

Los resultados demostraron la circulación de anticuerpos contra el virus de la hepatitis E en humanos y cerdos, así como la presencia de material genético del virus en estos últimos.

..... ✕

PE-28. Infección concomitante con el virus de la hepatitis E y otros agentes de hepatitis virales en Colombia

Daniel Martínez-Vargas¹, José Usme-Ciro², Martha P.Escalante², Mariel Palacios-Vivero², Lady Contreras-Gómez², Dioselina Peláez-Carvajal²

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Virología, Subdirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Desde 1997 se ha reportado el virus de la hepatitis E como el principal agente etiológico de hepatitis entérica en el mundo, y se le ha asociado con infecciones esporádicas y brotes epidémicos relacionados con el consumo de agua contaminada, especialmente en áreas con infraestructuras sanitarias deficientes, así como con infecciones de origen zoonótico.

Este estudio se propuso detectar mediante pruebas serológicas y moleculares la infección concomitante por el virus de la hepatitis E y por otros virus hepatotropos en sueros IgM (+) para el virus de la hepatitis A; HBsAg (+) para el virus de la hepatitis B, y RIBA (+) para el virus de la hepatitis C, conservados en la seroteca del Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud.

Se seleccionaron 1.097 sueros con dato confirmado de IgM contra el virus de la hepatitis A, y de HBsAg y RIBA para el virus de la hepatitis C. Todos los sueros se sometieron a una prueba ELISA de tercera generación para detectar anticuerpos IgG e IgM contra el virus de la hepatitis E. Mediante PCR con transcripción inversa se procesaron las muestras positivas para IgG e IgM y se amplificaron fragmentos de las regiones ORF1 y ORF2 del virus de la hepatitis E; además, se hizo el análisis filogenético.

Del total de muestras, 342 fueron positivas para IgG contra el virus de la hepatitis E y 126 para IgM contra el mismo virus; 64 fueron positivas para los dos tipos de anticuerpos. Los seropositivos en general fueron el 31,2 % para IgG y el 11,5 % para IgM. La infección concomitante por virus de la hepatitis A y por el de la hepatitis E fue de 33,6 % y 16,1 % para IgG e IgM, respectivamente; por virus de la hepatitis B y virus de la hepatitis E fue de 23,4 % y 8,14 %, y por virus de la hepatitis C y virus de hepatitis E fue de 35,4 % y 5,8 %. Las 64 muestras positivas para IgG e IgM se analizaron mediante PCR con transcripción inversa para detectar el ARN viral. De las 14 muestras que han resultado positivas hasta el momento, cuatro correspondieron al genotipo 3 y fueron tomadas de pacientes procedentes de Putumayo (2), Vichada y Magdalena en los años 2006, 2007 y 2011, respectivamente, y se alinearon con la cepa HEV/SW/NL/2005-1068 de origen porcino.

En el estudio se demostró un alto porcentaje de infección concomitante por virus de la hepatitis E y otros agentes de hepatitis virales, lo que resalta la necesidad de una mayor vigilancia de este virus en el país, pues puede causar complicaciones hepáticas o sistémicas adicionales. La caracterización molecular, que confirmó la circulación del genotipo 3, resalta la importancia zoonótica de este virus en el país.

..... ✕

PE-39. Análisis bioinformático de la estructura secundaria del sitio interno de entrada al ribosoma (dominio II) de aislamientos del virus de la hepatitis C provenientes de pacientes colombianos

Luisa Fernanda Restrepo¹, Diana di Fillipo¹, Fabián Cortés-Mancera^{1,2}, María-Cristina Navas¹

¹ Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GI²B, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

El virus de la hepatitis C tiene un genoma de ARN que presenta una estructura secundaria (2D) en la región no codificante 5', conocida como sitio interno de entrada al ribosoma (*Internal Ribosome Entry Site*, IRES); esta estructura es necesaria para la síntesis de la poliproteína viral por interacción con factores de iniciación de la traducción y del ribosoma.

En este estudio se analizó mediante bioinformática la estructura 2D del IRES (dominio II) a partir de secuencias de aislamientos del virus de la hepatitis C provenientes de pacientes colombianos sometidos a múltiples transfusiones.

