

## Presentaciones en cartel

### VIRUS RESPIRATORIOS

#### **C-001. Estandarización de un método para la detección y cuantificación por formación de placas del metapneumovirus humano**

Lilia J. Bernal<sup>1</sup>, Myriam L. Velandia-Romero<sup>2</sup>, Jaime E. Castellanos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Patogénesis Infecciosa, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

El metapneumovirus humano es uno de los agentes virales más importantes asociados a infecciones graves de las vías respiratorias superiores e inferiores, especialmente en niños pequeños y personas inmunosuprimidas. Sin embargo, este virus es difícil de aislar en cultivos celulares y por ello se conoce poco sobre su biología. Además, las técnicas de laboratorio son dispendiosas y costosas, por lo que se requieren nuevos métodos que contribuyan a la investigación y al diagnóstico de este agente viral.

En el marco del “Estudio de vigilancia de virus respiratorios en Latinoamérica”, se inoculó en células LLCMK2 una muestra de secreción nasal positiva para aislar el virus, lo que se confirmó por inmunofluorescencia y PCR con transcripción inversa. El sobrenadante se recolectó al octavo día, se tomó una alícuota y se almacenó a -80 °C. Con este sobrenadante se inocularon de nuevo las células LLCMK2 en cuatro oportunidades sucesivas en medio con tripsina, y se evaluó diariamente la formación de sincitios. El cuarto pasaje se utilizó para la estandarización de la técnica de titulación mediante la formación de placas sobre las células. Las diluciones seriadas de la cosecha viral obtenida se inocularon sobre las células LLCMK2, a las que se agregó agarosa. Después del día 7, las monocapas se fijaron y se tiñeron con azul negro de naftol o cristal violeta para calcular el título viral a partir de las placas de lisis. Para el caso del aislamiento estudiado, el título viral fue de  $3,6 \times 10^5$  ufp/ml.

En el presente estudio se estandarizó un método de detección y cuantificación del metapneumovirus humano práctico, económico y confiable, que no

requiere el uso adicional de anticuerpos (aspecto que no había sido reportado previamente). Estos resultados son de gran utilidad para los estudios de biología celular y molecular del virus y la comprensión de su patogénesis.

..... X .....

#### **C-002. Etiología viral en adultos con infección respiratoria aguda grave en Bogotá**

Yuly Remolina<sup>1</sup>, María Mercedes Ulloa<sup>1</sup>, Hernán Vargas<sup>2</sup>, Lilibiana Díaz<sup>2</sup>, Sandra Gómez<sup>2</sup>, Alfredo Saavedra<sup>1</sup>, Edgar Sánchez<sup>1</sup>, Jorge Alberto Cortés<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Salud Pública, Secretaría Distrital de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

La etiología de la infección respiratoria aguda grave no es clara y tiene un enorme impacto en la morbilidad y la mortalidad de pacientes adultos.

El objetivo del estudio fue identificar la etiología viral de los pacientes adultos con infección respiratoria aguda grave admitidos en instituciones de vigilancia centinela en Bogotá durante el 2012.

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal en el que se emplearon técnicas de micromatrices moleculares para la identificación viral en muestras de aspirado o hisopado nasofaríngeo de pacientes adultos con infección respiratoria aguda cuyos casos habían sido notificados en el sistema de vigilancia epidemiológica. Se describieron las características y los resultados clínicos relevantes: mortalidad, necesidad de ingreso en la unidad de cuidados intensivos, respiración mecánica asistida y estancia hospitalaria.

Se analizaron 91 pacientes con la infección, en 63 (69,2 %) de los cuales se logró la identificación viral. La enfermedad más frecuente fue la enfermedad

pulmonar obstructiva crónica, registrada en el 24,2 % de los pacientes. Los virus que se aislaron con mayor frecuencia fueron el de la influenza y el bocavirus, en 30,8 % y 28,6 % de los casos, respectivamente. La mortalidad fue de 15,4 %; el ingreso en la unidad de cuidados intensivos se requirió en 42,9 % de los pacientes; se recurrió a la respiración mecánica asistida en 36,3 % de ellos, y la estancia hospitalaria promedio fue de 9,9 días. El 90,1 % de los pacientes recibió tratamiento con antibióticos.

La prevalencia de la etiología viral en las infecciones respiratorias agudas graves con resultados clínicos adversos, necesidad de cuidado intensivo y mortalidad, fue alta.

..... ✕ .....

### **C-003. Mismatch between vaccine strains and circulating influenza B viruses in different regions of Brazil, 2001-2013, preliminary findings**

M. L. A. Oliveira<sup>1</sup>, F. C. Motta<sup>1</sup>, J. A. C. Costa<sup>1</sup>, N. R. Gomes<sup>1</sup>, S. S. Soares<sup>1</sup>, P. C. Resende<sup>1</sup>, A. Pinhão<sup>1</sup>, W. Toschi<sup>2</sup>, T. Gregianini<sup>3</sup>, M. Bercini<sup>4</sup>, A. L. Furtado<sup>5</sup>, S. B. Fernandes<sup>6</sup>, M. C. D. Rosa<sup>7</sup>, L. Ferraz<sup>8</sup>, J. B. F. Filho<sup>9</sup>, M. M. Siqueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Respiratory Viruses, National Influenza Centre/WHO, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>2</sup> Health Secretariat, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>3</sup> Laboratory of Public Health, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>4</sup> Health Secretariat, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>5</sup> Laboratory of Public Health, Minas Gerais, Brazil

<sup>6</sup> Laboratory of Public Health, Santa Catarina, Brazil

<sup>7</sup> Laboratory of Public Health, Paraná, Brazil

<sup>8</sup> Laboratory of Public Health, Bahia, Brazil

<sup>9</sup> Laboratory of Public Health, Espírito Santo, Brazil

Vaccination against influenza plays a pivotal role in averting severe disease and reducing morbidity and mortality, as well as the socioeconomic costs associated with primary and secondary infections. Since the vaccine comprises only one influenza B strain, and it has a poor or sometimes absent cross-reaction against opposite viral lineages, successful interventions rely on the adequate prediction of the vaccine composition.

We investigated influenza B viruses from different Brazilian regions and their respective match with the annual vaccine in different influenza seasons (2001-2013).

The study included 301 viral sequences (*HA* gene) geographically distributed in the following regions: North (n=39), Northeast (n=45), Southeast (n=97), Center (n=3) and South (n=117). Phylogenetic trees were reconstructed using a maximum likelihood algorithm (PhyML 5.0), with the GTR+I+G nucleotide substitution model.

Victoria and Yamagata strains have co-circulated in Brazil since 2005. In previous years, only one strain was identified. A robust match between the southern hemisphere vaccine and the prevailing viruses occurred in 2001, 2007, 2011 and 2012. In the remaining seasons, mismatches of different magnitude were observed. In this context, the different Brazilian regions seemed to be distinctly affected. In 2008, most circulating viruses in the South/Southeast of Brazil were identified as Victoria-like, in contrast with other regions. In 2010, while Northeast viruses were essentially Victoria-like, matching the vaccine strain B/Brisbane/60/2008, Yamagata-like viruses were more frequently found in the Southeast and the South. In 2012, Yamagata-like viruses were only identified in the North and the Northeast. However, regional patterns must be carefully considered due to the small sample size after stratification, especially in the early study years.

Our findings corroborated international reports in the literature regarding the poor concordance between vaccines and circulating influenza B strains in most influenza seasons, and reinforced the benefits of using the quadrivalent vaccine in annual vaccination campaigns.

..... ✕ .....

### **C-004. Sensibilidad de las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y rRT-PCR para el diagnóstico del virus de la influenza A y otros virus respiratorios en Colombia**

Juliana Barbosa-Ramírez<sup>1</sup>, Zilpa Adriana Sánchez-Quitián<sup>1</sup>, Jairo A. Méndez-Rico<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Organización Panamericana de Salud, Washington, D.C., Estados Unidos

Las infecciones respiratorias son las principales causas de morbilidad y mortalidad, razón por la cual se consideran un problema de salud pública. Este estudio se propuso establecer la sensibilidad de las técnicas de inmunofluorescencia indirecta

(IFI) y rRT-PCR empleadas para el diagnóstico del virus de la influenza A y de otros virus respiratorios como parte de la vigilancia de la infección respiratoria por el laboratorio.

Se revisaron las bases de datos del Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud para el 2013 y el 2014, y se analizaron las muestras con resultado positivo confirmado para la influenza A y otros virus respiratorios. Se determinó la sensibilidad y la especificidad de cada una de las técnicas de diagnóstico empleadas para la vigilancia de virus respiratorios en el país. Además, se analizó el porcentaje de muestras positivas teniendo en cuenta la fecha de inicio de los síntomas y la fecha de recolección de la muestra (más de 7 días y menos de 14).

De 6.665 muestras procesadas en el periodo 2013-2014, 106 resultaron positivas mediante IFI (sensibilidad=77 %), mientras que 318 fueron positivas mediante PCR (sensibilidad=87 %). Si bien las dos técnicas presentaron una especificidad global superior a 90 %, la rRT-PCR alcanzó una especificidad del 99 %.

Se demostró la importancia de tomar las muestras entre el día 7 y el día 14 del inicio de los síntomas si se quiere hacer el diagnóstico correcto mediante IFI o rRT-PCR. Asimismo, se confirmó la importancia de la rRT-PCR como técnica de referencia para el diagnóstico del virus de la influenza A y de otros virus respiratorios, ya que tanto su sensibilidad como su especificidad fueron mayores que las de la técnica de IFI.

..... ✕ .....

#### **C-005. Circulación de los linajes del virus de la influenza B y su posible diferencia con la cepa de la vacuna, Colombia, 2013-2014**

Juliana Barbosa-Ramírez

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

Los virus de la influenza de tipo A y B son los principales responsables de las epidemias estacionales de gripe y ambos pueden circular en una misma temporada de influenza. El virus de la influenza B tiene dos linajes genéticamente distintos (Victoria y Yamagata), los cuales circulan simultáneamente sin que quede claro qué linaje predomina o si ambos están incluidos en la formulación de la vacuna propuesta para Colombia.

El objetivo de este estudio fue caracterizar los linajes del virus de la influenza B de las últimas temporadas y compararlo con la cepa de la vacuna propuesta para Colombia.

Se revisaron las bases de datos del Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud del 2013 y el 2014.

Mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real y siguiendo el protocolo del CDC, se encontraron 144 casos con resultado positivo para el virus de la influenza B, los cuales se tipificaron como Victoria y Yamagata. La mayoría de las infecciones se registraron en el grupo de edad de 15 a 50 años (n=47, 32,6 %), seguido del grupo de 50 a 65 años (n=34, 23,6 %). De los virus B caracterizados, 114 (79,2 %) pertenecían al linaje B-Victoria y 30 (20,8 %) al linaje B-Yamagata; 19 (13,2 %) pacientes habían presentado infección concomitante con otros virus respiratorios; 118 (82 %) de los pacientes infectados habían sido hospitalizados y se registraron 17 muertes.

El linaje B Victoria es el de mayor predominio en las últimas temporadas de influenza del país, sin embargo, el efecto protector de la vacuna varía según el tipo o subtipo del virus de influenza analizado.

..... ✕ .....

#### **C-107. Epidemiología molecular de los virus respiratorios en Bogotá detectados en el marco de la vigilancia centinela de la enfermedad respiratoria aguda, 2010-2014**

Liliana Díaz, Sandra Gómez, Ángela Díaz, Yeimi González-Giraldo, Miguel Díaz, Patricia Arce, Hernán Vargas

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

En el marco de la actual estrategia de vigilancia epidemiológica centinela de la infección respiratoria aguda orientada a la detección de los virus que la causan, las nuevas técnicas moleculares de diagnóstico permiten una mayor sensibilidad para identificar los virus de notificación obligatoria y detectar nuevos virus.

Este estudio buscó identificar los siete virus de notificación obligatoria, así como los llamados virus emergentes reportados a nivel mundial en los casos de infección respiratoria aguda (metapneumovirus, bocavirus, rinovirus y coronavirus, entre otros) en Bogotá, pues no se tiene conocimiento de su circulación en la ciudad.

El objetivo del estudio fue establecer mediante nuevas metodologías diagnósticas el perfil epidemiológico de los virus respiratorios circulantes durante los tres años del programa de vigilancia centinela de la infección respiratoria aguda en Bogotá.

Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo de análisis de las muestras recibidas durante el 2010, el 2012 y el 2014 en el marco de la estrategia de vigilancia centinela y que respondían a los criterios de caso de infección respiratoria aguda grave.

Se analizaron 925 muestras, de las cuales el mayor porcentaje correspondió al 2010, con 434 (46,9 %). El 25,6 % de las muestras fueron negativas (n=237), mientras que el 74,3 % de ellas fue positivo (n=688).

Se detectaron los virus de notificación obligatoria mediante las nuevas técnicas en el 81,2 % (n=559) de las muestras y los virus emergentes en el 41,2 % (n=284). El 34,3 % (n=236) de los casos correspondía a infecciones concomitantes. El virus más frecuente fue el sincitial respiratorio A, en el 31,2 % (n=215) de los casos. Entre los virus emergentes, el más frecuente fue el bocavirus, con 22,3 % (n=154). En la semana 14 del 2010, la 19 del 2012 y la 15 del 2014 se registró la mayor positividad.

El seguimiento en los tres años permitió identificar el comportamiento de los virus respiratorios con miras a implementar nuevas estrategias de manejo de la infección respiratoria en Bogotá.



## VIRUS DE TRANSMISIÓN SEXUAL

### C-007. Relaciones filogenéticas y estructura de los genomas casi completos en aislamientos del virus de la inmunodeficiencia humana 1 en Colombia

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

El virus de la inmunodeficiencia humana 1 (HIV-1) presenta una inmensa variabilidad genética en las poblaciones humanas. La identificación de nuevas variantes, incluidas las formas recombinantes, además del reconocimiento de nuevos brotes y cambios epidemiológicos, se facilita hoy, pues se cuenta con un número creciente de secuencias de genomas virales casi completos (mayores de 8.500 pb), con lo que es posible una mejor aproximación al estudio de la dinámica y la complejidad de los procesos de infección y evolución del virus en poblaciones humanas.

El objetivo del estudio fue aplicar diferentes algoritmos filogenéticos y de genotipificación del HIV-1 en seis genomas casi completos de aislamientos colombianos para identificar su genotipo y relaciones filogenéticas.

En la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) se identificaron seis aislamientos colombianos cuya secuencia

genómica era mayor de 8.500 pb. Se hizo un análisis filogenético comparativo con 48 genomas completos provenientes de diferentes países de Suramérica. Mediante los programas computacionales *Retrovirus Genotyping Tool* del NCBI, *Recombinant Identification Program* del Laboratorio Nacional de Los Álamos, GOBICS y REGA HIV-1 & 2 y *Automated Subtyping Tool (Version 2.0)*, se obtuvo la estructura genómica.

Los aislamientos colombianos se agruparon en el subtipo B conjuntamente con aislamientos de Brasil, Uruguay, Ecuador, Cuba y Venezuela. La estructura genómica de los aislamientos colombianos fue variable y dependió del algoritmo aplicado; sin embargo, se determinó el predominio de secuencias del subtipo B. Las extensiones cortas de los genomas correspondieron a las formas recombinantes A/B, B/F, B/G y B/K.

Dadas las pequeñas discrepancias según el algoritmo empleado, es necesario desarrollar nuevos y más rigurosos métodos de genotipificación del HIV-1. Este es el primer análisis de genomas colombianos, lo que abre el camino para analizar más detalladamente la epidemiología molecular de la infección por el HIV-1 en Colombia.





### **C-008. Presión selectiva en epítomos de linfocitos T CD8+ en el gen *pol* del HIV-1 y su posible asociación con la evasión inmunitaria: una aproximación desde la bioinformática**

Liliana Acevedo-Sáenz<sup>1</sup>, Rodrigo Ochoa<sup>2</sup>, Patricia Olaya-García<sup>3</sup>, Paula Andrea Velilla-Hernández<sup>1</sup>, Francisco J. Díaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Centro de Análisis Molecular, Bogotá, D.C., Colombia

Una de las características del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es su alta tasa de mutación y su rápida adaptación a los cambios del microambiente. Las mutaciones dentro del genoma se seleccionan positivamente por la acción de los medicamentos antirretrovirales o de la respuesta de los linfocitos T CD8+ (LT CD8+), lo que genera la resistencia a dichos medicamentos o la evasión inmunitaria. Los LT CD8+ juegan un papel importante en el control de la replicación del virus.

El objetivo del estudio fue explorar la presencia de mutaciones seleccionadas positivamente y posiblemente asociadas con la evasión inmunitaria en la proteasa y la transcriptasa inversa del HIV-1 en individuos con infección crónica en Colombia.

Los eventos de selección se determinaron midiendo la relación entre las tasas de mutaciones sinónimas y no sinónimas por sitio ( $d_N/d_S$ ) en una población de 634 pacientes colombianos infectados por el HIV. El efecto de las mutaciones en la afinidad de la unión entre el epítipo y el antígeno leucocitario humano (HLA) se determinó con herramientas bioinformáticas de predicción mediante algoritmos y simulación del acoplamiento (*docking*).

De 304 codones evaluados, 41 presentaban selección positiva; 19 se localizaron en sitios asociados con la resistencia a los medicamentos antirretrovirales y 22 dentro de epítomos de LT CD8+ restringidos a moléculas de HLA, cuya frecuencia es grande en nuestra población. Un alto porcentaje de las mutaciones localizadas dentro de los epítomos no había sido reportado previamente. Los análisis de afinidad por *docking* demostraron que solo una de las mutaciones estudiadas afectaba la unión a su molécula HLA. Sin

embargo, los métodos de predicción basados en algoritmos evidenciaron que siete mutaciones disminuían la afinidad de unión al HLA.

La estrategia bioinformática descrita puede aportar a la identificación de mutaciones seleccionadas positivamente y posiblemente asociadas con la evasión inmunitaria. Sin embargo, se requiere de aproximaciones experimentales para definir el impacto de las mutaciones en la respuesta de los LT CD8+.

..... X .....