Se incluyeron en el análisis secuencias de IRES del virus de la hepatitis C, subgenotipos 1a (1), 1b (5), 2b (1) y 3a (1) (GenBank: KM275478-85), caracterizadas en un estudio previo. Se hizo un alineamiento múltiple contra secuencias consenso y secuencias prototipo (GenBank: 1a-M62321, 1b-D90208, 2b-Da31606, 3a-D17763) usando el programa Clustal W (Bioedit, v. 7.2.5). La predicción y la modelación de las estructuras 2D del dominio II se hicieron con los programas VARNA 3.8 y Assemble 2.1.0.0; las energías libres de estas estructuras se calcularon con el programa RNAeval (Vienna RNA package 2.0).

El alineamiento mostró 5 sustituciones: G70A (1b), C78U (3a), G107A (1b), U113C (1b), y una inserción de adenina en la posición 75A (1b). La predicción de la estructura 2D mostró que U113C (KM275483) altera el apareamiento original de 50A=U113 ($\Delta G = -12,7$ kcal/mol); la secuencia KM275478 no presentó sustituciones ($\Delta G = -18,0$ kcal/mol).

Las sustituciones que causaron pérdida de apareamientos estuvieron directamente relacionadas con el aumento de la energía libre en la estructura 2D. Es necesario evaluar si estos cambios en la energía libre están relacionados con algún efecto en la eficiencia de la traducción del genoma viral.

..... ✕

VIRUS DEL ÉBOLA

PE-31. Epidemias virales: el virus del Ébola

Luis Enjuanes, Isabel Sola

Departamento de Biología Molecular y Celular, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid, España

Los virus que infectan al hombre han evolucionado con los humanos, y algunos han comenzado a afectar a la población humana recientemente. Dos tercios del total de las enfermedades transmisibles que afectan a los seres humanos son zoonóticas, es decir, adquiridas a partir de animales vertebrados. Asimismo, aproximadamente el 75 % de las infecciones humanas emergentes son zoonosis. La gripe, la inmunodeficiencia adquirida, el síndrome respiratorio grave y el agudo producidos por el virus SARS-CoV, el síndrome respiratorio de Oriente Medio producido por el virus MERS-CoV, la fiebre del Nilo Occidental y las enfermedades hemorrágicas producidas por filovirus son infecciones transmitidas por los animales al hombre.

La actual epidemia causada por el virus del Ébola sigue activa aunque está declinando. Hasta enero del 2015 se habían registrado más de 22.000 casos con unos 9.000 fallecimientos. La virulencia del virus del Ébola se debe a varias de sus propiedades: (i) infecta muchos tipos de células, entre ellas varias esenciales para la respuesta inmunitaria, y altera el sistema vascular y la coagulación; (ii) induce inmunosupresión, disminuyendo la respuesta por interferón, y (iii) utiliza un mecanismo de subversión antigénica.

Para controlar al virus del Ébola se han desarrollado distintos tratamientos clínicos: (i) el mantenimiento de la homeostasis del paciente y la terapia antibacteriana; (ii) el uso de suero de pacientes que han superado la enfermedad; (iii) la administración de anticuerpos monoclonales 'humanizados'; (iv) el tratamiento con antivirales; (v) la aplicación de ARN de interferencia, y (vi) la vacunación.

Se han desarrollado varios tipos de vacunas: (i) las basadas en virus inactivado; (ii) las vacunas subunidad; (iii) las vacunas de ADN; (iv) las partículas análogas al virus; (v) las basadas en el propio virus en el que se ha suprimido un gen para transformarlo en un virus defectivo en propagación, y (vi) las basadas en vectores virales no replicadores o competentes en replicación y diseminación.

En esta presentación se revisan las ventajas y las limitaciones de estos tipos de vacunas, así como los problemas derivados del comportamiento humano.