### **C-009. Los poliomavirus JC y BK en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana en Montería, Colombia**

Samia Barrera, Vaneza Tique, Jorge Miranda, Salim Máttar

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

La leucoencefalopatía multifocal progresiva es una enfermedad debilitante y mortal causada por los poliomavirus JC y BK, que afecta a pacientes inmunosuprimidos y no tiene un tratamiento eficaz. La incidencia de la enfermedad fluctúa entre 3 y 5 % en individuos infectados por el HIV, en quienes la presencia de los poliomavirus JC y BK es un criterio de definición del sida.

El objetivo del estudio fue detectar los poliomavirus JC y BK en pacientes infectados por el HIV que presentaban síntomas compatibles con encefalitis o meningitis.

Entre septiembre de 2009 y diciembre de 2011 se hizo un estudio descriptivo de corte longitudinal con un muestreo de conveniencia en tres centros hospitalarios de Montería. Se incluyeron 34 pacientes infectados por el HIV que presentaban síntomas compatibles con encefalitis o meningitis. El aislamiento de ADN viral se hizo en líquido cefalorraquídeo utilizando un kit comercial de extracción por columna. Se diluyó el ADN en un volumen final de 50 µl; la detección de los virus JC y BK se hizo mediante PCR múltiple en tiempo real (LightMix®, Roche Diagnostics, Germany), con una mezcla para PCR Master Taqman que incluía ADN polimerasa Taq FastStar, y cloruro de magnesio de óptima concentración (Roche Diagnostics, Germany).

De los 34 pacientes incluidos, 10 (29,41 %) presentaron el poliomavirus JC y uno, el BK (2,94 %); un paciente presentó infección simultánea con los

dos poliomavirus. Durante la hospitalización, cinco (14,70 %) de los 34 pacientes fallecieron, pero solo uno (2,9 %) de ellos presentaba el JC. Los análisis citoquímicos del líquido cefalorraquídeo de pacientes con poliomavirus presentaron valores medios de 40,7 mg/dl para glucosa; de 171,66 mg/dl para proteínas; de 19,8 mm<sup>3</sup> para leucocitos, y de 109,8 mm<sup>3</sup> para eritrocitos. Las respuestas leucocitaria y proteica fueron anormales en tres (33 %) de los pacientes con poliomavirus.

Los hallazgos demostraron una alta prevalencia de infecciones del líquido cefalorraquídeo por JC y BK asociada a casos de HIV en el departamento de Córdoba.

..... X .....

#### **C-010. Comparación de los resultados de anticuerpos para HIV en muestras de plasma y sangre seca en papel de filtro: una iniciativa para el control de la calidad de las pruebas rápidas en Colombia**

Catleya Abella-Barreto, Esther Cristina Barros

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

El uso de pruebas rápidas permite la detección temprana de la infección con el virus del HIV. El uso de estas pruebas en Colombia está avalado en la guía de manejo clínico vigente para el 2014 aprobada en la Resolución 2338 del Ministerio de Salud y Protección Social de 2013. Entre las estrategias para el control de calidad de estas pruebas está el uso de sangre seca en papel de filtro.

El objetivo del estudio fue comparar los resultados de la detección de anticuerpos de HIV en plasma y sangre seca en papel de filtro con dos inmunoensayos comerciales.

Se analizaron tres unidades de glóbulos rojos reactivos y una muestra de sangre total no reactiva para HIV dispensando 20 y 50 µl en papel de filtro, cada muestra con su respectivo plasma. Posteriormente se procesaron las muestras con estuches comerciales para HIV: el inmunoensayo A para la detección del antígeno-anticuerpo, y el B para la detección de anticuerpos, según las recomendaciones del fabricante.

La concordancia entre los resultados de plasma y sangre seca en papel de filtro con los dos inmunoensayos tuvo un índice kappa de 1. Con el ensayo A no se registraron diferencias significativas entre

las absorbancias ( $p=0,172$ ) cuando la saturación de sangre en papel de filtro era de 20 y 50 µl, y con el ensayo B se observó una diferencia significativa ( $p=0,06$ ). Se estableció un coeficiente de variación de 2,23 para el ensayo A y de 4,78 para el ensayo B.

Se obtuvo 100 % de concordancia en los resultados de plasma y sangre seca en papel de filtro. Es posible detectar anticuerpos de HIV en sangre seca en papel de filtro con los inmunoensayos convencionales, pero deben realizarse las validaciones respectivas en cada laboratorio. Esto representa una alternativa para el control de calidad de las pruebas rápidas en Colombia.

..... X .....

#### **C-089. Detección del virus del papiloma humano y de los factores de riesgos asociados a la infección en hombres en el departamento de Sucre, Colombia**

Julia Pérez, Lercy Álvarez, Pedro Tuirán, Jussep Salgado, Anaís Castellar

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

La infección por el virus del papiloma humano es una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes a nivel mundial. La relación entre el virus y el cáncer de cuello uterino ha sido muy bien establecida; sin embargo, es poco lo que se conoce sobre la prevalencia de la infección por este virus en hombres.

El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia de la infección por el virus del papiloma humano en hombres en el departamento de Sucre, y determinar los factores de riesgo asociados con la infección.

Se visitaron diferentes centros de salud en los municipios de Sincelejo, Tolú y San Marcos durante el periodo 2012-2013. Se recolectaron 106 muestras de la zona balano-prepucial y del escroto para detectar el ADN viral mediante PCR.

Se recopilaron los datos epidemiológicos sobre el nivel socioeconómico y el comportamiento sexual, entre otros, con el fin de evaluar factores de riesgo.

Los datos analizados arrojaron una prevalencia global de 42 % (IC<sub>95%</sub> 33-52 %). El municipio de Tolú mostró una alta prevalencia (73 %, IC<sub>95%</sub> 55,6-85,6), seguido por San Marcos (50 %, IC<sub>95%</sub> 30,7-69,3) y Sincelejo (15 %, IC<sub>95%</sub> 6,7-28,9).

La prevalencia por zonas anatómicas fue de 34 y 41 % para la zona balano-prepucial y el escroto, respectivamente. Los factores de riesgo asociados a la infección con el virus fueron el municipio de muestreo ( $\chi^2=29,23$ ,  $p<0,0001$ ), el consumo de alcohol ( $\chi^2=5,94$ ,  $p=0,0148$ ) y de tabaco ( $\chi^2=6,36$ ,  $p=0,0417$ ), y las relaciones sexuales con prostitutas ( $\chi^2=4,03$ ,  $p=0,0448$ ) y homosexuales ( $\chi^2=4,19$ ,  $p=0,0408$ ).

La alta prevalencia de la infección por el virus del papiloma humano en hombres asintomáticos sugiere la existencia de riesgo de transmisión del virus por parte de estas personas, con el consiguiente riesgo de aumento del cáncer de cuello uterino y el cáncer de pene en la región.

..... X .....

### **C-090. Distribución de los genotipos del virus del papiloma humano en mujeres de Bogotá con anomalías en la citología vaginal**

María Mercedes Bravo, Esperanza Trujillo, Óscar Buitrago, Nicolás Morales

Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

La infección persistente con tipos oncogénicos del virus del papiloma humano es el factor que más predispone al desarrollo del cáncer de cuello uterino y de lesiones intraepiteliales escamocelulares de bajo y de alto grado.

El objetivo del estudio fue investigar la distribución de los tipos del virus del papiloma humano en lesiones cervicales en mujeres de Bogotá.

Se recolectaron muestras cervicales de 546 mujeres: 191 con diagnóstico de anomalías escamocelulares de resultado indeterminado (*atypical squamous cells of undetermined significance*, ASCUS); 236 con lesiones intraepiteliales escamocelulares de bajo grado (LIEBG), y 116 con lesiones de alto grado (LIEAG). La tipificación del virus se hizo mediante PCR con los iniciadores de consenso GP5+, GP6+ y *blot* de línea inversa.

El 76,1 % de las participantes fue positivo para el virus del papiloma humano. Se observaron infecciones únicas en 41,4 % de las participantes e infecciones concomitantes en el 34,6 %. La frecuencia del virus según el diagnóstico fue de 60,2 %, 84,7 % y 84,5 % en ASCUS, LIEBG y LIEAG, respectivamente. Los tipos VPH16 y VPH58 del virus fueron los más frecuentes en los tres grupos,

con 20,4, 33,9 y 38,8 % para el VPH16, y 7,3, 13,6 y 18,1 % para el VPH58. En los dos primeros grupos, la frecuencia del VPH56 fue la tercera (6,8 % y 11,0 %, respectivamente), mientras que en el tercer grupo fue el tipo 18 con 10,3 %.

Las infecciones con tipos virales probablemente oncogénicos y con tipos de bajo riesgo fueron mucho menos frecuentes y se presentaron sobre todo como infecciones simultáneas con tipos virales de alto riesgo.

Las infecciones con los tipos de alto riesgo fueron las más frecuentes en todas las lesiones estudiadas; el VPH58 ocupó el segundo lugar en frecuencia, como se ha reportado en México y en general en Suramérica. La introducción de nuevas vacunas profilácticas que incluyan más tipos virales como el VPH58 puede tener un mayor impacto en la disminución de la incidencia de lesiones preneoplásicas en nuestra región.

..... X .....

### **C-091. Prevalencia de la infección por los tipos 16 y 18 del virus del papiloma humano en mujeres con anomalías escamocelulares de resultado indeterminado en el departamento de Sucre, Colombia**

Lercy Álvarez, Julia Pérez, Pedro Blanco, Jussep Salgado, Anaís Castellar

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

La persistencia de la infección por los tipos 16 y 18 del virus del papiloma humano (HPV-16 y HPV-18), se asocia con el 70 %, aproximadamente, de todos los carcinomas invasivos de cuello uterino.

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de los genotipos HPV-16 y HPV-18 en mujeres con anomalías escamocelulares de resultado indeterminado (*atypical squamous cells of undetermined significance*, ASCUS) del municipio de Sincelejo, Colombia.

Entre noviembre de 2012 y octubre de 2013 se recolectaron 95 muestras endocervicales de pacientes con resultado citológico indicativo de ASCUS, en quienes se hizo la detección genérica del virus mediante PCR con cebadores MY09/11. Las muestras positivas para el genoma viral se evaluaron por PCR cuantitativa empleando sondas Scorpion específicas y controles positivos para la genotipificación del HPV-16 y HPV-18.

De las 95 muestras analizadas mediante PCR, 43 (49 %) fueron positivas para el virus, y siete (15,5 %) resultaron negativas para el gen de la betaglobina, por lo que fueron excluidas. Los datos de prevalencia mostraron que el 11,40 % y el 16 % de las pacientes fueron positivas para el HPV-16 y el HPV-18, respectivamente. La frecuencia de la infección por estos tipos virales oncogénicos es comparable con la hallada por otros autores; sin embargo, existen diferencias en la prevalencia que podrían responder a las características de la población o a las metodologías empleadas en cada estudio. La alta prevalencia del HPV-16 y el HPV-18 demuestra una tasa elevada de infección por genotipos oncogénicos en mujeres con ASCUS, y evidencia su riesgo de desarrollar una neoplasia cervical intraepitelial y cáncer de cuello uterino.

Este estudio demostró que, por su alta sensibilidad, los métodos de biología molecular, como la PCR cuantitativa, podrían utilizarse en pacientes con ASCUS para la prevención del cáncer de cuello uterino, y que la genotipificación del HPV-16 y el HPV-18 sirven para evaluar el riesgo en mujeres con resultados citológicos anormales.

..... ✕ .....

#### **C104. Infección genital por el virus de papiloma humano en mujeres menores de 30 años con resultados anormales en la citología en Bogotá**

Jenny Sánchez<sup>1</sup>, Tatiana Ortiz<sup>1</sup>, Mónica Guerrero<sup>1</sup>, Dayanne Rodríguez<sup>1</sup>, Sonia Salamanca<sup>2</sup>, Esperanza Teusaba<sup>3</sup>, Jairo Amaya<sup>4</sup>, Liliana Díaz<sup>1</sup>, Sandra Gómez<sup>1</sup>, Patricia Arce<sup>1</sup>, Hernán Vargas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> GineSalud IPS, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Patolab Ltda., Clínica de la Mujer, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Hospital de Engativá, ESE, Bogotá, D.C., Colombia

En numerosos estudios se ha demostrado que la infección persistente por el virus del papiloma humano de alto riesgo es un factor que predispone al desarrollo de cáncer de cuello uterino y de las lesiones precursoras: intraepiteliales de alto grado (LIEAG) y de bajo grado (LIEBG). En el caso de las mujeres menores de 30 años infectadas con el virus y con diagnóstico de anomalías escamocelulares de resultado indeterminado (*atypical squamous cells of undetermined significance*, ASCUS), no

se cuenta con un algoritmo clínico consensuado que permita una respuesta oportuna para evitar la progresión de la lesión.

El estudio se propuso establecer la prevalencia del virus del papiloma humano en mujeres menores de 30 años con diagnóstico citológico de ASCUS en Bogotá.

Se tipificaron 136 muestras de frotis cervical con diagnóstico citológico de ASCUS mediante la técnica molecular *Linear Array*. El 54 % de las pacientes no presentaron lesiones, en tanto que el 34 % presentó LIEG y el 13 %, LIEAG.

La prevalencia de la infección por VPH fue de 88, 80 y 76 % en mujeres con histología negativa, con LIEBG y LIEAG, respectivamente. El HPV-16 se detectó en el 47 % de las mujeres con LIEAG y en el 7 % de aquellas con LIEBG. El 23 % de las pacientes sin lesión presentaron infección con este genotipo oncogénico.

La presencia del HPV-16 en mujeres menores de 30 años con diagnóstico de LIEAG (47 %) alerta sobre la necesidad de diseñar políticas que permitan incluir a este grupo de mujeres en la tamización molecular del virus del papiloma humano en el marco del programa de detección y control del cáncer de cuello uterino en Bogotá.

..... ✕ .....

#### **C-105. Prevalencia de la infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo en pacientes con lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado y cáncer de cuello uterino en Bogotá**

Tatiana Ortiz<sup>1</sup>, Jenny Sánchez<sup>1</sup>, Mónica Guerrero<sup>1</sup>, Sandra Gómez<sup>1</sup>, Liliana Díaz<sup>1</sup>, Esperanza Teusaba<sup>2</sup>, Sonia Salamanca<sup>3</sup>, Hernán Vargas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio Patolab Ltda., Clínica de la Mujer, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> GineSalud, IPS, Bogotá, D.C., Colombia

El cáncer de cuello uterino es la segunda causa de muerte por cáncer en la población femenina; en diversos estudios se ha reportado que la infección persistente por el virus del papiloma humano de alto riesgo está asociada al desarrollo del cáncer de cuello uterino y que cerca del 99,7 % de los casos resulta positivo para el virus, correspondiendo una gran proporción al virus de alto riesgo.



El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia de la infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo en mujeres con diagnóstico histológico de lesiones intraepiteliales de alto grado (neoplasias cervicales NIC II y NIC III) y cáncer de cuello uterino.

En el marco del programa de promoción y prevención del cáncer de cuello uterino en Bogotá se hizo un estudio en 60 mujeres pertenecientes al régimen subsidiado con diagnóstico histológico de lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEAG) y cáncer de cuello uterino, a quienes se les tomó una muestra de frotis cervical para tipificar el virus del papiloma humano de alto riesgo mediante la prueba Abbott Real Time High Risk HPV.

La totalidad de las pacientes presentaron infección con algún tipo del virus; el 60 % correspondió a infecciones únicas y el 40 % a infecciones múltiples. La prevalencia del HPV-16 en infecciones únicas y múltiples fue de 28,3 % y 38,3 %, respectivamente; la prevalencia del virus de alto riesgo fue mayor en las mujeres con edades entre 26 y 29 años (28,3 %), seguida por la de las mujeres mayores de 45 años (20 %); la prevalencia más baja se presentó en las mujeres de menos de 25 años (15 %); la prevalencia del virus en mujeres con diagnóstico histológico de NIC II fue de 43,3 %, y en aquellas con diagnóstico de NIC III fue de 56,7 %.

El estudio permitió determinar la presencia del virus del papiloma humano de alto riesgo en el 100 % de las pacientes, con mayor prevalencia del VPH16 en mujeres con diagnóstico de NICIII que en aquellas con NIC II.

..... X .....

### **C-106. Prevalencia histórica de la infección genital por el virus del papiloma humano en mujeres atendidas por el programa de promoción y prevención del cáncer de cuello uterino en Bogotá, Colombia**

H. Vargas<sup>1</sup>, S. L. Gómez<sup>1</sup>, L. P. Díaz<sup>1</sup>, D. Rodríguez-Hernández<sup>1</sup>, E. Teusaba<sup>2</sup>, S. Salamanca<sup>3</sup>, P. Arce<sup>4,5</sup>, L. Torres De la Hoz<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio Patolab Ltda., Clínica de la Mujer, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Ginesalud, IPS, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Coordinación del Programa Distrital Ampliado de Inmunizaciones, Secretaría de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Subdirección de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

En agosto del 2012, el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia incluyó en el programa ampliado de inmunizaciones la vacuna cuadrivalente contra el virus del papiloma humano para niñas escolarizadas de 9 a 20 años y niñas no escolarizadas de 9 a 17 años. Por otro lado, los sistemas de detección de este virus capaces de detectar la presencia de alguno de los tipos virales han permitido la caracterización epidemiológica de los tipos que circulan en mujeres sexualmente activas, lo que permite a las autoridades de salud diseñar indicadores epidemiológicos de seguimiento y fortalecer estrategias asociadas a la prevención y el control de las infecciones cervicales a nivel local.

El objetivo del estudio fue establecer la prevalencia histórica (2010 a 2014) de la infección genital por el virus del papiloma humano y su posible asociación con ciertos factores de riesgo en muestras embebidas en parafina de mujeres con diagnóstico histológico confirmado de lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG) y cáncer de cuello uterino en Bogotá.