..... X

PE-32. Acciones de vigilancia para enfrentar la emergencia de salud pública de importancia internacional por el virus del Ébola en Colombia

Oscar Pacheco¹, Juliana Barbosa-Ramírez²

¹ Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, DC, Colombia

² Grupo de Virología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, DC, Colombia

La transmisión de humano a humano del virus del Ébola en los países de África ha sido, sin duda, el reto más difícil que han tenido que enfrentar los sistemas de vigilancia epidemiológica y de laboratorio de estas naciones, pero también se ha convertido en una gran oportunidad para el fortalecimiento de los sistemas de alerta temprana y de vigilancia de emergencias de salud pública de importancia internacional en los países que se acogieron al Reglamento Sanitario Internacional, como es el caso de Colombia.

En el presente trabajo se da cuenta de las acciones de vigilancia epidemiológica y por el laboratorio que deben desplegarse ante un eventual caso sospechoso de enfermedad por el virus del Ébola en Colombia.

Durante la fase de preparación para una posible introducción de casos de Ébola en Colombia, en el Instituto Nacional de Salud se hicieron revisiones bibliográficas, así como el seguimiento al comportamiento de la enfermedad, la evaluación de las experiencias de los países con transmisión activa del virus y casos autóctonos y de las capacidades resolutivas de los equipos de respuesta inmediata del país, y el análisis del riesgo del virus para la salud pública.

El Instituto Nacional de Salud produjo y publicó los lineamientos para la vigilancia en salud pública y por laboratorio del virus del Ébola, así como las recomendaciones e instructivos para el uso

de los elementos de protección personal ante la exposición a agentes biológicos en las actividades de los equipos de salud pública. Hoy el 90 % de las entidades territoriales disponen de equipos de respuesta inmediata, pero solo el 15 % de ellos están conformados de manera idónea.

Se requiere de la constante preparación y fortalecimiento de los equipos de vigilancia en salud pública en los territorios para asumir adecuadamente las acciones que deben desarrollarse con el fin de enfrentar cualquier emergencia de salud pública de importancia internacional en el país.

..... X

VIRUS ANIMALES

PE-21. Seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky en Colombia

Diana Gómez-Rueda¹, María Antonia Rincón¹, Lina María Pérez¹, Yolanda Chimbi¹, Lorena Velasco¹, José Fernando Naranjo², Wilmer Silva²

¹ Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Bogotá, D.C., Colombia

² Área Técnica, Asociación Colombiana de Porcicultores, Bogotá, D.C., Colombia

La enfermedad de Aujeszky, también conocida como pseudorabia, es causada por el herpesvirus-1, cuyo huésped natural es el cerdo, pero que también afecta a otras especies domésticas y salvajes. En los animales porcinos ocasiona signos en el sistema nervioso y en los sistemas reproductivo y respiratorio (que dependen de la edad del animal), y produce infecciones latentes.

En este estudio se determinó la prevalencia serológica de la enfermedad de Aujeszky, con el fin de establecer su estatus sanitario en los sistemas de producción de porcinos, intensivos y de traspatio, en Colombia.

Teniendo en cuenta el objetivo del estudio, la epidemiología de la enfermedad y los sistemas productivos, se consideró un diseño muestral estratificado en dos etapas. Los estratos definidos fueron la población porcina ubicada en predios de traspatio y aquella ubicada en predios tecnificados. Se muestrearon 381 predios, de los cuales 282 fueron de traspatio y 98, tecnificados, con un tamaño de muestra por predio de 20 animales seleccionados mediante un muestreo aleatorio simple. Con base en esta consideración se muestrearon 5.700 animales para el estrato 1 y 1.960 animales para el estrato 2. Para la evaluación serológica se empleó una prueba comercial de ELISA de bloqueo en la detección de anticuerpos frente al antígeno gI (gE) del virus de la pseudorabia. Las muestras con resultado positivos se confirmaron mediante la técnica de seroneutralización.

El 98,7% de las muestras analizadas fueron seronegativas para Aujeszky. Se obtuvieron 98 muestras positivas mediante ELISA y 76 positivas mediante seroneutralización en 14 predios de traspatio ubicados en La Guajira, Magdalena, Bolívar y Sucre.

La seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky obtenida en este estudio fue de 1,3%. Esta enfermedad está restringida a explotaciones porcinas de traspatio en los departamentos de la frontera con Venezuela y de la Costa Atlántica.

..... X

PE-22. Estudio filogenético de los virus de Newcastle circulantes en Colombia

Claudia Patricia Calderón-Parra, Andrea Victoria Castillo, Jennifer Natalie Castro-Vargas, Fabiola Rodríguez, Néstor Alfonso Mosos-Campos

Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Bogotá, D.C., Colombia

El virus de la enfermedad de Newcastle es el responsable de problemas respiratorios y neurológicos graves en casi todas las especies aviares, y causa importantes pérdidas económicas en la industria avícola. Las técnicas moleculares, como la PCR con transcripción inversa y la secuenciación, son las más adecuadas para definir el origen evolutivo del virus y diferenciarlo con base en la virulencia. En el 2014 se identificaron focos del virus de Newcastle de alta virulencia en Santander; desde entonces se han presentado varios reportes de la enfermedad en diferentes departamentos del país.

El trabajo se centró en el análisis filogenético de las secuencias correspondientes al gen F del virus de Newcastle a partir de muestras de campo recibidas para diagnóstico durante los años 2013, 2014 y 2015. A partir de muestras de tejidos (tráquea, pulmón, encéfalo), de hisopos y

de líquidos alantoideos, se detectó la presencia del virus de Newcastle mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real y la amplificación del gen *F*; posteriormente, se amplificó el gen *F* mediante PCR semianidada con transcripción inversa para secuenciarlo a partir de muestras directas o de aislamientos virales.

Hasta el momento, se han secuenciado alrededor de 150 muestras provenientes de los departamentos de Santander, Norte de Santander, Valle, Risaralda, Meta, Antioquia, Boyacá, Putumayo, Casanare, Magdalena, Nariño, Cundinamarca y Córdoba.

Con base en los resultados obtenidos hasta el momento, las secuencias analizadas desde el 2014 tenían una relación directa con secuencias pertenecientes al grupo VII ya reportadas.

..... ✕

PE-23. Infección por el virus del moquillo canino: más que un salto en la barrera de especies

Marlén Martínez-Gutiérrez^{1,2}, Julián Ruiz-Sáenz¹

¹ Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

² Grupo Infettare, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

El virus del moquillo canino es el agente etiológico de una de las enfermedades más contagiosas de los perros domésticos, la cual se ha convertido en una infección muy prevalente en otros carnívoros y hoy representa una amenaza para la conservación de especies en peligro de extinción en todo el mundo.

El objetivo de este trabajo fue hacer una revisión sistemática y documental del papel del virus del moquillo canino en varios huéspedes diferentes al perro doméstico.

Los datos bibliográficos se obtuvieron de las bases de datos PubMed y Scopus. Se recopilieron datos relacionados con el orden, la familia, el género y la especie de los animales infectados, la presencia o ausencia de signos clínicos, la mortalidad, la confirmación serológica, molecular o antigénica de la infección y la ubicación geográfica, entre otros.

Se evaluaron 199 documentos publicados entre 1964 y 2004 que cumplieran con los criterios de elegibilidad. Se encontraron reportes de infección

por el virus del moquillo canino en los miembros de los órdenes Carnívora (12 familias), Rodentia (cuatro familias), Primates (dos familias), Artiodactyla (tres familias), Cetacea y Proboscidea (una familia de cada uno). El orden Carnívora (excluidos los perros) presentó la gran mayoría de los registros (86,1%). La enfermedad clínica se reportó en 51,4% de los registros y la confirmación serológica en animales sanos se informó en el 50,2% de ellos. La infección por el virus del moquillo canino en huéspedes diferentes a los perros, cuyo principal desenlace es la muerte de los animales, se ha reportado en cuatro de los cinco continentes y en 40 países diferentes.

Los datos actuales apoyan la hipótesis de que el virus del moquillo canino tiene gran potencial para afectar como virus emergente a los animales salvajes no vacunados, y representa una amenaza para las especies silvestres en peligro de extinción (como *Pantheratigris altaica*), sin descartarse la posibilidad de su acción como posible agente zoonótico.