En este estudio descriptivo retrospectivo se analizaron las muestras embebidas en parafina tomadas en 2.092 mujeres pertenecientes a los regímenes de salud vinculado y subsidiado con diagnóstico confirmado de lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG) y cáncer de cuello uterino, analizadas en el Laboratorio Centralizado de Citopatología Cervical de Bogotá y en el laboratorio de patología Patolab. La extracción de ADN se hizo con el kit QIAamp DNA FEPE Tissue Kit (Qiagen), para luego proceder a la amplificación, hibridación y revelado de los 37 tipos del virus mediante la prueba *Linear Array* (Roche).

La prevalencia de la infección por el virus fue del 34,5 % (n=721) y se identificaron 37 genotipos diferentes, de los cuales 14 fueron de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) y 23, de bajo riesgo (6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y CP6108). La distribución general de los genotipos más frecuentes en mujeres positivas para el virus de alto riesgo fue la siguiente: HPV-16 (43 %), HPV-58 (13 %), HPV-52 (11,4 %),

HPV-31 (8,9 %) y HPV-18 (8,3 %); en cuanto a los genotipos del virus de bajo riesgo, la distribución fue la siguiente: HPV-53 (8,2 %), HPV-61 (3,6 %), HPV-6 (3,2 %), y HPV-70 y HPV-62, 2,9 % cada uno. Con relación al régimen de afiliación, el 2,9 % de las mujeres evaluadas pertenecía al régimen contributivo, el 38,9 %, al subsidiado y el 52,3%, al

vinculado, en tanto que el 5,9% restante no tenía el dato sobre las afiliación.

Con la información obtenida se lograron establecer los tipos del virus del papiloma humano presentes en la población femenina del Distrito Capital antes y después de la introducción masiva de la vacuna en la ciudad.

..... ✕ .....

## VIRUS DEL DENGUE

### C-020. La infección natural por el virus del dengue en niños afecta la viabilidad y funcionalidad de las células mononucleares de sangre periférica criopreservadas.

Federico Perdomo-Celis<sup>1</sup>, Diana M. Castañeda<sup>1</sup>, Jairo A. Rodríguez<sup>1</sup>, Doris M. Salgado<sup>1,2</sup>, Carlos F. Narváez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Salud, Programa de Medicina, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Pediatría, Hospital Universitario de Neiva, Colombia

La criopreservación de células mononucleares de sangre periférica se usa ampliamente para mantener las características celulares durante largo tiempo, pero su eficiencia se ve afectada por la temperatura, los reactivos y la enfermedad de las personas de quienes provienen las células. En la infección por el virus del dengue, muchas de estas células mueren y, además, aumentan las moléculas que modulan la viabilidad, como el FasL y el inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL). Estos eventos asociados al dengue podrían potenciar cambios en la viabilidad y la funcionalidad de dichas células.

En este estudio se evaluó la viabilidad mediante el método automático de tinción por exclusión con azul de tripano y la funcionalidad (es decir, la frecuencia de células T productoras de IFN $\gamma$  tras estimulación policlonal) mediante citometría de flujo utilizando aminas celulares, en 20 niños con infección por virus del dengue en fase aguda y de convalecencia; en 14 niños con enfermedades febriles de origen diferente al virus del dengue, y en 15 niños sanos. Además, se evaluaron los niveles de TRAIL en plasma mediante ELISA para establecer su asociación con la viabilidad celular. El porcentaje de células criopreservadas no viables en los niños con infección aguda por dengue fue significativamente mayor que

en los sanos ( $p=0,0003$ , prueba de Kruskal-Wallis), y su viabilidad se restauró en la fase de convalecencia. Se encontraron niveles elevados de TRAIL en el plasma de los niños con dengue, pero sin correlación con la frecuencia de las células no viables obtenidas antes o después de la criopreservación ( $r=0,19$ ,  $p>0,4$ , prueba de Spearman). La infección natural por dengue disminuyó la frecuencia de células CD3<sup>+</sup> productoras de IFN $\gamma$ , en tanto que se registraron niveles significativamente mayores en la fase de convalecencia y en niños sanos ( $p<0,01$ , prueba de Kruskal-Wallis).

La infección por dengue en niños puede afectar la viabilidad y funcionalidad de las células mononucleares de sangre periférica criopreservadas.

..... ✕ .....

### C-021. Dinámica de las poblaciones y búsqueda de infección natural con el virus del dengue en *Aedes aegypti* en el municipio de Sincelejo, Colombia

Merab Manjarrez, Juan Mercado, Homer Corrales, Erwin Camacho, Pedro Blanco

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

El dengue es la arbovirosis más común en áreas tropicales y subtropicales del mundo y la más importante en términos de morbilidad, mortalidad e impacto económico. En Colombia, la enfermedad se considera un problema de salud pública.

El estudio se propuso estudiar la dinámica de las poblaciones y detectar la infección natural con el virus del dengue en mosquitos de la especie *Aedes aegypti* en el área urbana de Sincelejo, Sucre. Se instalaron trampas de captura MosquiTRAP

en el peridomicilio de viviendas ubicadas en siete comunas del municipio de Sincelejo, las cuales se inspeccionaron quincenalmente entre mayo y agosto de 2014. Los mosquitos capturados de agruparon en *pools* por inspección o trampa y mediante PCR con transcripción inversa se detectó y tipificó el virus del dengue.

Se capturaron 1.883 individuos de *Ae. aegypti*, de los cuales 1.432 (76,04 %) eran hembras y 319 (16,9 %), machos; la comuna 5 presentó la mayor abundancia de captura, con 391 mosquitos, lo que correspondió al 20,76 % del total. La tasa más alta de infección (32,1 hembras infectadas por cada 1.000 capturadas), se encontró en esta misma comuna, mientras que la tasa de infección general fue de 24,4 %. En las muestras analizadas se detectaron los cuatro serotipos del virus del dengue; el más frecuente fue el 3 (63 %), seguido del 2 (31 %). No se encontró correlación entre la abundancia del mosquito, los casos de dengue, las tasas de infección y las variables climáticas analizadas.

La circulación simultánea de diferentes serotipos supone un alto riesgo para la aparición de casos de la enfermedad con manifestaciones graves, por lo que el conocimiento de las zonas con altos niveles de infestación y tasas de infección puede orientar a las autoridades de salud del municipio para ejercer acciones de control que conduzcan a reducir el impacto de la enfermedad.

..... ✕ .....

### **C-022. Circulación simultánea de serotipos del virus del dengue en el departamento de Sucre, Colombia**

Erwin Camacho<sup>1</sup>, Sindy Martínez<sup>1</sup>, Francisco J. Díaz<sup>2</sup>, Jorge E. Osorio<sup>3</sup>, Pedro Blanco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin, Madison, WI, Estados Unidos

El dengue es una infección viral que se ha convertido en un importante problema de salud pública a nivel internacional. La circulación simultánea de distintos serotipos del virus del dengue se ha asociado con el aumento en transmisión y la ocurrencia de casos graves.

El objetivo del estudio fue determinar los serotipos y genotipos del virus del dengue circulantes en

el departamento de Sucre durante el segundo semestre de 2013 y durante el 2014.

Se recopiló la información clínica y se recolectaron muestras sanguíneas de personas con síndrome febril en fase aguda. A partir de los sueros sanguíneos obtenidos se hizo la prueba ELISA de captura para la detección de anticuerpos IgM/IgG contra el virus del dengue. Además, se detectó molecularmente el genoma del virus con cebadores específicos de serotipo y se realizó el aislamiento viral. Los aislamientos virales se emplearon para la amplificación y secuenciación del gen *E* del virus, con el fin de hacer un análisis filogenético mediante el método de inferencia bayesiana.

Una vez estudiadas las muestras, se encontraron anticuerpos IgM, IgG e IgM/IgG contra el virus en el 37,7 %, 11,1 % y 24 % de las personas, respectivamente. El 22 % de las muestras resultó positivo mediante detección molecular, y en estas se encontraron los serotipos 1, 2 y 3, siendo este último el más frecuente (60 %). Se obtuvieron siete aislamientos del serotipo 3, todos clasificados como genotipo III, y un aislamiento del serotipo 1, que se clasificó como genotipo americano/africano o V.

Los hallazgos demuestran que durante el periodo de estudio circularon, al menos, tres serotipos del virus en la zona de estudio. Los análisis filogenéticos señalan que existe una relación cercana con aislamientos virales de otras zonas de Colombia y Venezuela.

..... ✕ .....

### **C-023. La infección con la cepa de dengue neuroadaptada D4MB-6 induce hemorragias y dilatación de vasos en el encéfalo.**

Sigrid Camacho-Ortega, Jaime E. Castellanos, Myriam L. Velandia-Romero

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

La enfermedad por el virus del dengue se clasifica como dengue sin signos de alarma o con ellos, y como dengue grave cuando hay compromiso serio de órganos como el hígado, el corazón o el cerebro, que se evidencian con síntomas neurológicos. El curso clínico del dengue grave se ha asociado con el aumento de la permeabilidad vascular, la trombocitopenia y las manifestaciones hemorrágicas. En los casos de las manifestaciones neurológicas, no se sabe si se presentan alteraciones vasculares en el tejido nervioso.

El objetivo de este estudio fue evaluar si la infección con la cepa D4MB-6 inducía cambios vasculares y hemorrágicos, así como determinar el papel neuroprotector de fármacos como el ácido valproico y el MK-801.

Se usó un modelo de encefalitis por dengue desarrollado en nuestro laboratorio, en el que se infectaron ratones neonatales Balb/c y luego se trataron con los fármacos mencionados. A los 3 y 6 días después de la infección, los animales fueron sacrificados y procesados para el análisis histológico, y mediante morfometría se evaluó el diámetro de los vasos y la presencia de eventos hemorrágicos.

Se encontró una evidente dilatación de los vasos sanguíneos en los animales infectados y no tratados (diámetro promedio de 211  $\mu\text{m}$ ) y alrededor de 12 procesos hemorrágicos por campo, todos ellos acompañados de células inflamatorias infiltradas. Los vasos de los animales inoculados con el virus ficticio (*mock*) o infectados y tratados con el ácido valproico o el MK801 presentaron vasos con un diámetro de 170,7  $\mu\text{m}$ , 155,2  $\mu\text{m}$  o 132,8  $\mu\text{m}$ , respectivamente, y un promedio de dos vasos con eventos hemorrágicos ( $p < 0,001$ ).

Se puede sugerir que la neuroinfección por D4MB-6 induce hemorragias y dilatación de vasos acompañadas de infiltrado inflamatorio y la pérdida de la regulación de la homeostasis, y que puede revertirse con el uso de los fármacos.

..... ✕ .....

#### **C-024. Péptido del anuro *Hypsiboas semilineatus* con potencial antiviral contra el serotipo 3 del virus del dengue**

Genesy Pérez<sup>1</sup>, Juliana Monteiro<sup>2</sup>, Erwin Camacho<sup>1</sup>, Pedro Blanco<sup>1</sup>, Sergio De Paula<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación de Inmunovirología Molecular, Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

El dengue es un problema de salud pública a nivel mundial; se estima que anualmente se presentan, aproximadamente, entre 50 y 100 millones de infecciones y 25.000 muertes. El agente etiológico es el virus del dengue, que pertenece a la familia Flaviviridae y se manifiesta en cuatro serotipos (1, 2, 3 y 4). El mecanismo de la respuesta inmunitaria a la infección por el virus está aún lejos

de dilucidarse completamente, lo que ha limitado el desarrollo de vacunas y agentes antivirales. Recientemente se ha demostrado que una serie de péptidos secretados por anuros de la familia Hylidae presenta actividad antimicrobiana, por lo que puede explorarse como agente antiviral específico contra el virus del dengue.

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antiviral de un péptido sintético contra la cepa H-87 del serotipo 3 del virus.

Se hicieron ensayos de reducción de placas del serotipo 3 en células Vero con un péptido de 20 aminoácidos de longitud sintetizado a partir de la secuencia de un péptido obtenido de la secreción cutánea de *Hypsiboas semilineatus*. Inicialmente se evaluó la citotoxicidad del péptido en diferentes concentraciones a partir de 1 mg/ml y, posteriormente, se hicieron tres ensayos de reducción de placas: de actividad de eliminación del virus, de inhibición de la adsorción viral y antes del tratamiento.

Los resultados indicaron que el péptido solo es tóxico en concentraciones superiores a 250  $\mu\text{g/ml}$ , por lo que se evaluó a partir de una concentración entre 125 y 3,9  $\mu\text{g/ml}$ . En el ensayo de la actividad de eliminación del virus se observó una reducción superior al 80 % en todas las concentraciones empleadas y una reducción del 100 % de la infección en una concentración de 125  $\mu\text{g/ml}$  en los ensayos de inhibición de la adsorción viral.

Los resultados sugieren que el péptido sintético puede tener más de un mecanismo de acción, y que actúa directamente en la partícula viral y reduce la adsorción del virus en las células.

..... ✕ .....

#### **C-025. Producción de la proteína recombinante NS5 y la interacción del dominio de la polimerasa del virus del dengue 2 con la curcumina en un modelo computacional**

Leidy Lorena García-Ariza<sup>1</sup>, Juan David Rivera-Durán<sup>1</sup>, Germán Alberto Téllez-Ramírez<sup>1</sup>, Héctor Fabio Cortés-Hernández<sup>2</sup>, Leonardo Padilla-Sanabria<sup>1</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Física y Química Teórica, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México, México



El virus dengue pertenece al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae* y tiene cuatro serotipos. La proteína responsable de la replicación viral es la NS5, la cual es una de la más conservadas en este género. Debido a la función que cumple en el ciclo viral, esta proteína se ha propuesto como un posible blanco terapéutico, por lo que en el trabajo se buscó saber si el pigmento natural curcumina tiene la capacidad de inhibir su función.

El objetivo del estudio fue producir la proteína NS5 del serotipo 2 recombinante del virus del dengue y evaluar *in vitro* y en un modelo computacional la interacción del dominio de la polimerasa con la curcumina.

Para producir la proteína NS5 se clonó el dominio RdRp en la cepa BL21 de *Escherichia coli* y se indujo la expresión con IPTG, la cual se evaluó con *Western blot*; además, se transformaron las células CHO con el plásmido pJ602- NS5 y la expresión se evaluó mediante inmunofluorescencia. Para el ensayo en el modelo computacional se construyó el modelo de la enzima RdRp por homología con el serotipo 3 del virus del dengue (Protein Data Bank: 2J7U) y de la NS5 con la NS5 del virus de la encefalitis japonesa (Protein Data Bank: 4K6M); las estructuras se construyeron en el servidor Swiss-Model y se refinaron con el algoritmo ModRefiner. La curcumina se optimizó mediante métodos semi-empíricos y con base en la teoría del funcional de densidad (6-311+G(d,p)), y el acoplamiento se hizo mediante el programa AutoDock.

La secuenciación de la RdRp presentó un 99 % de identidad con la secuencia del GenBank: AAC59274.1 del serotipo 2 del virus del dengue. La expresión en la cepa BL21 de *E. coli* se logró desde las 12 horas y con 0,1  $\mu$ M de IPTG. La inmunofluorescencia confirmó la expresión de la proteína NS5 en células CHO. El modelo de RdRp presentó una identidad de 75,41 % y el de NS5, de 65,84 %; el refinamiento indicó una alta similitud entre las topologías y una buena calidad. La curcumina se optimizó con RM1 para el dominio RdRp. El acoplamiento se hizo en la cavidad B de la RdRp, evidenciando la interacción con el sitio de acetilación Lys92.

Se clonó y se indujo la expresión del dominio de la polimerasa y de la proteasa y cetil serotipo 2 del virus del dengue. Se construyó el modelo del dominio RdRp y de la proteína NS5 y el acoplamiento evidenció la interacción con el sitio Lys92 de la polimerasa.

..... ✕ .....

### C-026. Evaluación del desempeño de las pruebas de diagnóstico rápido en la detección de la infección por dengue en muestras de individuos con síndrome febril en un municipio endémico de Cundinamarca, Colombia

Carolina Coronel-Ruiz<sup>1,2</sup>, Myriam Velandia-Romero<sup>1,2</sup>, Eliana Calvo<sup>1,2</sup>, Sigrid Camacho<sup>1,2</sup>, Shirly Parra<sup>1,2</sup>, Jorge Hurtado<sup>1</sup>, Saúl Moreno<sup>3</sup>, Janeth Carrillo<sup>3</sup>, Jaime E. Castellanos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Red de Investigación Multidisciplinaria para la Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores – Colciencias, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Hospital Universitario de La Samaritana, Girardot, Colombia

El diagnóstico y confirmación de casos de dengue por laboratorio es una de las principales dificultades en las instituciones de salud. En Colombia el diagnóstico y la definición de caso se basan en la información clínica y en la detección de anticuerpos IgM mediante ELISA, lo que dificulta el manejo y el tratamiento oportuno, en especial en pacientes que desarrollan las formas graves de la enfermedad.

El objetivo del estudio fue evaluar el desempeño de las pruebas de diagnóstico rápido mediante inmunocromatografía en muestras de individuos con síndrome febril atendidos en la Unidad Funcional Girardot del Hospital Universitario de La Samaritana.

Se analizaron 295 muestras de suero de pacientes con síndrome febril de menos de siete días de duración atendidos entre marzo y septiembre de 2014 en Girardot, Cundinamarca. Las muestras se evaluaron mediante inmunocromatografía (*Duo Cassette IgM/IgG, Dengue Early Rapid*), mediante ELISA para la detección de IgM, mediante ELISA de captura e indirecta para IgG y NS1 y PCR con transcripción inversa para la identificación del ARN del virus del dengue.

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos negativo y positivo obtenidos para las pruebas de inmunocromatografía comparadas con las pruebas de ELISA fueron los siguientes: IgM, sensibilidad del 75,0 % y especificidad del 60,5 %; valor predictivo positivo, 71,5 % y negativo, 64,7 %; IgG, sensibilidad del 95,3 % y especificidad del 61,3 %; valor predictivo positivo, 66,1 % y negativo, 94,2 %. Con la prueba *Dengue Early Rapid*, la sensibilidad fue de 79,5 % y la especificidad de

94,1 %; el valor predictivo positivo fue de 91,2 % y el negativo, de 85,6 %. El 50,3 % (n=149) de las muestras analizadas fueron positivas mediante PCR con transcripción inversa, y se identificaron los cuatro serotipos: DENV-2 (71,8 %), DENV-1 (8,1 %), DENV-3 (6,7 %) y DENV-4 (3,4 %), así como las infecciones concomitantes (10,1 %).

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de las pruebas de diagnóstico rápido analizadas fueron aceptables, por lo que pueden utilizarse como herramienta de apoyo para la identificación temprana de los pacientes con dengue y su manejo y tratamiento en las instituciones de salud ubicadas en zonas endémicas. Se requiere evaluar la reproducibilidad de las pruebas en diferentes zonas geográficas.

..... ✕ .....

### **C-027. Evaluación de la utilidad de la aplicación de un conjunto de pruebas de laboratorio para la confirmación de casos de dengue en individuos con síndrome febril en una ciudad endémica de Cundinamarca, Colombia**

Carolina Coronel-Ruiz<sup>1,2</sup>, Myriam Velandia-Romero<sup>1,2</sup>, Eliana Calvo<sup>1,2</sup>, Sigrid Camacho<sup>1,2</sup>, Shirly Parra<sup>1,2</sup>, Jorge Hurtado<sup>1</sup>, Saúl Moreno<sup>3</sup>, Janeth Carrillo<sup>3</sup>, Jaime E. Castellanos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Red de Investigación Multidisciplinaria para la Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores – Colciencias, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Hospital Universitario de La Samaritana, Girardot, Colombia

En Colombia la confirmación de los casos y la vigilancia epidemiológica se basa únicamente en el diagnóstico clínico y, eventualmente, en la detección de anticuerpos IgM, sin que se evalúe la presencia de otros marcadores como los IgG, el antígeno o el ARN viral.

El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad de la aplicación de un conjunto de pruebas de laboratorio para la confirmación de casos de dengue en muestras de individuos con síndrome febril atendidos en la Unidad Funcional Girardot del Hospital Universitario de La Samaritana.

Se analizaron 298 muestras de pacientes con síndrome febril de menos de siete días de duración atendidos entre marzo y septiembre del 2014. Las

muestras se evaluaron mediante inmunocromatografía, ELISA para la detección de IgM, IgG y NS1 y PCR con transcripción inversa para la detección del ARN viral.

La mediana de edad de los individuos fue de 11 años (6,0-23,0). El porcentaje de muestras positivas fue el siguiente: mediante inmunocromatografía, 56,6 % para IgM; 63,7 % para IgG; 34,4 % para NS1. Mediante ELISA, 56,7 % para IgM, con ELISA de captura, 44,1 % para IgG y con ELISA indirecta, 83,9 %, y para NS1, 43,5 %; mediante PCR con transcripción inversa fue de 50,5 %. Para la confirmación de los casos se tuvo en cuenta la información clínica y las pruebas de laboratorio, y como referencia se tomó la clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud. El 84,5 % de los pacientes analizados se clasificaron como casos confirmados de dengue (dengue sin signos de alarma: 28,5 %; dengue con signos alarma: 49,3 %, y dengue grave: 6,7 %); 10,4 % de los casos se clasificaron como casos probables de dengue y 5,1 %, como síndrome febril agudo indiferenciado.

Se encontró una altísima prevalencia de anticuerpos IgG, por lo que la mayor parte de los casos correspondió a infecciones secundarias y de mayor gravedad. El uso de las pruebas rápidas, conjuntamente con la serología y un examen clínico cuidadoso, aumenta significativamente la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico de dengue, por lo que deben considerarse siempre dos o más pruebas de laboratorio para la confirmación de los casos.

..... ✕ .....

### **C-028. Activación de astrocitos inducida por la infección *in vitro* con una cepa de virus dengue neuroadaptado**

Sandra Aguilera-Rojas, Julieth Pardo, María Angélica Calderón-Peláez, Edgar O. Beltrán, Jaime E. Castellanos, Myriam L. Velandia-Romero

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

Se conoce poco acerca de los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la sintomatología neurológica que ocurre eventualmente durante la infección por el virus del dengue. Se ha sugerido que la activación de los astrocitos podría jugar un papel importante, tal como sucede en las infecciones producidas por virus neurotrópicos. El objetivo de

este trabajo fue estudiar la respuesta *in vitro* de los astrocitos después de la inoculación con la cepa D4MB-6 del virus de dengue neuroadaptado.

Se obtuvieron cultivos primarios de astrocitos con un 95 % de pureza en ratones neonatos que luego se inocularon con el tipo 4 del virus del dengue o con la D4MB-6 a un nivel de multiplicidad de infección de 1 durante 24, 48 o 72 horas. Posteriormente, las células se procesaron mediante inmunofluorescencia para evaluar la expresión de la proteína glial fibrilar ácida (GFAP) y de la proteína de envoltura viral. Los resultados indicaron que los astrocitos no fueron susceptibles a la infección con ninguno de los virus (proporción de infección <1 %). Sin embargo, sí cambiaron su morfología, pues se observaron numerosas prolongaciones citoplasmáticas, principalmente en aquellos cultivos inoculados con la cepa D4MB-6, lo que sugiere la ocurrencia de procesos de activación glial. También se observó una alta proporción de células en mitosis a las 24 horas, así como células con condensación de cromatina a las 72 horas en los cultivos infectados, aunque no se evidenció aumento en el número de células apoptóticas (TUNEL+). La proliferación celular se corroboró mediante un ensayo MTT, ya que en el cultivo inoculado con D4MB-6 a las 48 horas se observó un incremento del 10 %. La inoculación con D4MB-6 incrementó 50 veces los transcritos de GFAP a las 24 horas, con un evidente aumento de la intensidad de la inmunofluorescencia. Estos resultados permiten sugerir que los astrocitos se activan por acción del virus de dengue neuroadaptado, produciendo una respuesta que podría generar daños fisiológicos o morfológicos en el sistema nervioso central.

..... X .....

### C-029. Producción y caracterización de anticuerpos policlonales dirigidos contra la proteína NS1 del virus del dengue 2

Briyith J. Díaz S.<sup>1</sup>, María I. Giraldo G.<sup>1</sup>, Lorena García<sup>1</sup>, Jhon C. Castaño<sup>1</sup>

Grupo de Inmunología Molecular, Universidad del Quindío, Armenia, Quindío, Colombia

El virus del dengue es un miembro del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*; tiene cinco serotipos denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 y DENV-5. El virus se transmite a los humanos principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*. La

generación de anticuerpos para el reconocimiento de proteínas se basa en la capacidad del sistema inmunitario de los mamíferos para reconocer microorganismos extraños y sustancias tóxicas.

El objetivo del estudio fue producir y caracterizar anticuerpos policlonales en conejo (*Oryctolagus cuniculus*), dirigidos contra la proteína no estructural NS1r del virus del dengue 2.

Se utilizó la proteína NS1 recombinante del virus para la producción del anticuerpo policlonal. Se utilizaron tres conejos Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*). Se estableció un esquema de inmunización (día 1, 15, 30, 45 y 60) con tres tratamientos: tratamiento 1, NS1r+Adyuvante; tratamiento 2, NS1r, y tratamiento 3, tampón de la solución. Para la caracterización se hicieron tres pruebas inmunológicas: ELISA, *Western blot* y de inmunofluorescencia.

La producción de anticuerpos policlonales para el tratamiento 1 después de la tercera inmunización tuvo mayor repuesta en comparación con los resultados arrojados por el tratamiento 2. La identificación de la proteína NS1 del virus del dengue 2 por parte de los anticuerpos producidos fue positiva en el *Western Blot* y en la inmunofluorescencia.

Se obtuvieron anticuerpos policlonales dirigidos contra la proteína NS1 del DENV-2 en conejos y se pudieron caracterizar mediante técnicas inmunogénicas.

..... X .....

### C-030. Detección de la infección por el virus del dengue en una cohorte de niños asintomáticos de 5 a 14 años de dos municipios de Cundinamarca, Colombia

Shirly Parra-Álvarez<sup>1,2</sup>, Rosalía Pérez<sup>1,2</sup>, Sigrid Camacho<sup>1,2</sup>, Giovanni Delgado<sup>1,2</sup>, María Angélica Calderón<sup>1</sup>, Edgar Beltrán<sup>1</sup>, Claudia Bueno<sup>1</sup>, Viviana Ávila<sup>1</sup>, Fabián Cortés-Muñoz<sup>3</sup>, Carolina Coronel-Ruiz<sup>1,2</sup>, Jaime E. Castellanos<sup>1,2</sup>, Myriam Velandia-Romero<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Red de Investigación Multidisciplinaria para la Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores – Colciencias, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

La infección por dengue puede causar un amplio espectro de manifestaciones, desde infecciones asintomáticas hasta cuadros graves y fatales. En Colombia, el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica del dengue se basan solamente en los casos probables notificados por las instituciones de salud, aunque un pequeño porcentaje de las muestras se confirman por laboratorio.

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos para dengue y la frecuencia de las infecciones asintomáticas en una cohorte de niños de dos municipios de Cundinamarca.

El estudio se llevó a cabo en los municipios de Anapoima y Apulo. Se invitó a participar a niños entre 5 y 14 años de edad a los cuales les realizó un examen médico exhaustivo y se les tomó una muestra de sangre para las pruebas de laboratorio (ELISA para IgM, ELISA de captura e indirecta para IgG), ELISA para NS1 y PCR con transcripción inversa).

Se incluyeron 356 individuos, de los cuales el 51,1 % eran niñas. Ninguno de los niños presentó signos o síntomas sugestivos de dengue u otra enfermedad en momento del examen, ni manifestaron haber presentado fiebre en los últimos 90 días. Un altísimo porcentaje de los niños había tenido contacto con el virus (IgG indirecta positiva, 87,9 %). Además, se encontró que el 16,9 % de los participantes fueron positivos para IgM y 29,1 % para IgG con ELISA de captura, lo cual indica infección actual o reciente. Las muestras que resultaron positivas para IgM o IgG con la prueba de captura (n=149) se procesaron mediante PCR con transcripción inversa y se encontró ARN viral en 45 de ellas (30,2 %). Se identificaron los cuatro serotipos: DENV-2 (n=34), DENV-3 (n=5), DENV-4 (n=2) y DENV-1 (n=1), e incluso infecciones concomitantes: DENV-1 y DENV-2 (n=2), y DENV-2 y DENV-3 (n=1).

La detección del ARN del virus y la alta seroprevalencia de dengue detectada en la población pediátrica evaluada sugiere que las infecciones de dengue son muy frecuentes, todas ellas asintomáticas, lo cual es otro factor que potencia la transmisión del virus en Cundinamarca.

### C-031. Seroprevalencia en humanos contra el virus del dengue e índice de pupas y larvas de *Aedes aegypti* en la población urbana de municipios ubicados por encima de 1.700 msnm en el departamento del Quindío

Sthepanie Román-Pardo<sup>1,3</sup>, Jhon Carlos Castaño<sup>1</sup>, Dairo Marín<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación de Inmunología Molecular, Centro de Investigación Biomédica, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Licenciatura en Biología, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>3</sup> Programa de Biología. Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

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

El objetivo del estudio fue determinar la situación vectorial y la seroprevalencia en los municipios del Quindío ubicados por encima de los 1.700 msnm, altura considerada como el límite para la presencia del mosquito vector.

Se hizo un muestreo en dos etapas; la muestra se estableció con un cálculo probabilístico distribuido según el número de habitantes en los cuatro municipios ubicados por encima de los 1.700 msnm (Circasia, Filandia, Pijao y Salento). Se eligió una persona en cada vivienda seleccionada, a quien se le tomó una muestra de sangre para determinar la presencia de anticuerpos IgG anti-dengue previa explicación del estudio y firma del consentimiento informado.

Mediante inspección se determinó la presencia de pupas y larvas de mosquitos en los recipientes de las casas.

Se tomaron 377 muestras; los resultados positivos para IgG anti-dengue en los municipios fue de 44,2 en Circasia; 26,2 en Filandia; 29,3 en Pijao, y 30,5 en Salento. El índice de larvas y pupas (índice de Breteau) en Circasia (1.772 msnm) fue de 62,5 y 40,0, respectivamente; en Salento (1.993 msnm), de 2,1 y 1,05, en tanto que en Filandia (1.923 msnm) y en Pijao (1.700 msnm) fue de 0.

La presencia de *Aedes aegypti* y de anticuerpos contra el virus del dengue en Circasia y Salento sugieren su circulación en estos municipios del departamento.

..... X .....

..... X .....



### C-032. Modelado estructural por homología de la proteína NS5 y sus dominios y análisis de acoplamiento con curcumina

Leidy Lorena García-Ariza<sup>1</sup>, Juan David Rivera-Durán<sup>1</sup>, Germán Alberto Téllez-Ramírez<sup>1</sup>, Héctor Fabio Cortés-Hernández<sup>2</sup>, Leonardo Padilla-Sanabria<sup>1</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Física y Química Teórica, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México, México

La proteína NS5 del virus del dengue es una proteína que presenta dos dominios funcionales (polimerasa y metiltransferasa), y que se ha considerado un blanco terapéutico, ya que es una de las proteínas más conservadas en los flavivirus. En ensayos con modelos computacionales se ha encontrado que la curcumina (pigmento natural) puede interactuar con la Lys330 del dominio de la polimerasa. En consecuencia, este trabajo quiso evaluar la interacción de la curcumina sobre el dominio de la polimerasa y la metiltransferasa mediante modelado computacional para postular esta molécula como posible inhibidor de la función de dicha proteína.

El objetivo fue hacer un modelado estructural por homología de la proteína NS5 y sus dominios, así como del virus del dengue 2, y hacer ensayos de acoplamiento con la curcumina.

Se tomó la secuencia de la proteína NS5 expresada en el plásmido pj602\_NS5 y se construyó el modelo en el programa *Swiss model* por homología con JEV (PDB: 4K6MA), el dominio de la polimerasa (RdRp) por homología con el RdRp del virus del dengue 3 (PDB: 4C11B) y el dominio de la metiltransferasa (Mtasa) con el Mtasa del virus del dengue 2 (PDB: 1R6A). Las estructuras se refinaron mediante el algoritmo *Modrefiner* y se evaluó la calidad mediante los programas de *Procheck*. La curcumina se optimizó utilizando la teoría de funcionales de densidad (6-311+G(d,p)), y se hizo el acoplamiento mediante la herramienta *AutoDock* con las coordenadas: center\_x 32.825 center\_y -25.146 --center\_z -35.434 size\_x 126 size\_y 126 size\_z 126.

El modelo construido de la NS5 presentó una identidad del 65,84 % y un puntaje en *QMEAN Z-score* de -1,44. La identidad del dominio RdRp fue de 76,24 % y -2,34 y la de Mtasa, de 97,71 % y 0,05. El puntaje Z de los modelos refinados para NS5

fue de -0,755, el de RdRp de -1,299 y el de Mtasa de 0,113, en tanto que los puntajes TM fueron de 0,9962, 0,9956 y 0,9933, respectivamente. El ensayo de acoplamiento sobre la región RdRp arrojó nueve posibles sitios de acoplamiento de la curcumina, y la interacción favorable fue sobre el aminoácido arginina 400 (-6,2 kcal), ubicada en el subdominio dedos.

Se construyó el modelo por homología de la proteína NS5 y sus dominios (RdRp y Mtasa). El acoplamiento mostró interacción con Arg 400 de la polimerasa.

..... X .....

### C-033. Distribución de los serotipos de dengue en muertes notificadas en el 2014

Marcela María Mercado-Reyes<sup>1</sup>, Daniela Salas-Botero<sup>1</sup>, Lissethe Carolina Pardo-Herrera<sup>2</sup>, Angélica María Rico-Turca<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Laboratorio de Arbovirus, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

El dengue es una enfermedad viral febril aguda cuyas manifestaciones van desde procesos asintomáticos hasta cuadros graves y se presenta como dengue (sin signos de alarma o con ellos) y dengue grave. El agente etiológico es el virus del dengue, de la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*, de los arbovirus. El virus del dengue tiene cuatro serotipos (1, 2, 3 y 4) y la infección con alguno de estos serotipos no produce protección cruzada o prolongada para los otros.

El objetivo del estudio fue determinar la proporción de positivos en los casos de muerte por dengue según el serotipo circulante.

Para la detección del genoma viral y la tipificación del serotipo infectante en las muestras de tejido enviadas al Instituto Nacional de Salud se utilizó la técnica de PCR con transcripción inversa e iniciadores específicos dirigidos a la proteína de envoltura.

En el 2014, se reportaron 294 muertes al Sivigila, de las cuales 102 tuvieron resultado positivo para dengue en muestras de tejido y se distribuyeron por serotipo de dengue así: DENV1: 24,5 % (25/102), DENV2: 26,5 % (27/102), DENV3: 25,5 % (26/102) y DENV4: 14,7 % (15/102). En nueve de los casos no se determinó el serotipo.

Se evidenció la circulación de los cuatro serotipos del virus del dengue en los departamentos que notificaron un mayor número de muertes (Santander, Tolima, Meta y Quindío).

..... ✕ .....

#### **C-034. Neuroprotección asociada a los fármacos MK801 y VPA en ratones infectados con la cepa del virus del dengue neuroadaptada D4MB-6**

Sigrid Camacho-Ortega, Jaime E. Castellanos, Myriam L. Velandia-Romero

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

Usando un modelo de encefalitis por dengue desarrollado en nuestro laboratorio, se infectaron ratones Balb/c neonatos con la cepa del virus del dengue D4MB-6 y luego se trataron durante tres o seis días con los fármacos MK801 o con ácido valproico, para así evaluar los cambios histológicos del tejido asociados con la infección con D4MB-6 en presencia de los fármacos o sin ella.

Los cerebros de los animales infectados tratados y sin tratar se procesaron para ser evaluados por histomorfometría e inmunohistoquímica. Se observó que en el sexto día después de la infección, la neuroinfección con el D4MB-6 indujo la muerte neuronal y cambios en la citoarquitectura, ya que en la neocorteza cerebral de los animales infectados se contaron en promedio 96 neuronas/mm<sup>2</sup>, lo que significa una reducción del 25 % con respecto a los otros grupos experimentales (control no infectado: 129,7; infectados + ácido valproico: 125; infectados + MK801: 110 neuronas/mm<sup>2</sup>).