..... ✕

PL-24. Caracterización molecular y filogenética de los virus del moquillo y el parvovirus canino en Colombia

Julián Ruiz-Sáenz^{1,2}

¹ Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

² Grupo de Investigación, GRIPAS, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

El parvovirus canino es considerado uno de los principales agentes patógenos de las poblaciones caninas. Su alta tasa de mutación ha llevado a la aparición y propagación de un nuevo subtipo (CPV-2c), cuyas diferentes propiedades epidemiológicas, antigénicas y patógenas supone una amenaza sanitaria mundial.

En Colombia, se han reportado los subtipos CPV-2a/b, sin embargo, hay pocos estudios que permitan identificar las variantes virales circulantes. Por otro lado, el virus del moquillo canino es el agente causal de una enfermedad muy contagiosa que afecta poblaciones caninas domésticas y silvestres.

Este virus también tiene una alta tasa de mutación, y hasta el momento se han identificado 11 linajes definidos por análisis filogeográfico que se distribuyen alrededor del mundo.

Nuestro equipo de trabajo ha hecho la caracterización molecular de estos agentes, encontrándolos en poblaciones naturalmente infectadas en edades diferentes a las reportadas en la literatura científica y con signos clínicos que difieren de los clásicos. Además, se ha descrito una variante genética del virus del moquillo canino no reportada anteriormente en ningún país y muy divergente de las cepas de vacunas y de otros linajes conocidos, la cual hemos denominado "Suramérica 3".

Se ha confirmado molecularmente mediante polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción la circulación en Antioquia del CPV-2a/b,

así como la ausencia del CPV-2c aun en pacientes con cuadro hemorrágico agudo.

Los resultados demuestran una gran variabilidad genética del virus del moquillo canino con presencia de un linaje completamente único en el país y una circulación recurrente del CPV-2a/b en pacientes con enfermedad clínica no convencional.

Dada la alta variabilidad genética y clínica de estos agentes, es necesario llevar a cabo estudios sobre la eficacia de la vacuna que demuestren el impacto de la vacunación en la epidemiología de estos agentes, así como continuar la vigilancia de nuevas variantes genéticas.

..... ✕

VIRUS VEGETALES

PE-05. Detección de virus vegetales cuarentenarios en Colombia: avances y perspectivas

Ángela María Vargas-Berdugo¹, Adriana Castañeda-Cárdenas², Boris Orduz^{1,3}, Manuel Rodelo-Urrego³

¹ Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Mosquera, Cundinamarca, Colombia

² Dirección Técnica de Análisis y Diagnóstico Agrícola, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Bogotá, D.C., Colombia

³ Laboratorio de Cuarentena Vegetal, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Mosquera, Cundinamarca, Colombia

En las tres últimas décadas el comercio de productos agrícolas ha crecido significativamente a nivel mundial. Los acuerdos pactados entre los países y las organizaciones internacionales involucran no solo aspectos económicos sino también fitosanitarios. En este contexto, los patógenos de plantas juegan un papel protagónico en la aceptación y apertura de mercados.

Para cumplir con las exigencias de dichos acuerdos en el ámbito fitosanitario, Colombia cuenta con el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, el cual brinda respaldo técnico-científico y ofrece servicios para la detección, vigilancia y control de insectos plaga y agentes patógenos presentes en los materiales vegetales de interés económico.

En el Laboratorio de Cuarentena Vegetal del ICA se verifican los requisitos fitosanitarios de los materiales vegetales provenientes de diferentes

lugares del mundo. Los materiales analizados en el Laboratorio provienen de muestreos rutinarios e interceptaciones de material vegetal en puertos y aeropuertos; en sus invernaderos se lleva a cabo la vigilancia de estos materiales en condiciones de confinamiento y se detecta la presencia de agentes patógenos como hongos, nematodos, insectos, bacterias y virus previamente definidos para cada país y cada material vegetal mediante un análisis de riesgos fitosanitarios.

El estado de confinamiento de dichos materiales en el Laboratorio permite la evaluación de patógenos no presentes en Colombia y la certificación del material vegetal libre de patógenos.