En los animales infectados se encontraron en promedio 44 neuronas/mm<sup>2</sup> que presentaban alteraciones en el citoplasma o el núcleo, mientras que en los cerebros de los animales tratados con ácido valproico o MK801 se contaron en promedio 11,8 o 15 neuronas/mm<sup>2</sup> con alteraciones (p<0,0001).

Al hacer la evaluación de la apoptosis mediante la técnica de TUNEL, se encontraron abundantes marcas en los tejidos de los animales infectados, mientras que el número de células positivas fue escaso en los animales infectados y tratados con ácido valproico y MK801. Similar resultado se observó usando el marcador de neurodegeneración Fluoro Jade C. En los animales infectados se

encontró un aumento significativo de la expresión de GFAP concomitante con una disminución en la reactividad del marcador neuronal NeuN.

La neuroinfección por D4MB-6 induce la muerte y la degeneración neuronal asociada con la respuesta inmunitaria y la excitotoxicidad por glutamato, lo que promueve el desarrollo de manifestaciones neurológicas y la alteración del tejido. Los fármacos usados podrían evaluarse en pacientes con manifestaciones neurológicas.

..... ✕ .....

#### **C-035. Caracterización de casos de dengue en el departamento del Quindío, 2007-2013**

Diana Patricia Londoño-Buriticá<sup>1</sup>, María Mercedes González<sup>1</sup>, Ana Cecilia López<sup>2</sup> Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

El dengue es una enfermedad infecciosa producida por un virus y transmitida por la hembra del mosquito *Aedes aegypti*, muy común en áreas con clima predominantemente tropical. Según la Organización Mundial de la Salud (2015), "La incidencia del dengue va en aumento, según una estimación reciente, se producen 390 millones de infecciones por dengue cada año, de los cuales 96 millones se manifiestan clínicamente".

El dengue grave, conocido anteriormente como hemorrágico, es un estadio complicado, con manifestaciones graves que producen la mayoría de las muertes. La transmisión del dengue es prevenible y sus signos y síntomas son tratables. Las acciones preventivas deben ir encaminadas al control del vector y de la transmisión de la enfermedad. A pesar de los conocimientos y recomendaciones al respecto, la cadena de transmisión sigue aumentando, lo que indica que no se han tomado las medidas correctivas correspondientes.

El estudio se propuso caracterizar los casos de dengue y dengue grave reportados al Sivigila en el departamento del Quindío entre el 2007 y el 2013. Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo con la información de las fichas de notificación recibidas en la Secretaría Departamental de Salud del Quindío entre el 2007 y el 2013.

El dengue fue el síndrome febril más común con 18.205 casos durante el periodo estudiado. En el brote del 2010 se reportaron 9.757 casos, que afectaron por igual a hombres y mujeres, especialmente entre los 15 y 45 años de edad. Los signos y síntomas más comunes fueron: fiebre, mialgias, artralgias y cefalea. Para el mismo periodo se reportaron 102 casos de dengue grave, con una proporción de 0,25 a 1,36 %.

Se debe continuar desarrollando acciones de prevención y control estricto del vector para disminuir el número de casos. Aunque el control ha mejorado gracias al esfuerzo de la Secretaría de Salud Departamental, se requiere mejorar el reporte y el seguimiento de los casos.

..... ✕ .....

### **C-036. Análisis de casos de mortalidad por dengue, Quindío, 2014**

Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>, María Mercedes González<sup>1</sup>, Diana Patricia Londoño<sup>1</sup>, Ana Cecilia López<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

El dengue es una enfermedad viral febril aguda causada por un virus ARN de cadena simple y polaridad positiva que se transmite por la picadura de *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*. Las manifestaciones de la enfermedad van desde procesos asintomáticos hasta cuadros graves y se definen diversas formas clínicas: dengue sin signos de alarma, dengue con signos de alarma y dengue grave, esta última asociada con una mayor mortalidad. El Ministerio de Salud de Colombia ha registrado un aumento en los casos de mortalidad por dengue de 0,07 a 0,19 por 100.000 habitantes en la década.

El estudio se propuso analizar los casos de mortalidad por dengue en el departamento del Quindío. [Quindio.edu.c2014](http://Quindio.edu.c2014).

Se analizaron las historias de los pacientes que murieron por dengue en el durante el 2014 en el departamento del Quindío según los registros de la Secretaría de Salud Departamental del Quindío. Los casos se confirmaron mediante métodos moleculares (PCR con transcripción inversa).

Se registraron y analizaron cuatro casos de mortalidad por dengue. Las edades estuvieron

comprendidas entre los 7 y los 33 años. La distribución por sexo correspondió a 50 % de hombres y 50 % de mujeres. En tres de los cuatro casos se evidenció la existencia de enfermedades concomitantes. Tres de los cuatro pacientes presentaron manifestaciones hemorrágicas como hematesis, sangrado espontáneo en las encías y epistaxis. Un paciente presentó dolor abdominal generalizado (tipo cólico), y en otro se presentó elevación de los niveles de enzimas hepáticas. Mediante PCR con transcripción inversa se identificaron en el Instituto Nacional de Salud los serotipos de dengue 1 y 4 (n=2).

La mortalidad por dengue en el departamento del Quindío indica que, a pesar de que el sistema de vigilancia funciona, se debe tener en cuenta la búsqueda de signos de alarma en pacientes con enfermedades concomitantes.

..... ✕ .....

### **C-037. Descripción clínica y epidemiológica y hallazgos por el laboratorio de una serie de casos febriles agudos en el departamento del Quindío, Colombia, 2014**

Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>, María Mercedes González<sup>1</sup>, Diana Patricia Londoño<sup>1</sup>, Ana Cecilia López<sup>2</sup>, Delia Piedad Recalde<sup>1</sup>, Carlos Andrés Rodríguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

El síndrome febril agudo, causado por agentes infecciosos como los hemoparásitos, las bacterias y los virus, es uno de los principales motivos de consulta en los servicios de urgencia en los diferentes niveles de atención hospitalarios. En la mayoría de los casos, la sintomatología clínica no permite hacer un diagnóstico acertado y es necesario contar con sistemas de vigilancia con un buen conjunto de pruebas diagnósticas inmunológicas y moleculares.

El objetivo del estudio fue describir los hallazgos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio en una serie de pacientes con síndrome febril en el Quindío.

Se recibieron los sueros de pacientes que consultaron por síndrome febril agudo en los hospitales de los municipios del Quindío durante el segundo semestre del 2014 y se les hicieron pruebas rápidas de detección de NS1, IgG e IgM para dengue, de

IgG e IgM contra leptospira, de IgM para la malaria y HBsAg, ELISA IgM de captura para hantavirus, y de IFI-IgM contra *Rickettsia rickettsii* y *R. typhi*. Como prueba confirmatoria para dengue se empleó ELISA de captura para IgM.

Se analizaron 206 muestras; 55,3 % de ellas fueron positivas para IgM contra dengue; la concordancia entre las pruebas rápidas y la prueba ELISA de captura para IgM fue de 47,4 %. El 22,8 % fue positivo para el NS1 del dengue, el 3,9 % para hantavirus, el 1,9 % para leptospira, el 1,44 % para *R. typhi*, el 0,96% para *R. rickettsia* y el 0,5 % para malaria y para HBsAg. En el 12,6 % de los casos no se pudo establecer el agente causal. Se hicieron dos aislamientos virales en células C636HT, y siete muestras se serotipificaron mediante PCR con transcripción inversa, cinco de las cuales fueron DENV2 y dos, DENV3. La incidencia más alta para dengue se presentó en el municipio de Quimbaya (79,82 %) y la más baja en Filandia (0 %). Los síntomas más frecuentes fueron los siguientes: fiebre (95,7 %), mialgias (76,8 %), cefalea (67,2 %), artralgias (48,4 %), dolor abdominal (36 %), vómito (32,8 %), dolor retroocular (31,2 %), manifestaciones hemorrágicas como hemoptisis y hematemesis (10 %) y melenas (2,1 %).

El dengue tiene una participación importante en la etiología del síndrome febril. Es necesario ampliar el conjunto de pruebas diagnósticas, dado que en el 12,6 % de los pacientes no se pudo determinar el agente infeccioso.

..... X .....

### C-038. Correlación de la cinética del antígeno NS1 y de la viremia en sueros de pacientes con dengue y dengue grave infectados por los serotipos 3 y 4 del virus

Bianca De Santis<sup>1</sup>, Rita Maria Ribeiro-Nogueira<sup>1</sup>, Renan Moritz Almeida<sup>2</sup>, Rosany Bochner-Lima<sup>3</sup>, Monique da Rocha-Queiroz<sup>1</sup>, Ana Maria Bispo-de Filippis<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>3</sup> ICICT, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

El dengue es una arbovirosis de gran impacto en la salud pública de los países de regiones tropicales y subtropicales. En Brasil, el virus del dengue fue introducido en 1982 y hasta la fecha se han reportado alrededor de 11 millones de casos, con

un incremento significativo en los últimos años en el número de las formas graves e inusuales de la enfermedad.

La evolución clínica de las infecciones por el virus del dengue varía en gravedad y diversos estudios han asociado los altos niveles séricos de NS1, la viremia, la respuesta inmunitaria, los serotipos y el genotipo del virus infectante como factores de riesgo de la forma más grave de la enfermedad.

El estudio se propuso correlacionar los títulos séricos de la viremia, el antígeno NS1 y las infecciones primarias o secundarias con la gravedad en pacientes infectados por los tipos 3 o 4 del virus en el estado de Río de Janeiro.

Se analizaron 106 sueros de pacientes con dengue agudo o grave previamente clasificados como infecciones primarias y secundarias en cuanto a la carga viral y el nivel de NS1 circulante mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa y la prueba comercial Platelia™ adaptada, respectivamente.

Los niveles de NS1 fueron más elevados en pacientes con infecciones primarias causadas por el tipo 3 del virus en comparación con los pacientes con el tipo 4 ( $p=0,0001$ ). Sin embargo, no se observó correlación en cuanto a la gravedad con los títulos del NS1 y con la viremia y el tipo 3 ( $p=0,418$ ;  $p=0,280$ ) y el tipo 4 ( $p=0,222$ ;  $p=0,296$ ), respectivamente.

La respuesta inmunitaria (primaria o secundaria) tampoco influyó en la viremia ni el NS1 del tipo 3 ( $p=0,579$ ;  $P=0,389$ ) y del tipo 4 ( $p=0,179$ ;  $p=0,307$ ).

En la población estudiada los niveles de los títulos de NS1 variaron de acuerdo con el serotipo infectante, lo que demuestra que se trata de un serotipo dependiente. Sin embargo, la gravedad del dengue fue independiente del título de NS1, de la viremia y de la respuesta inmunitaria, corroborando lo observado por Chau, *et al.*, en el 2010 en pacientes vietnamitas.

..... X .....

### C-044. Evaluación del papel de la vitamina D en la infección por el virus del dengue

Margarita María Cardona-Córdoba<sup>1</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>, Silvio Urcuqui-Inchima<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia



<sup>2</sup> Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia

Cada día existe más evidencia que muestra que la 1,25 hidroxivitamina D tiene la capacidad de regular la producción de citocinas proinflamatorias. Sin embargo, y a pesar de que se ha descrito que la progresión del dengue se asocia con una alteración en la producción de citocinas proinflamatorias, no existen estudios que evalúen el nivel de vitamina D en el suero de pacientes con dengue.

El objetivo del estudio fue establecer los niveles de vitamina D y citocinas proinflamatorias en el suero de individuos con diferentes formas clínicas de dengue.

Se tomaron muestras de sangre de pacientes que consultaron por sintomatología febril aguda compatible con dengue. Se hicieron pruebas rápidas (ELISA) para la detección de NS1, IgG/IgM para el virus del dengue, IgG/IgM contra leptospira, IgM para malaria y antígeno de superficie de la hepatitis B. Como prueba confirmatoria para dengue, se utilizó ELISA de captura para IgM. Además, se cuantificaron mediante ELISA los niveles de IL-6/INF- $\gamma$ /TNF $\alpha$  y los niveles de vitamina D.

En 75 pacientes se aplicaron las pruebas confirmatorias de IgM para dengue. La distribución por sexo fue de 60 % de hombres y 40 % de mujeres, el rango de edad osciló entre los seis meses y los 70 años.

El 60 % de los pacientes se clasificaron como dengue con signos de alarma según las guías. En 45 pacientes se cuantificaron los niveles de IL-6/INF- $\gamma$ /TNF $\alpha$  y de vitamina D. Se encontraron niveles elevados de IL-6/INF- $\gamma$  en los individuos con dengue grave, mientras que los niveles de TNF- $\alpha$  fueron similares para los diferentes estadios clínicos. Los resultados preliminares demuestran que los niveles de vitamina D estaban por debajo de 20 ng/ml (insuficiencia) en el 68 % de los pacientes analizados.

Los estados graves de infección por el virus del dengue se asocian con niveles elevados de IL-6, INF- $\gamma$  y con niveles insuficientes de vitamina D en la mayoría de los casos.

### C-045. La correlación entre anticuerpos y antígeno del virus del dengue en muestras de suero y plasma de pacientes febriles

Shirly Julieth Parra<sup>1,2</sup>, María Goretti Castilla<sup>1</sup>, Carolina Coronel-Ruiz<sup>1,2</sup>, Myriam Lucía Velandia-Romero<sup>1,2</sup>, Jaime E. Castellanos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Red de Investigación Multidisciplinaria para la Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Colciencias, Bogotá, D.C., Colombia.

El diagnóstico clínico del dengue resulta complejo dado que se presenta como un síndrome febril agudo con signos y síntomas inespecíficos que también se presentan en otras enfermedades. El diagnóstico adecuado por el laboratorio es importante para la atención y el manejo de la enfermedad, los brotes y las epidemias. Las pruebas de ELISA para el diagnóstico serológico de la infección por dengue se han validado en muestras de suero, pero en algunas ocasiones solo se tiene acceso a muestras de sangre anticoagulada para el hemograma y no hay posibilidad de tomar una nueva muestra.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desempeño de cuatro pruebas de ELISA para el dengue en muestras simultáneas de suero y plasma de casos sospechosos de dengue.

Se procesaron 42 muestras (21 de suero y 21 de plasma) mediante las técnicas de ELISA de captura para IgM, ELISA de captura para IgG, ELISA indirecta para IgG y ELISA para la detección del antígeno viral NS1. Los porcentajes de muestras positivas fueron los siguientes: IgM (30,0 %), IgG de captura (33,3 %), IgG indirecta (90,5 %), y NS1 (23,8 %), además siete de las 21 muestras (33 %) fueron positivas para el ARN viral. El valor del coeficiente kappa para las mediciones de IgM, IgG de captura, IgG indirecta y NS1 fue de 1,00 en cada una de ellas. El coeficiente de correlación entre las mediciones en suero y plasma fue de 0,99 para IgM, IgG de captura y NS1, y en el caso de la IgG indirecta, el coeficiente fue de 0,98.

Los resultados obtenidos muestran una gran concordancia entre las mediciones en las muestras de suero y plasma, lo cual sugiere que la muestra de plasma puede utilizarse para el diagnóstico, con lo que se podría mejorar la capacidad del sistema para la confirmación de los casos de dengue.

..... X .....

..... X .....

### C-046. Infección de células de la microglía con el virus del dengue neuroadaptado D4MB-6

E. O. Beltrán-Zúñiga, M. A. Calderón-Peláez, S. Aguilera, J. E. Castellanos, M. L. Velandia-Romero

Laboratorio de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

Las células de la microglía son las principales productoras de mediadores inflamatorios y moléculas citotóxicas asociadas al daño nervioso en diferentes procesos patológicos, incluidas las infecciones virales.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la susceptibilidad de las células de la microglía frente a la infección con la cepa del virus del dengue neuroadaptada D4MB-6. Para ello, se obtuvieron cultivos primarios purificados de microglía a partir de cerebros de ratones Balb/C de tres días de nacidos siguiendo dos protocolos modificados ya reportados.

El procesamiento de los cerebros con ambos protocolos permitió la obtención de un cultivo mixto (astroglía y microglía) a partir del cual se hizo un tratamiento con tripsina diluida para eliminar los astrocitos, favoreciendo la adhesión de las células de la microglía, las cuales presentaban el fenotipo característico de grandes núcleos y numerosas ramificaciones.

La confirmación de la pureza del cultivo se hizo por inmunofluorescencia usando anticuerpos específicos para marcadores de microglía (OX2R, CD11b y Iba-1).

El 95 % de las células sembradas fueron positivas para cada uno de los marcadores, con lo que se confirmó la alta pureza del cultivo.

Posteriormente, los cultivos se inocularon con el virus D4MB-6 a las 24, 48 y 72 horas de la infección y se procesaron mediante inmunofluorescencia para la detección del virus del dengue. Se encontró que a las 24 y 48 horas de la infección el 65 % de las células de la microglía estaban infectadas y a las 72 horas el porcentaje era de 77 %. Además, se observó un cambio en la morfología celular con un ensanchamiento en el citoplasma y un acortamiento de las prolongaciones, lo que sugiere activación celular.

La obtención del cultivo primario de microglía y la confirmación de la susceptibilidad a la infección de estas células con el D4MB-6 son hallazgos prelimi-

nares que permitirán caracterizar la respuesta de la microglía a la infección y evaluar su participación en el daño neuronal inducido por estas.

..... X .....

### C-047. Clonación y expresión del inmunomodulador ST2 soluble como producto biotecnológico para el estudio de su rol en la respuesta inmune al virus del dengue

Eliana Calvo, Nadia Castañeda, Jaime Castellanos

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

El ST2 soluble ha demostrado un gran potencial terapéutico para reducir la gravedad de las enfermedades inflamatorias. En estudios previos se ha demostrado que existe una correlación entre la gravedad del dengue y los niveles de ST2 en el suero de pacientes. Nuestro grupo de investigación ha encontrado que el ST2 recombinante es capaz de regular negativamente la expresión de la interleucina 8 producida por la infección con el virus del dengue en macrófagos humanos, por lo cual es necesario conocer su función y caracterizar el receptor y el mecanismo por el cual transmite las señales que conducen a la inhibición de la respuesta inflamatoria.

El estudio se propuso producir la proteína ST2 humana recombinante como una herramienta biotecnológica para resolver los inconvenientes metodológicos originados por el alto costo de la proteína comercial.

La secuencia codificante completa de ST2 se amplificó por PCR con transcripción inversa a partir del ARN total de células endoteliales y se insertó en el vector pGEM-T. A partir de este plásmido recombinante, el inserto fue liberado con enzimas de restricción, subclonado en los vectores de expresión PinPoint Xa y pQE30 y expresado en tres cepas de *Escherichia coli*. Se probaron diferentes tiempos y temperaturas de inducción con el fin de obtener la proteína en la fracción soluble para facilitar su purificación en condiciones nativas.

Las proteínas de interés se detectaron como proteínas de 53 kDa (ST2-biotinilada) y 42 kDa (ST2-His) mediante *Western blot*. La eficiencia en la expresión de la proteína de fusión dependió del clon y del tiempo de inducción.

Se generaron dos clones que expresan el ST2, a partir de los cuales se podrá purificar la proteína biológicamente activa y producir anticuerpos específicos que permitirán elucidar sus funciones.

..... ✕ .....

#### **C-048. Estudios de la infección por el virus del dengue en el barrio París, municipio de Bello, Antioquia**

Luisa Arbeláez<sup>1</sup>, Andrea Trujillo-Correa<sup>1</sup>, Verónica Jaramillo<sup>1</sup>, Lina Salazar<sup>1</sup>, Esteban Marín<sup>1</sup>, Sandra Uribe<sup>1</sup>, Jorge Osorio<sup>2</sup>, Iván D. Velez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin, Wisconsin, USA

Dado al aumento significativo del número de casos de dengue en Colombia, se ha visto la necesidad de implementar nuevas medidas de prevención. Es por esto que se han considerado estrategias como el control biológico con la bacteria *Wolbachia* sp., que afecta la transmisión del virus por parte de su principal vector, *Aedes aegypti*.

El objetivo de este trabajo, desarrollado por la Universidad de Monash en colaboración con el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales de la Universidad de Antioquia, fue describir los aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección por el virus del dengue en el barrio París del municipio de Bello, Antioquia, durante los 10 meses previos a la liberación de mosquitos infectados con *Wolbachia* sp. como método biológico para el control del dengue.

Se hizo un estudio longitudinal en el que se estableció una vigilancia pasiva facilitada. Se determinó en muestras de suero la presencia del antígeno viral NS1 y de los anticuerpos IgM e IgG mediante una prueba rápida de SD®. También se realizaron pruebas de ELISA de captura para IgM e IgG (PANBIO®) en muestras de pacientes en fase aguda y convaleciente. Todos los sueros positivos para NS1 o IgM se evaluaron mediante PCR con transcripción inversa para la confirmación de la infección y la identificación del serotipo.

Durante los 10 meses del estudio (mayo de 2014 a febrero de 2015), se incluyeron 178 pacientes febriles en el estudio, en su mayoría menores de edad; se confirmaron por ELISA 67 infecciones

por el virus del dengue, de las cuales el 77,5 % correspondió a infecciones primarias y el 22,5 % a infecciones secundarias; 46 pacientes fueron positivos para el antígeno NS1 con la prueba rápida y se logró aislar el virus en 31 pacientes, con el siguiente orden de frecuencia: DENV1 (90,3 %), DENV2 (6,5 %) y DENV3 (3,2 %).

Se demostró la transmisión del virus del dengue en el área de estudio y la circulación de tres serotipos en los 10 meses de estudio. De los 67 casos confirmados, solo dos fueron de dengue grave. Los virus aislados serán secuenciados para determinar posibles diferencias en los virus circulantes.

..... ✕ .....

#### **C-049. Clonación, expresión y purificación de la proteína NS1r del virus del dengue 2**

María Isabel Giraldo-Giraldo, Óscar Libardo Vargas-Cuartas, Leidy Lorena García-Ariza, Germán Alberto Téllez-Ramírez, Leonardo Padilla-Sanabria, Jhon Carlos Castaño-Osorio

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

El virus del dengue pertenece a la familia Flaviviridae, género *Flavivirus*, de amplia distribución mundial, y es transmitido por *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. El genoma viral codifica una poliproteína que se escinde en 10 proteínas (C, prM, E, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, y NS5). La proteína NS1 pesa 45 kDa y juega un papel importante en la replicación viral, y en el ensamblaje y la maduración del virión.

El objetivo del estudio fue clonar, inducir la expresión y purificar la proteína NS1 del virus del dengue 2.

Se ligó el gen de la proteína NS1 con el vector de clonación pGEM-T y se hizo subclonación en el vector de expresión pGEX-5X-1; se procedió luego a la transformación de las células de la bacteria *Escherichia coli* BL21 con el recombinante pGEX-5X-1-NS1 para la expresión de la proteína de fusión GST-NS1. Después se incubaron a 37 °C y a 170 rpm en medio LB líquido con 200 µg/ml de ampicilina hasta alcanzar una DO de 0,1. Se agregó el reactivo IPTG en cinco concentraciones diferentes (0,1, 0,3, 0,5, 1 y 2 mM). Para identificar la proteína recombinante GST-NS1 se utilizó un ensayo *Western blot* y para la detección del antígeno NS1, una prueba diagnóstica de inmunocromatografía rápida. La proteína se purificó por medio de elución en gel.

Se logró clonar y expresar la proteína NS1 del DENV-2 usando como vector el plásmido pGEX-5X-1 y como sistema de expresión la bacteria *E. coli* BL21. La expresión de la proteína recombinante GST-NS1 se logró a partir de la adición de 0,1 mM de IPTG. Mediante *Western blot* se pudo identificar una banda de 67 kDa, aproximadamente, y la prueba rápida de inmunocromatografía (SD Biotec Diagnostic combo Dengue Duo) permitió corroborar la expresión de la proteína en el sistema procarionta.

Se logró purificar la proteína por elución en gel con una concentración de 1 mg/ml.

..... ✕ .....

#### C-050. Frecuencia de la infección por el virus del dengue en el mosquito *Aedes aegypti* en una localidad del municipio de Sincelejo, Sucre, Colombia

Sindy Cabarca-Barreto, Carlos Pérez-Guzmán, Pedro Blanco-Tuirán, Anaís Castellar-Martínez, Erwin Camacho-Burgos

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

La vigilancia del mosquito *Aedes aegypti*, principal vector del virus del dengue, constituye una herramienta fundamental a la hora de implementar programas eficientes de control de la enfermedad.

El objetivo del estudio fue evaluar la frecuencia de infección por el virus dengue en el mosquito *A. aegypti* y la incidencia de la enfermedad por dengue en una localidad del municipio de Sincelejo.

El estudio se llevó a cabo en la comuna 3 del municipio de Sincelejo. Se capturaron mosquitos y larvas en 192 casas seleccionadas al azar. Se capturaron 628 mosquitos adultos (63 %, hembras y 37 %, machos) y 170 larvas de la especie *A. aegypti*. Además, se revisaron los reportes de casos en la comuna y se diligenció una encuesta para la evaluación de variables sociodemográficas, entomológicas y climatológicas.

La detección y la tipificación del virus en adultos y larvas se hicieron mediante PCR con transcripción inversa y PCR semianidada. Se evaluaron asociaciones entre las variables mediante métodos de correlación bivariados (Pearson, Spearman y Poisson) y multivariados (regresión logística).

Se procesaron 420 muestras de larvas y mosquitos hembras, de las cuales el 11,9 % (IC<sub>95%</sub> 9,0-15,6)

presentaba infección por el virus del dengue. Además, se evidenció la circulación simultánea de los cuatro serotipos del virus.

Se encontró correlación significativa entre los casos probables de dengue en la comuna 3 y las precipitaciones ( $p=0,0001$  y  $R=0,73$ ), y entre el número de criaderos artificiales y el número de mosquitos ( $p=0,008344$ ) y de hembras ( $p=0,009072$ ), con un  $R$  de 0,21 para ambos casos.

Además, se establecieron dos modelos logísticos para explicar la presencia de la infección por el virus en los mosquitos y la presencia de hembras del vector en el área de estudio.

La comuna 3 de Sincelejo presenta condiciones que favorecen el incremento del riesgo de transmisión de la enfermedad y de casos graves.

..... ✕ .....

#### C-051. Metaanálisis de seguridad, capacidad inmunógena y eficacia en ensayos clínicos de vacunas para el dengue: resultados preliminares

Catalina Reyes<sup>1,2</sup>, Jaiberth Cardona<sup>2</sup>, Juan Álvaro López<sup>3</sup>, Marlén Martínez-Gutiérrez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Maestría en Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

<sup>3</sup> Grupos de Investigación Holística, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

A pesar del gran número de estudios encaminados a encontrar una vacuna para el dengue, hasta el momento no hay ninguna que haya sido aprobada. Uno de los obstáculos es la variabilidad de los estudios, lo que dificulta su análisis conjunto para llegar a conclusiones confiables.

El estudio se propuso desarrollar una revisión sistemática de la literatura científica para analizar la seguridad, la capacidad inmunógena y la eficacia de las diferentes vacunas contra el dengue que se encuentran en fase clínica de desarrollo.

La búsqueda de información se hizo en las siguientes bases de datos: Cochrane Library, Scopus, Science Direct, PubMed, Nature, Lilacs y OvisSp, empleando los términos 'seguridad', 'inmunogenicidad (sic.)' y 'dengue' (Descriptor en Ciencias de



la Salud, DeCS) y la metodología de 'cosecha de perlas'. Los artículos se almacenaron en el gestor de referencias bibliográficas Mendely. Con base en los criterios de inclusión, dos revisores seleccionaron los artículos y extrajeron la información.

Los criterios de búsqueda arrojaron un total de 4.766 artículos, de los cuales se incluyeron solo 42 en el análisis; 54,8 % de los estudios evaluaban la formulación tetravalente de la vacuna y de ellos, el 43,5 % era de fase 1, el 47,8 % de fase 2 y el 8,7 % de fase 3. La seguridad de la vacuna se evaluó teniendo en cuenta síntomas locales como eritema (61,9 %), dolor (45,2 %) y sensibilidad (42,9 %), entre otros, o sistémicos, como fiebre (83,3 %), dolor de cabeza (73,8 %) y mialgias (61,9%), entre otros. La capacidad inmunógena se determinó por la presencia de anticuerpos neutralizantes en el 61,9 % de los estudios y de IgG o IgM (11,9 y 16,7 %, respectivamente). Por último, la eficiencia solo se analizó en el 2,4 % de los estudios.

Se encontró una gran variabilidad en los estudios con relación al diseño y el reporte de los datos sobre seguridad, capacidad inmunógena y eficacia. La descripción de esta variabilidad ha permitido unificar los reportes, con lo cual se está llevando a cabo el metaanálisis.

..... ✕ .....

### **C-052. Perfil proteómico de monocitos humanos infectados con el virus del dengue**

Viviana Martínez-Betancur<sup>1</sup>, Marlén Martínez-Gutiérrez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

El linaje de monocitos y macrófagos se considera uno de los blancos primarios de la infección por el virus del dengue (DENV). Estas células replican de manera eficiente el virus, diseminándolo en diferentes partes del organismo. Dentro de este linaje, la línea celular U937 se ha empleado ampliamente para estudiar diferentes aspectos de la infección por el virus.

El objetivo del estudio fue determinar el proteoma de las células U937 diferenciadas e infectadas con dos cepas de DENV-2, una de ellas asociada al dengue (DENV-2/NG) y la otra asociada al dengue grave (DENV-2/16681).

Las proteínas celulares se extrajeron y separaron mediante electroforesis bidimensional y aquellas con una expresión diferencial se identificaron mediante espectrometría de masas. Los resultados obtenidos se correlacionaron con la viabilidad celular, con la cantidad de partículas virales infecciosas, del genoma y de la proteína viral.

Se encontró que en los cultivos infectados con la cepa DENV-2/NG, nueve proteínas se expresaron de forma diferenciada (cinco disminuyeron y cuatro aumentaron) y en los cultivos infectados con la cepa DENV-2/16681, seis proteínas se expresaron de forma diferenciada (dos disminuyeron y cuatro aumentaron) en comparación con los cultivos sin infección. Entre las proteínas con expresión disminuida se encontraban la proteína de unión a ácidos grasos, la ribonucleoproteína heterogénea nuclear 1, la proteína disulfuro isómera, la enolasa, la proteína de choque térmico 70, la fosfatasa fosfotirosina y la anexina IV, y entre las proteínas con expresión aumentada se encontraban la proteína de choque térmico 70, la betatubulina, la piruvato cinasa, la enolasa 1, la trasaldolasa y la fosfolipasa C.

Siendo el linaje de monocitos y macrófagos tan crítico para la patogénesis de la enfermedad, los estudios adicionales sobre estas proteínas podrían conducir a un mejor entendimiento de las respuestas celulares frente a la infección con el virus del dengue, así como a la identificación de nuevos blancos terapéuticos para la infección viral.

..... ✕ .....

### **C-053. Inhibición de los cuatro serotipos del virus del dengue por la molécula aeroplisilina-1 obtenida mediante ensayos de bioprospección**

Carolina Quintero-Gil<sup>1</sup>, Elkin Galeano<sup>2</sup>, Alejandro Martínez<sup>2</sup>, Marlén Martínez-Gutiérrez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Productos Naturales Marinos, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

Gracias a la biodiversidad de Colombia, la bioprospección sigue siendo una estrategia efectiva para la identificación de moléculas con posibles usos terapéuticos. El efecto antiviral de moléculas

aisladas de esponjas marinas sobre la infección con el virus del dengue, serotipo 2 (DENV-2), se ha reportado previamente; sin embargo, debido a que la inhibición inducida por algunos antivirales depende del serotipo o de la cepa infectante, surge la necesidad de evaluar estas moléculas bajo diferentes condiciones de infección.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la aeroplisinina-1, derivada de *Verongula rigida*, sobre la replicación de los cuatro serotipos del virus del dengue y sobre dos cepas de DENV-2 (DENV-2/NG, asociada a dengue, y DENV-2/16681, asociada a dengue grave).

La molécula se aisló de la esponja *V. rigida* mediante cromatografía líquida (HPLC) y se caracterizó mediante espectrometría de masas y resonancia magnética (RM). Se evaluó su toxicidad en monocitos U937 mediante un ensayo de MTT y el efecto antiviral se evaluó en cultivos infectados con cada uno de los cuatro serotipos de referencia o con las dos cepas de DENV-2 (DENV-2/NG y DENV-2/16681) mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa.

La aeroplisinina-1 inhibió la infección de cultivos infectados con DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4 en 63, 80, 58 y 60 %, respectivamente, lo que demuestra que el DENV-2 es el serotipo más susceptible a la inhibición con esta molécula. En cuanto a la cepa asociada a dengue, se encontró una inhibición del 80 %, mientras que para la cepa de dengue grave la inhibición fue del 58 %, lo que demuestra que la efectividad también depende de la cepa viral.

La aeroplisinina-1 inhibe la infección de los cuatro serotipos del virus del dengue, siendo más efectiva para el DENV-2. Además, inhibe de manera más efectiva la cepa viral asociada a dengue que la cepa asociada a dengue grave, por lo que su potencial antiviral sería selectivo y dependería tanto del serotipo como de la cepa viral.

..... ✕ .....

#### C-054. Competencia vectorial del virus del dengue en poblaciones urbanas de *Aedes aegypti*

Alexander Uribe-Yepes<sup>1</sup>, Carolina Quintero-Gil<sup>1</sup>, Marlén Martínez-Gutiérrez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales, GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia

La transmisión del virus del dengue involucra factores relacionados tanto con el virus como con sus huéspedes vertebrados e invertebrados. La competencia vectorial es uno de esos factores y está determinada en parte por el área geográfica en donde se distribuye el vector y por los serotipos circulantes en ella.

El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad de replicación de los cuatro serotipos del virus del dengue en dos poblaciones de *Aedes aegypti* recolectadas en zonas de alta y baja incidencia de la enfermedad. Se establecieron en el laboratorio colonias de mosquitos *Ae. aegypti* de ambas zonas geográficas y se infectaron con cada uno de los aislamientos virales ( $2 \times 10^5$  copias genómicas). A los 7, 14 y 21 días posteriores a la alimentación se extrajo el ARN total para cuantificar el ARN viral mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa. Además, se infectaron células C6/36 con las mismas cepas virales y se evaluó en ellas la viabilidad y la replicación viral.

Durante los días 7 y 14 posteriores a la alimentación la replicación de los serotipos 1 y 2 fue más eficiente en ambas colonias en comparación con los serotipos 3 y 4 ( $>1 \times 10^5$  y  $<1 \times 10^4$  copias genómicas, respectivamente). En el día 21, la replicación del serotipo 2 disminuyó ( $<1 \times 10^4$  copias genómicas) y no se pudo detectar el ARN genómico para el serotipo 4.

No se encontraron diferencias en la replicación de cada uno de los serotipos entre las dos colonias evaluadas. En las células, los serotipos 1 y 2 afectaron la viabilidad en mayor medida (60 y 55 %, respectivamente) comparados con los serotipos 3 y 4 (86 y 94 %, respectivamente). Asimismo, los serotipos 1 y 2 se replicaron más eficientemente que los serotipos 3 y 4 ( $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  copias genómicas, respectivamente).

La replicación del virus del dengue en *Ae. aegypti* dependió del serotipo viral, pero no de la colonia de mosquitos.

..... ✕ .....

### C-055. Diagnóstico de la infección por dengue durante un periodo epidémico en escolares de Medellín, Colombia

Leidy Diana Piedrahita<sup>1</sup>, Ivony Agudelo<sup>1</sup>, Andrea Trujillo<sup>2</sup>, Ruth E. Ramírez<sup>1</sup>, Jorge E. Osorio<sup>2</sup>, Berta Nelly Restrepo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Colombiano de Medicina Tropical "Antonio Roldán Betancur", ICMT, Universidad CES, Sabaneta, Colombia

<sup>2</sup> Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, United States of America

El dengue es endémico-epidémico en Colombia y se manifiesta con un amplio rango de manifestaciones clínicas. El diagnóstico en el país se realiza principalmente por clínica y por la detección de anticuerpos IgM.