En el caso específico de los virus, el Laboratorio cuenta con métodos de biología molecular y serología, lo que, conjuntamente con la vigilancia del material en el invernadero, suministra información suficiente para la toma de importantes decisiones en beneficio de importantes sectores económicos del país.

En esta presentación se describen algunos casos que se han manejado en el Laboratorio de Cuarentena Vegetal y las estrategias adicionales que se tiene planeado implementar para la detección de patógenos virales cuarentenarios en Colombia.

..... ✕

PE-06. Caracterización y diversidad de algunos virus vegetales

Mónica Guzmán-Barney

Laboratorio de Virus Vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Aproximadamente, 1.000 especies de virus son patógenas de vegetales, y de estas la familia Closteroviridae con genoma de ARN(ss+) agrupa las de mayor dimensión, pues algunas alcanzan hasta los 2.000 nm. Las especies *Citrus tristeza virus* (CTV-*Closterovirus*) monopartita y *Potato vein yellow virus* (PVYV-*Crinivirus*) tripartita se vienen estudiando en el Laboratorio de Virus Vegetales de la Universidad Nacional.

Se hizo la caracterización biológica del CTV con base en la expresión de síntomas en plantas indicadoras, así como la caracterización serológica con base en los perfiles de los anticuerpos monoclonales y la caracterización molecular mediante la amplificación y clonación de diferentes genes cuyos productos de PCR se expusieron a enzimas de restricción, a migraciones de cadena sencilla o a metodologías híbridas (RT-PCR y ELISA) con sondas específicas.

Se detectaron las variantes virales en los aislamientos y huéspedes y las mezclas entre ellos. Los análisis filogenéticos permitieron correlacionar secuencias de cadena sencilla con sintomatologías específicas, por ejemplo, en casos de sintomatología leve (2), se correlacionaron secuencias útiles para esquemas de inmunización previa y aislamientos de individuos con ‘acanalamiento’ del tallo (grave en naranja: 4, y en toronja: 2).

El virus PVYV se detectó en extractos del vector de la mosca blanca. Se reportó la prevalencia en las regiones del país, y se estableció la capacidad de herencia de síntomas en los tubérculos y los árboles filogenéticos de tres genes: CP, Cpm y Hsp70. Se encontró poca diversidad en el gen CP, en tanto que el Cpm presentó una zona 3´ en algunos aislamientos, la cual constituye una zona de mayor probabilidad de recombinación (*hot spot*).

Por otra parte, se determinó la infección concomitante natural por PVYV y especies de *Potyvirus* (PVY necrótico y PVV) mediante secuenciación de nueva generación. También se obtuvo un anticuerpo específico anti-PVYV (en proceso de solicitud de patente), útil para el diagnóstico serológico y para la certificación de semillas en diferentes países andinos.

Con la ayuda de estudiantes e investigadores de diferentes instituciones se ha avanzado en la caracterización de estos dos virus que afectan los cultivos de cítricos y de papa, lo cual es de gran interés económico para el país y otras regiones del mundo.

..... X

PE-07. Diversidad genética del gen p20 en aislamientos de *Citrus tristeza virus* en Venezuela

Y. Lobato-González, E. Rodríguez-Román, A. Mejías, P. Amaya-Pérez, Y.V. Pérez, Y. León-Rengel, E. Marys

Laboratorio de Biotecnología y Virología Vegetal, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe, Venezuela

Citrus tristeza virus se distribuye en todo el mundo y es el agente causal de una de las enfermedades de los cítricos de mayor importancia económica. Este virus, miembro del género *Closterovirus* de la familia Closteroviridae, se replica en las células del floema, es transmitido por algunas especies de áfidos y, probablemente, ha evolucionado durante siglos en el sitio de origen de los cítricos.

Los análisis de la variación genética de aislamientos del virus han revelado la conservación de genomas en áreas geográficamente distintas con un limitado repertorio de genotipos, así como variaciones irregulares en el ARN genómico, frecuentes eventos de recombinación y diferentes presiones selectivas que han moldeando las poblaciones, a pesar de su gran importancia en la citricultura venezolana, no hay estudios sobre la diversidad genética de las poblaciones de los virus circulantes en el país.