El objetivo del estudio fue evaluar la precisión y la concordancia de la combinación de las pruebas PCR con transcripción inversa (RT-PCR), ELISA de captura para IgM e IgG, y la prueba rápida NS1 IgM/IgG al compararlas con el ensayo de microneutralización ELISPOT (MNT-ELISPOT) en muestras de suero de escolares de Medellín.

En 41 pacientes con sospecha de infección por dengue captados durante un estudio de vigilancia activa en escolares de Medellín, se evaluó la sensibilidad, la especificidad y la concordancia de la combinación de RT-PCR con las pruebas de ELISA de captura Panbio® IgM e IgG y de la prueba rápida SD BIOLINE NS1 e IgM/IgG, usando como prueba de oro el MNT-ELISPOT.

La sensibilidad y la especificidad de la combinación de las pruebas RT-PCR con las de ELISA IgM e IgG fluctuaron entre 32,76 % y 74,93 %, y 56,42 % y 100 %, respectivamente. Con la prueba rápida se encontró una sensibilidad de 30,77 % (IC<sub>95%</sub> 11,11-50,43) y una especificidad del 73,33 % (IC<sub>95%</sub> 56,42-100). La detección de casos incrementó en un 16,4 % con el ELISPOT-MNT. Todos los pacientes presentaban títulos de anticuerpos neutralizantes en la muestra correspondiente a la infección aguda y se clasificaron como infecciones secundarias. La concordancia observada fue buena, con un índice kappa de 0,30 (IC<sub>95%</sub> 0,041-0,56) para la combinación de RT-PCR y ELISA para IgM e IgG; para la prueba rápida la concordancia fue limitada, con un índice kappa de 0,03 (IC<sub>95%</sub> -0,205-0,273).

Estos hallazgos evidencian falencias de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de dengue en la población endémica, en la cual predomina la

infección secundaria y el diagnóstico clínico se hace más complicado debido a la presentación indiferenciada de la enfermedad y al amplio rango de diagnósticos diferenciales.

..... ✕ .....

### C-056. Análisis de determinantes genéticos de la virulencia en cepas del virus del dengue de tipo 2

Katherine Laiton-Donato, Andrés Páez, José A. Usme-Ciro

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

La infección por el virus del dengue, agente causal del dengue y del dengue grave, es una de las enfermedades más importantes transmitidas por vectores según la Organización Mundial de la Salud. En los últimos cinco años, se han reportado en Colombia entre 33.000 y 157.000 casos anuales de dengue y se estima que casi 24 millones de personas están en riesgo de infección. Aunque la gravedad se ha asociado principalmente a las infecciones secundarias por serotipos heterólogos, un número creciente de estudios sugiere la existencia de determinantes genéticos de la virulencia en el genoma viral asociados al desarrollo de los diferentes cuadros clínicos de la enfermedad.

El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de determinantes genéticos de virulencia en el gen de la envoltura (E) de cepas del virus del dengue 2 (DENV-2) aisladas de pacientes con diferentes cuadros clínicos de la enfermedad, y su relación con las diferencias fenotípicas *in vitro*.

Se seleccionaron muestras de suero de serotipo confirmado como DENV-2 provenientes de pacientes con dengue y dengue grave; se hizo el aislamiento viral en células C6/36, se extrajo el ARN viral, se amplificó mediante PCR, y se hizo la secuenciación y el análisis filogenético y de evolución adaptativa. Para la caracterización *in vitro* se hicieron curvas de crecimiento de un paso y titulación.

El análisis filogenético demostró una estrecha relación entre las cepas incluidas en el presente estudio y las cepas del genotipo asiático y americano previamente reportadas. Se evidenciaron dos linajes, cada uno de ellos representado por cepas que ocasionaron tanto dengue como dengue grave. Se demostró una fuerte selección purificadora en el gen analizado y se mapearon dos sustituciones no sinónimas entre las cepas.

Aunque los linajes y el mapeo no se correlacionaron directamente con la gravedad de la enfermedad, es necesario evaluar genomas completos y continuar la caracterización *in vitro*, lo cual permitirá determinar diferencias fenotípicas entre las cepas, lo que representa una estrategia más efectiva para el esclarecimiento de la patogénesis.

..... X .....

### C-057. Competencia vectorial del virus del dengue 2 en dos linajes de *Aedes aegypti* procedentes del municipio de Bello, Antioquia, Colombia

Laura Pérez, Omar Triana, Sair Arboleda

Biología y Control de Enfermedades Infecciosas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El dengue es una enfermedad viral de carácter endémico-epidémico transmitida principalmente por *Aedes aegypti*, que hoy constituye la arbovirosis más importante a nivel mundial en términos de morbilidad, mortalidad y afectación económica. La capacidad del mosquito para infectarse y transmitir el virus del dengue está condicionada por su biología, la biología del virus y el medio ambiente en el que coexisten.

En estudios previos en el municipio de Bello, Antioquia, al analizar la genética de poblaciones del mosquito, se demostró la circulación en proporciones similares de los dos linajes reportados para la especie. Por esto es posible observar un comportamiento biológico diferente en su competencia para transmitir el virus del dengue, lo cual tendría implicaciones epidemiológicas importantes.

El objetivo del estudio fue evaluar la competencia vectorial de los dos linajes de *Ae. aegypti* infectados experimentalmente con DENV-2.

Se recolectaron larvas de *Ae. aegypti* de diferentes criaderos en Bello y se determinaron sus linajes con los marcadores COI y ND4. Posteriormente, se infectaron 100 hembras de cada linaje con DENV-2 mediante alimentador artificial. La detección y cuantificación de partículas virales se hizo mediante un ensayo de placa empleando mosquitos en diferentes momentos después de la infección y dividiendo el mosquito en cuerpo (para verificar la infección) y cabeza (para verificar la diseminación).

Se encontraron diferencias en la replicación del virus en ambos linajes infectados con DENV-2. El análisis en diferentes días después de la infección

demonstró un comportamiento de diseminación propio para cada linaje, lo que sugiere diferencias en la competencia vectorial.

Se categorizaron los linajes de *Ae. aegypti* para la propagación y diseminación del DENV-2, lo cual podría tener implicaciones importantes en la epidemiología del dengue en Bello. Las diferencias biológicas observadas se podrían utilizar como herramientas para el enfoque de las estrategias de control vectorial.

..... X .....

### C-058. Seroprevalencia de los anticuerpos del tipo IgG para dengue en el municipio de Piedecuesta, Colombia

María Isabel Estupiñán<sup>1</sup>, Isabel Rodríguez<sup>2,3</sup>, Luis Ángel Villar<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>2</sup> School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA

<sup>3</sup> Red AEDES, Colombia

El dengue es un gran problema de salud pública porque su incidencia y expansión geográfica han aumentado en los últimos años. Ante la posibilidad de obtener una vacuna próximamente, es necesario cuantificar la transmisión por medio de estudios de seroprevalencia para crear políticas de vacunación adecuadas.

El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia por grupos de edad de los anticuerpos contra el virus del dengue en los residentes del municipio de Piedecuesta, Colombia.

Se hizo un estudio de corte transversal. Se incluyeron 1.037 personas del área urbana por medio de un muestreo probabilístico de varias etapas. Se seleccionó, igualmente, una vereda rural en donde participaron 246 personas. La muestra total fue de 1.283 personas de 2 a 40 años de edad. Todos los participantes respondieron un cuestionario (demográfico, socioeconómico y ambiental), y donaron una muestra de sangre de 5 ml. Para la detección de anticuerpos IgG contra el dengue, considerado como el marcador de infección previa, se usó el kit de ELISA indirecta PanBio. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Industrial de Santander.

La edad promedio fue de 20,73 años (IC<sub>95%</sub> 20,12; 21,33); el 59,03 % de los participantes estaba



conformado por mujeres y el 40,97 % por hombres. La seroprevalencia global de anticuerpos IgG fue del 69,78 %, pero fue significativamente mayor en el área urbana (81,02 %) que en la rural (22,36 %). La seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG aumentó con la edad.

Estos resultados son compatibles con la transmisión endémica de dengue en Piedecuesta. Se evidenció la heterogeneidad entre la seroprevalencia encontrada en el área urbana y la del área rural.

..... ✕ .....

### C-059. Caracterización del estado de salud de las personas en el periodo de convalecencia de un episodio de dengue

Laura Lizeth Luengas-Marín<sup>1</sup>, Luis Ángel Villar-Centeno<sup>1</sup>, Diana Carolina Tiga-Loza<sup>2</sup>, Victor Mauricio Herrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Epidemiología Clínica, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología Clínica, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México

El dengue es la enfermedad viral de mayor impacto para la salud pública en el mundo. Esta enfermedad cursa en tres fases: febril, crítica y de recuperación. Esta última también se llama periodo de convalecencia, y sus manifestaciones han sido poco descritas en la literatura científica.

El estudio se propuso describir las manifestaciones clínicas en el periodo de convalecencia de una población después de un episodio de dengue.

Se hizo un estudio observacional prospectivo y retrospectivo en sujetos que estuvieron hospitalizados con diagnóstico de dengue confirmado por serología en instituciones de tercer nivel de complejidad de la zona metropolitana de Bucaramanga.

Estos sujetos recibieron una visita de seguimiento en la que se les pidió responder un cuestionario para evaluar sus síntomas, así como la fatiga (con el *FQ*) y su calidad de vida (con el *EuroQol-5D*).

Se incluyeron 32 sujetos evaluados en dos periodos: prospectivo, en quienes habían egresado del hospital 10 a 15 días antes, y retrospectivo en aquellos cuyo egreso hospitalario se había dado más de 15 días antes pero no más de 3 meses antes. A los pacientes que cumplían con los criterios de fatiga en la visita inicial se les hizo seguimiento telefónico y visitas periódicas cada 15 días hasta la desaparición de los síntomas.

Se encontró fatiga significativa en 19 (59,4 %) pacientes ( $IC_{95\%}$ ). En el análisis bivariado se evidenció que el sexo femenino y una mayor edad se relacionaban en mayor proporción con la presencia de la fatiga, lo que sugiere que algunos factores intrínsecos del huésped pueden influir directamente en las manifestaciones que se presentan después de la infección aguda.

Los síntomas de mayor prevalencia fueron el cansancio físico (n=25; 65,6 %), la cefalea (n=12; 37,5 %), el mareo y el cansancio mental (n=8; 25 %) y, por último, la presencia de dolor muscular (n=6; 18,8 %).

Estos resultados demuestran que la carga de la enfermedad del virus del dengue no está totalmente descrita, ya que se puede evidenciar que en la fase de convalecencia se presentan síntomas que dificultan el desarrollo y la recuperación normal del individuo debido a la duración de la enfermedad.

..... ✕ .....

### C-060. Evaluación de un índice de gravedad clínica para predecir la admisión en las unidades de cuidados intensivos en niños con dengue

Ángel Paternina-Caicedo<sup>1,2,3</sup>, Hernando Pinzón-Redondo<sup>1,2</sup>, Fredi Díaz-Quijano<sup>4</sup>, Ángel Guzmán<sup>1</sup>, Nelson Álviz-Guzmán<sup>1,2,3</sup>, Fernando De la Hoz-Restrepo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Infectología Pediátrica, Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Economía de la Salud, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

<sup>3</sup> Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Epidemiología, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Brasil

El dengue causa una importante carga de enfermedad en los países endémicos. La hospitalización en las unidades de cuidados intensivos es un importante punto de referencia para la gravedad de una enfermedad. El *triage* y la clasificación adecuada de estos pacientes pueden disminuir la frecuencia de eventos secundarios, sobre todo en poblaciones de mayor riesgo como los niños.

El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar un índice clínico para predecir la hospitalización en la unidad de cuidados intensivos de los niños con dengue.

El estudio retrospectivo de cohortes se llevó a cabo desde el 1º de enero de 2013 hasta el 17 de agosto de 2014 en niños que acudieron al servicio de urgencias del Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja en Cartagena, Colombia. La fase de desarrollo se hizo con ocho posibles predictores medidos en el momento de la admisión en urgencias en un modelo de regresión logística paso a paso. La validación interna se hizo con el método *bootstrap* (500 repeticiones).

Se admitieron en urgencias 721 pacientes con dengue y 53 fueron hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos. Las siguientes cinco variables se eligieron como las que mejor se ajustaban, según el método de regresión logística paso a paso: letargia (*Glasgow Comma Scale*  $\leq 14$ ), hematocrito, edad, recuento de plaquetas y dengue grave (según la definición de la Organización Mundial de la Salud), y la interacción entre la edad y el recuento de plaquetas. El área bajo la curva fue de 0,774. Según el test de Hosmer-Lemeshow, la calibración de la muestra de la fase de desarrollo fue adecuada ( $p > 0,05$ ).

Este modelo puede ser de ayuda en los países tropicales para predecir la gravedad del paciente pediátrico en el servicio de urgencias y orientar el inicio oportuno de intervenciones que reduzcan la morbimortalidad por dengue.

..... ✕ .....

### **C102. Eficacia de la prueba rápida “Dengue Duo” en la detección de NS1 en dos comunas del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia**

Lina Salazar<sup>1</sup>, Andrea Trujillo<sup>1</sup>, Luisa Arbeláez<sup>1</sup>, Esteban Marín<sup>1</sup>, Iván D. Vélez<sup>1</sup>, Jorge Osorio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA

En Colombia, se presentan más de 12.000 personas infectadas por el virus del dengue al año; el diagnóstico de la enfermedad permite hacer el seguimiento clínico del paciente y vigilar la aparición de los signos de alarma del dengue grave, además de prevenir o controlar las epidemias. Las pruebas rápidas que permiten la detección del antígeno NS1 y de las inmunoglobulinas IgM e IgG constituyen una herramienta útil para el diagnóstico del dengue.

El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de la prueba rápida “Dengue Duo” para el diagnóstico del dengue en pacientes febriles de dos comunas del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia.

Se incluyeron 512 pacientes febriles de las comunas de Santa Cruz (municipio de Medellín) y París (municipio de Bello) entre mayo de 2013 y febrero de 2015, a quienes se les hicieron las pruebas Dengue Duo SD® y ELISA de captura (IgM/IgG) para el diagnóstico de dengue.

Se detectó la infección por dengue en 148 (28,9 %) de los 512 sueros de pacientes en fase aguda con la prueba de serología, y en 87 (16,9 %) mediante el test Dengue Duo NS1/IgM-IgG. La sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la infección aguda por dengue de la prueba Duo SD NS1/IgM fueron de 58,78 % y de 99 %, respectivamente.

Aunque las pruebas rápidas son una herramienta útil para el diagnóstico temprano del dengue, existen algunas variables que pueden afectar estas pruebas. En este estudio se determinó que la comuna es una variable de confusión para determinar la sensibilidad, ya que en la comuna Santa Cruz la sensibilidad fue del 41 % y en la comuna París fue de 82 % en comparación con el diagnóstico mediante ELISA.

..... ✕ .....

## VIRUS DEL CHIKUNGUÑA

**C-061. Genotipo circulante del virus del chikunguña en el departamento de Sucre, Colombia**

Erwin Camacho, Viviana Ruiz, Sindy Martínez, Sindy Cabarca, Pedro Blanco

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

El virus del chikungunya es un alfavirus perteneciente a la familia *Togaviridae*, el cual es transmitido por mosquitos. El virus posee un genoma de 12 kb, aproximadamente, con dos marcos abiertos de lectura que codifican para dos poliproteínas: estructurales (C, E3, E2, 6K y E1) y no estructurales (nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4). Se han identificado tres genotipos virales relacionados con su origen geográfico: el africano occidental, el oriental/central/surafricano y el asiático. Este virus causa una enfermedad conocida como fiebre del chikunguña, con una tríada clásica de síntomas: fiebre, artralgia y erupción cutánea. El primer caso en América se reportó en diciembre del 2013 en la isla Saint Martin y en Colombia se inició un brote epidémico en septiembre de 2014. Hasta el 7 de febrero de 2015 se habían reportado 189.959 casos a nivel nacional y 19.365 casos en Sucre.

El objetivo del estudio fue determinar el genotipo del virus del chikunguña circulante en el departamento de Sucre, Colombia, durante el brote epidémico de 2014-2015.

Se recolectó la información clínica, así como muestras sanguíneas de participantes con sintomatología compatible con la fiebre del chikunguña en fase aguda. Se hizo la detección molecular del virus mediante PCR con transcripción inversa (nsP1). Las muestras positivas se emplearon para amplificación y secuenciación del gen *E1*, con el fin de determinar el genotipo viral mediante análisis filogenéticos.

Se incluyeron en el estudio 128 participantes, de los cuales 42 (32,8 %), con edad promedio de 20 años, resultaron positivos para el virus. Se obtuvo una secuencia parcial de 1.044 nucleótidos de *E1* en 11 de los participantes positivos. Los virus detectados pertenecían al genotipo asiático y la distancia genética entre estos fue inferior al 1 %. El genotipo circulante del virus en el departamento de Sucre durante el brote de 2014-2015 fue de origen asiático. No se encontró variación genética entre los virus detectados.

..... X .....

**C-062. Infección por el virus del chikunguña en pacientes pediátricos en el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja de Cartagena**

María Badillo<sup>1,2</sup>, Hernando Pinzón<sup>2</sup>, Andrea Zárate<sup>2</sup>, Katherine Barrios<sup>2</sup>, Ángel Paternina<sup>2</sup>, Anderson Díaz<sup>1</sup>, Salim Máttar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Ciénaga de Oro, Colombia

El virus del chikunguña es un arbovirus emergente transmitido por la picadura de los vectores antropofílicos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. El virus se diseminó rápidamente por el mundo y apareció en Colombia en julio de 2014, causando un impacto grande en la salud pública, especialmente en pacientes pediátricos, debido a las complicaciones de tipo neurológico, cutáneo y de transmisión materno-fetal reportadas.

El objetivo del estudio fue caracterizar clínica y epidemiológicamente la infección por el virus del chikunguña en pacientes pediátricos atendidos en el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja de Cartagena.