Esta investigación se propuso estudiar con métodos moleculares aislamientos de *Citrus tristeza virus* provenientes de cultivos de naranja y limón en las principales zonas productoras de Venezuela, para lo cual se extrajeron muestras de ARN de las fincas seleccionadas y se procedió a la identificación del virus con un segmento del gen p20 de, aproximadamente, 557pb mediante PCR.

Los productos de PCR obtenidos se analizaron para identificar polimorfismos mediante la técnica de polimorfismo de conformación de cadena simple; los fragmentos polimorfos se clonaron y secuenciaron, y las secuencias se analizaron y alinearon con el fin de generar árboles filogenéticos

utilizando modelos de sustitución. Se encontró una gran variabilidad genética en la población de cada muestra y entre ellas, confirmando así la diversidad viral en los cítricos venezolanos, lo cual es crucial para entender la complejidad de estas poblaciones y diseñar estrategias de manejo y control efectivas.

..... ✕

PE-08. Diagnóstico molecular de aislamientos virales de *Potyvirus* en cultivos de pimentón del estado Lara, Venezuela

P. Amaya-Pérez, Y. V. Pérez, A. Mejías, E. Rodríguez-Román, Y. Lobato-González, Y. León-Rengel, E. Marys

Laboratorio de Biotecnología y Virología Vegetal, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe, Venezuela

El pimentón (*Capsicum annuum L.*) es la especie vegetal más cultivada de la familia Solanaceae. Según la FAO, en el 2012, Venezuela cultivó 9.043 hectáreas, con una producción de 172.100 toneladas principalmente en el estado Lara.

Las enfermedades virales constituyen el principal problema para la producción de pimentón a nivel mundial. En 1980 se hicieron en Venezuela pruebas de diagnóstico serológico que revelaron la presencia de *Potyvirus*. Sin embargo, el resultado no fue confiable debido a la poca especificidad cruzada de los anticuerpos utilizados.

El presente trabajo tuvo como objetivo la identificación de *Potyvirus* proveniente de aislamientos virales de cultivos de pimentón en el estado Lara mediante técnicas de biología molecular.

Se recolectaron 84 muestras de hojas jóvenes de plantas de pimentón que presentaban síntomas característicos de infecciones virales por *Potyvirus* en ocho campos productivos a cielo abierto e invernaderos localizados en el municipio Jiménez del estado Lara.

Las muestras fueron debidamente identificadas y trasladadas al laboratorio a una temperatura de 4 °C. A partir del ARN total extraído se sintetizó el ADN complementario con transcripción inversa. La secuencia de los *Potyvirus* presentes en las muestras se obtuvo por medio de PCR utilizando oligonucleótidos degenerados específicos para el grupo *Potyvirus*. Los amplicones obtenidos fueron ligados en el vector pGEM-T (Promega) y se utilizaron para transformarlos en células competentes de *Escherichia coli* DH5. Los insertos se verificaron mediante la digestión de enzimas de restricción y se secuenciaron con ayuda del servicio de Macrogen Korea. Se obtuvieron 11 muestras positivas con el uso de cebadores universales (MJ1 y MJ2) específicos para *Potyvirus*. La secuenciación dada por el servidor sugiere la presencia del virus *Pepper yellow mosaic* en cultivos venezolanos de pimentón.

Este trabajo representa el primer reporte del diagnóstico de *Potyvirus* mediante técnicas de biología molecular en cultivos de pimentón en Venezuela.

..... ✕

OTROS VIRUS

PE-30. Identificación de los genotipos del virus de la parotiditis causante de brotes en Colombia

Pilar Andrea Tavera-Rodríguez

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

La parotiditis es una enfermedad infecciosa caracterizada por fiebre, aumento del volumen y dolor al tacto de una o más glándulas salivales, generalmente la parótida; puede acompañarse de orquitis en 20 a 30% de los hombres infectados. El

cuadro clínico responde a la infección por diferentes virus, entre ellos el de la parotiditis, que es el único asociado a la parotiditis epidémica.

En Colombia se hace vigilancia pasiva del evento y a partir del 2012 se introdujeron las pruebas de laboratorio como apoyo a la investigación y confirmación de brotes. Hasta la fecha no se conocían reportes sobre los genotipos de este virus en el país.

El objetivo de este trabajo fue identificar los genotipos del virus de la parotiditis que se han asociado a brotes confirmados en Colombia del 2013 al 2015.

A partir de las muestras positivas confirmadas por PCR con transcripción inversa para el virus de la parotiditis, se hizo la amplificación, purificación y secuenciación del gen *SH*, y se comparó con las cepas de referencia establecidas por la Organización Mundial de la Salud para la genotipificación.

Se analizaron 19 muestras recolectadas durante brotes ocurridos en diferentes ciudades del país: Cartagena, Bogotá y Barrancabermeja (2013); Bogotá, San Martín (Bolívar), Manizales, Aguachica, Pueblo Bello y San Martín (Cesar), Valledupar y Espinal (2014), y Florencia, Cali y Riohacha (2015). Todas las secuencias del virus de la parotiditis que se analizaron correspondieron al genotipo G.

En los brotes de parotiditis estudiados en el periodo 2013-2015 se identificó únicamente el genotipo Gdel virus, lo que coincide con la distribución geográfica sugerida para diferentes regiones del mundo. Este es el primer reporte de los genotipos del virus de la parotiditis que circulan en Colombia, uno de los pocos países de la región en el que se ha llevado a cabo dicha búsqueda.

..... ✕

PE-37. Identificación de nuevas partículas virales a partir de metagenomas virales intestinales y modelos en ratón

Jaime Leonardo Moreno¹, Lance Boiling², Katrine Whiteson³, Andrew Heath⁴, Forest Rohwer², Jeffrey I. Gordon⁵, Alejandro Reyes^{1,5}

¹ Grupo de Biología Computacional y Ecología Microbiana, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

² Department of Biology, San Diego State University, San Diego, USA

³ Department of Molecular Biology and Biochemistry, University of California – Irvine, Irvine, USA

⁴ Department of Psychiatry, Washington University in Saint Louis, Saint Louis, USA

⁵ Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University in Saint Louis, Saint Louis, USA

Los avances en el área de la ecología microbiana han permitido caracterizar e investigar ambientes nuevos. Las técnicas metagenómicas han sido

esenciales para la caracterización de comunidades virales asociadas a los ambientes microbianos. Sin embargo, la principal limitación para el uso de la secuenciación de nueva generación es la poca longitud de las secuencias, lo que en la mayoría de los casos imposibilita ensamblar genomas virales completos y caracterizar su variación y su rango de huéspedes, en particular en el caso de los bacteriófagos.

El objetivo del presente trabajo fue identificar partículas virales derivadas del tracto intestinal humano, ensamblar sus genomas y caracterizar su variabilidad genética con base en estudios en humanos y en modelos en ratón.

Se hizo la caracterización metagenómica del viroma intestinal de 140 muestras obtenidas de 22 familias estadounidenses mediante pirosecuenciación (454). Un subconjunto de partículas virales purificadas se usó para atacar una comunidad definida de 15 microorganismos establecida en ratones gnotobióticos, con la subsecuente recuperación de las partículas virales capaces de infectar la comunidad. Estas partículas se secuenciaron, se ensamblaron y se evaluó su diversidad a lo largo del tiempo no solo en el modelo en ratón sino en las muestras humanas.

Con el ensayo en ratones se lograron recuperar, secuenciar, ensamblar y anotar cinco partículas virales diferentes. Se caracterizaron los huéspedes potenciales de dos de ellas y se logró identificar la muestra humana de origen de todas ellas. Además, fue posible examinar la presencia de partículas virales similares presentes en otras muestras humanas y se encontraron virus de gran prevalencia (presencia en 50% de las muestras), así como otro virus perteneciente a una familia de bacterias intestinales recientemente descrita como lisogénica.

El ensamblaje de nuevos genomas virales a partir de datos metagenómicos es posible, lo que complementado con estudios longitudinales y en ratón, permite una mejor comprensión de la dinámica y la estructura de la comunidad viral en el intestino humano.

..... ✕