Entre los meses de septiembre y diciembre de 2014, se estudiaron 60 pacientes pediátricos (rango: 1 a 17 años; media, 1,92 meses) que acudieron al servicio de urgencias de este hospital con sintomatología sugestiva de infección por el virus del chikunguña de entre uno y cinco días de duración. Se tomaron los datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio; la infección se confirmó por PCR con transcripción inversa, y se cuantificó la carga viral.

En 54 pacientes (90 %) se hizo la confirmación mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa. De estos, el 52 % eran menores de un año; la media de la aparición de síntomas fue de 1,85 días (DE=1,5).

Las siguientes fueron algunas de las características clínicas encontradas: exantema generalizado (78 %), artralgia o edema articular (35 %), alteraciones en la piel (9,3 %), afecciones cardiacas (9,3 %) y convulsiones (3,7 %).

Los resultados del hemograma en los 54 pacientes fueron los siguientes: linfopenia (47 %), leucopenia (35 %), y trombocitopenia leve (18 %).

La carga viral demostró una correlación significativa con la edad ( $\beta=0,33$ ,  $p=0,006$ ).

Se presentaron cuadros clínicos típicos (síntomas articulares y exantemas, entre otros), y atípicos (alteraciones en la piel, afecciones neurológicas y cardíacas). La correlación de la carga viral con la edad evidenció picos más altos en lactantes menores (un mes a un año).

La presentación clínica de los casos pediátricos demostró que aún existen formas que no han sido reportadas en artículos científicos en Colombia, como es el caso de transmisión transplacentaria, lo que amerita seguir analizándolas.

..... ✕ .....

### C-063. Aspectos clínicos y caracterización molecular del virus del chikunguña emergente en Colombia

Andrea Trujillo-Correa<sup>1</sup>, James Weger-Lucarelli<sup>2</sup>, Esteban Marín<sup>1</sup>, Luisa Arbeláez<sup>1</sup>, Lina Salazar<sup>1</sup>, Daniel Vásquez<sup>1</sup>, Jorge Osorio<sup>2</sup>, Iván D. Velez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin, Wisconsin, Estados Unidos

El virus del chikunguña es transmitido por artrópodos y se asocia a una enfermedad febril aguda frecuentemente acompañada de erupción cutánea y artralgias que puede persistir durante varios años. La fiebre del chikunguña es un problema de salud pública emergente en las Américas. En Colombia se ha expandido rápidamente gracias a la presencia del mosquito vector y de huéspedes susceptibles no expuestos previamente.

Este estudio se propuso describir los aspectos clínicos de un caso clínico de fiebre del chikunguña y caracterizar el virus circulante.

Se trata de un paciente de sexo masculino de 32 años de edad que consultó por un cuadro febril de tres días de evolución que inició después de haber visitado el municipio de Magangué, Bolívar.

Se hizo el diagnóstico diferencial para dengue con la prueba Dengue Duo, ELISA de captura (IgM/IgG). Los cebadores dirigidos contra el gen que

codifica para la proteína nsP1 permitieron establecer el diagnóstico de fiebre del chikunguña mediante PCR con transcripción inversa. Se hizo seguimiento en los días 3, 6, 9, 12 y 24 de inicio de los síntomas y se tomaron muestras para los exámenes de laboratorio y el diagnóstico serológico. A partir del suero de 3 días se aisló el virus para su posterior secuenciación.

Se registró fiebre de 40 °C, erupción macular eritematosa en pecho y levemente pruriginosa en espalda, acompañadas de artralgias y mialgias en las articulaciones de las muñecas, rodillas, tobillos y columna vertebral.

En los exámenes de laboratorio solo se observó una disminución de los linfocitos. La infección aguda fue confirmada en el Hospital Departamental mediante ELISA para IgM. Los ensayos de neutralización por reducción en placas (PRNT) revelaron la presencia de anticuerpos neutralizantes desde el día 9, con aumento en el día 12, y el título más alto en el día 24, cuando la prueba PRNT50 fue de 1:12500.

La secuenciación de las proteínas estructurales (C-E3-E2-6K-E1) del aislamiento colombiano comparado con el de las Islas Vírgenes Británicas demostró únicamente una mutación no sinónima en un solo nucleótido.

El paciente evolucionó favorablemente sin consecuencias articulares. La viremia fue alta cuando se cuantificó mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa a los 3 días del inicio de los síntomas. Las inmunoglobulinas IgM e IgG se detectaron mediante diferentes métodos serológicos.

El genotipo circulante corresponde al asiático y no se observaron mutaciones importantes con respecto a lo ya reportado.

..... ✕ .....

### C-064. Encuesta epidemiológica sobre el virus del chikunguña en Ovejas, Sucre

Nelson Méndez<sup>1</sup>, Luis Causil<sup>1</sup>, Héctor Contreras<sup>1</sup>, Amada Bolaños<sup>1</sup>, José Aponte<sup>1</sup>, Salim Máttar<sup>1</sup>, Alfonso Calderón<sup>1</sup>, Nelson Álvis<sup>2</sup>, Germán Arrieta<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Economía de la Salud, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Salud Pública, CECAR, Sincelejo, Colombia



El virus del chikunguña es un alfavirus ARN transmitido por mosquitos del género *Aedes*. Causa una enfermedad que puede ser aguda, subaguda o crónica y se caracteriza por fiebre, cefaleas, erupción cutánea, mialgias y artralgias incapacitantes que pueden persistir durante años. El virus es un problema de salud pública muy prevalente en Colombia y el Caribe.

El objetivo del estudio fue describir las características epidemiológicas del brote de fiebre del chikunguña en el municipio de Ovejas, Sucre.

En 515 viviendas de la población del municipio de Ovejas (20.551 habitantes) se hicieron 1.277 encuestas voluntarias. La encuesta se aplicó de forma homogénea y representativa en todo el municipio. Los requisitos para llenar el cuestionario fueron haber permanecido en el municipio durante más de tres años y haber padecido la enfermedad. Se incluyeron personas que convivían en la misma vivienda y que padecieron la enfermedad. Se indagó sobre los aspectos demográficos, epidemiológicos, clínicos y sociales.

Las 1.277 personas enfermas de chikunguña tenían una media de edad de 37 años (rango: 1 a 98 años); en cada casa habitaban en promedio cinco personas (rango: 1 a 16 personas); de cada cinco personas, tres habían padecido la enfermedad (rango: 1 a 9 personas). El 60 % (761/1.277) de los enfermos eran mujeres. El 52 % (666/1.277) de ellos tuvo asistencia médica y el 6 % (75/1.277) estuvo hospitalizado. Los síntomas y signos se presentaron entre 1 y 128 días (media, 21 días). Las artralgias fueron la secuela más común. Los medicamentos más empleados fueron los analgésicos no esteroideos (34 %), el acetaminofén (34 %) y otros analgésicos (2 %: dipirona, tramadol e hioscina-butilbromuro), las vitaminas (12 %) y los corticosteroides (7,0 %).

El impacto del virus del chikunguña está subestimado, ya que se observó un subregistro del 48 %. Las cifras recolectadas no concuerdan con los 975 casos reportados por el Instituto Nacional de Salud. La media de enfermos fue de tres personas por vivienda y los síntomas perduraron hasta durante cuatro meses.

..... X .....

### C-065. Caso atípico y letal de fiebre por el virus del chikunguña en un neonato, Los Patios, Norte de Santander, 2014

José Orlando Castillo<sup>1</sup>, Daniela Salas<sup>2</sup>, Claudia Marcela Muñoz<sup>3</sup>, Milena Alexandra Valderrama<sup>4</sup>, Claudia Teresa Rangel<sup>5</sup>, Heidy Vargas<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup> Grupo de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

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

<sup>4</sup> Grupo de Vigilancia en Salud Pública, Instituto Departamental de Salud de Norte de Santander, Cúcuta, Colombia

<sup>5</sup> Vigilancia en Salud Pública, Secretaría de Salud Municipal de Cúcuta, Cúcuta, Colombia

<sup>6</sup> Grupo de Vigilancia en Salud Pública, Instituto Departamental de Salud de Norte de Santander, Cúcuta, Colombia

Desde diciembre de 2013, la región de las Américas enfrenta una epidemia de fiebre por el virus del chikunguña. Los reportes de letalidad y casos atípicos son escasos en la literatura científica regional.

El objetivo del estudio fue describir un caso de fiebre por el virus del chikunguña confirmado por laboratorio en un neonato con manifestaciones cutáneas y evolución rápida a la muerte.

Se presenta un reporte de caso ocurrido en el municipio de Los Patios, Norte de Santander, Colombia, en diciembre de 2014.

Se trata de un recién nacido de 16 días llevado a consulta el 4 de diciembre de 2014 a las 21:08 horas debido a un cuadro de 24 horas de evolución con exantema generalizado, fiebre, malestar general, hiporexia y diarrea. No había antecedentes de infección en la madre durante el embarazo y el parto.

En el examen físico del neonato se observaron buenas condiciones con signos vitales estables, exantema generalizado e irritabilidad; se estableció el diagnóstico diferencial de enfermedad por el virus del chikunguña y dengue.

A las 24 horas el niño presentó dificultad respiratoria y distensión abdominal; los leucocitos estaban en 7.050/mm<sup>3</sup>, los neutrófilos en 64 %, los linfocitos en 36 %, los monocitos en 0 %, los eosinófilos en 0 % y los plaquetas en 150.000/mm<sup>3</sup>.

las plaquetas en  $328.000/\text{mm}^3$ , y la PCR dio un resultado de 18,95.

En el segundo día se presentaron lesiones costrosas infectadas en cuero cabelludo y múltiples abscesos, por lo que se diagnosticó piodermitis y sepsis neonatal. Se administró tratamiento antibiótico con oxacilina, gentamicina y mupirocina.

El niño ingresó a la unidad de cuidados intensivos neonatales el 6 de diciembre a las 23:13 horas con sepsis, palidez terrosa, acentuada distensión abdominal, hepatomegalia, alteración en las pruebas de coagulación y sangrado activo por sonda orogástrica. La condición del niño evolucionó a choque séptico grave, acidosis metabólica grave, hiponatremia, hipercaliemia, falla renal, oligoanuria y falla orgánica múltiple hasta el fallecimiento a las 72 horas de ingreso. El neonato requirió respiración mecánica asistida, vasopresores, diuréticos y antibióticos de amplio espectro. La muestra de suero resultó positiva para el virus del chikunguña mediante la técnica de PCR con transcripción inversa.

La presentación de este caso debe llamar la atención de los médicos para que se familiaricen y estén alertas ante la posibilidad de ocurrencia de casos atípicos y fatales de la enfermedad. Se debe mejorar el conocimiento de la enfermedad para ayudar a mitigar el impacto en la población de alto riesgo.

..... ✕ .....

### C-066. Actualización entomológica para los vectores del virus del chikunguña en Colombia

Susanne Ardila-Roldán, Ligia Lugo-Vargas

Grupo de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

El virus del chikunguña y el virus del dengue son virus transmitidos por la picadura de mosquitos del género *Aedes*. La reciente introducción del virus del chikunguña en Colombia (2014), despertó la alerta entomológica, ya que los vectores más importantes son *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, ambos presentes en el país. El Instituto Nacional de Salud lidera la Red Nacional de Entomología conformada por las unidades departamentales y distritales de entomología.

El objetivo del presente estudio fue fortalecer la vigilancia entomológica en el país mediante la

actualización de la presencia de estos vectores y de las actividades en las unidades de entomología.

Mediante la información suministrada por las unidades del país en el marco de la vigilancia entomológica regular, se actualizó y se diseñó el mapa de la distribución de los vectores y se propusieron estrategias para el fortalecimiento de la vigilancia entomológica nacional.

Se registró la presencia del vector *Ae. aegypti* en todos los departamentos del país para el periodo 2014-2015, a un altura máxima de 2.150 msnm (El Espino, Boyacá). La presencia del mosquito *Ae. albopictus* se notificó en 29 localidades de diez departamentos: Amazonas, Antioquia, Chocó, Cauca, Caldas, Nariño, Quindío, Risaralda, Santander y Valle del Cauca, con incursiones recientes en tres de ellos. Se diseñaron instructivos para la vigilancia centinela de *Ae. albopictus* en los departamentos en riesgo, al igual que los lineamientos nacionales para fortalecer la vigilancia.

El mosquito *Ae. aegypti* se registró en 1.138 localidades del país (municipios, centros poblados, veredas), y se evidenció su incursión en áreas rurales (43 %). Los departamentos con mayor densidad del vector por localidad fueron: Antioquia, Norte de Santander, Sucre, Cundinamarca, La Guajira, Boyacá, Santander, Huila y Cesar. La presencia de *Ae. albopictus* fue mayor en las cabeceras municipales (60 %) que en las zonas rurales.

..... ✕ .....

### C-067. Análisis filogenético del virus del chikunguña detectado en sueros de pacientes y en mosquitos *Aedes aegypti* en el Caribe colombiano

José Aponte<sup>1</sup>, Jorge Miranda<sup>1</sup>, Hernando Pinzón<sup>2</sup>, Salim Máttar<sup>1</sup>, Vanesa Tique<sup>1</sup>, Amada Bolaños<sup>1</sup>, Germán Arrieta<sup>1,3</sup>, Marco González<sup>1</sup>, Katherine Barrios<sup>2</sup>, Héctor Contreras<sup>1</sup>, Jaime Álvarez<sup>1</sup>, Ader Alemán<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

<sup>2</sup> Clínica del Niño, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Salud Pública, CECAR, Sincelejo, Colombia

En julio de 2014 se presentaron los primeros casos de fiebre del chikunguña en el Caribe colombiano.

El objetivo del estudio fue establecer las características filogenéticas del virus del chikunguña detectado en humanos y en mosquitos en el Caribe colombiano.

Se estudiaron 101 sueros de pacientes y 748 mosquitos *Aedes aegypti* de seis zonas rurales y urbanas: San Joaquín (Bolívar), Ovejas (Sucre), Ciénaga de Oro, Cereté, Lórica y Planeta Rica (Córdoba).

El análisis mediante PCR con transcripción inversa (Transcriptor First-Strand cDNA Synthesis kit®), se hizo en sueros de pacientes con síntomas de uno a cinco días de evolución y en grupos de mosquitos machos y hembras capturados en los lugares mencionados en los estadios de larva y adulto. Para la detección y cuantificación del ADN complementario del virus, se utilizó el kit LightMix® Chikungunya Virus. Se hizo una PCR estándar con los iniciadores M2W y cM3W para el gen *NS1* y para el *E2* se utilizaron los iniciadores Chik-1 y cChik-4. Los fragmentos amplificados obtenidos se secuenciaron y se analizaron en el programa Megas 6.

En 25 pacientes se estableció la carga viral (rango:  $1,6 \times 10^1$  -  $9,7 \times 10^6$ ). Además, esta se cuantificó en cuatro grupos de mosquitos adultos y larvas (rango:  $1,1 \times 10^1$  -  $6,3 \times 10^3$ ).

Se determinó que las secuencias de los virus detectadas en el Caribe colombiano (Genbank KP343865 y KP343866), están relacionadas con las cepas de las Islas Vírgenes Británicas (Genbank KJ451624) y el genotipo asiático aislado en China (Genbank KF318729) y en Filipinas (Genbank KC488650). En una secuencia de un paciente se hallaron dos mutaciones con cambios en las posiciones de los nucleótidos 9558 y 9647 del gen *E2*.

Las secuencias KP343865 y KP343866 que circulan en el Caribe colombiano presentaron un 99 % de similitud con la cepa KJ451624 y constituyen el primer registro del genotipo en Colombia. La mutación encontrada en una cepa obliga a analizar con más cuidado el virus del chikunguña en Colombia.

..... ✕ .....

### C-068. Análisis filogenético del virus del chikunguña en Colombia

Katherine Laiton-Donato, Angélica Rico-Turca, Lissethe Pardo-Herrera, Martha González-Pinilla, Camilo Martínez-Puentes, José Usme-Ciro, Andrés Páez-Martínez

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

El virus del chikunguña, perteneciente al género *Alphavirus*, familia *Togaviridae*, es transmitido por mosquitos; su genoma es ARN monocatenario de polaridad positiva y tiene, aproximadamente, 12 kb. El virus fue introducido en las Américas y el Caribe en el 2013. Debido a su variabilidad genética se han identificado tres genotipos: el asiático, el africano oriental/central/del sur y el africano occidental.

La fiebre del chikunguña es una enfermedad febril aguda acompañada principalmente de artralgia y erupción cutánea. Los primeros casos en Colombia se reportaron en septiembre de 2014 y hasta la semana epidemiológica 8 de 2015 se habían presentado 212.597 casos, de los cuales 1.318 se confirmaron por laboratorio.

El objetivo del estudio fue identificar el genotipo del virus responsable de la primera epidemia en Colombia.

Se seleccionaron muestras de suero de pacientes con sintomatología compatible con la fiebre del chikunguña según la ficha de notificación obligatoria y la historia clínica remitida al Instituto Nacional de Salud durante el periodo 2014-2015 como parte de la vigilancia virológica del evento. Se hizo el aislamiento viral en células C6/36, se extrajo el ARN viral a partir de sueros o sobrenadantes (primer pase), y se amplificó el gen *E1* mediante PCR con transcripción inversa, secuenciación y análisis filogenético.

Se evidenció un promedio de 0,001 sustituciones de bases por sitio, una identidad entre el 99,8 y el 99,9 % a nivel de nucleótidos y del 100 % a nivel de aminoácidos entre las secuencias colombianas y las secuencias reportadas en Saint Martin durante el 2013. En ninguna de las secuencias analizadas se encontró la sustitución A226V; el análisis filogenético demostró la presencia exclusiva del genotipo asiático en el país.

Este es el primer estudio en el que se identifica la circulación del genotipo asiático del virus del chikunguña en el país. Es necesario continuar con la vigilancia virológica para detectar posibles

cambios en la epidemiología, en la habilidad para colonizar nuevos vectores y en la patogénesis del virus, pues estos implicarían un mayor impacto en la salud pública.

..... ✕ .....

### C-069. Reacción cruzada de anticuerpos IgM contra los virus de la rubéola y el chikunguña, reporte de caso

José Orlando Castillo<sup>1</sup>, Pilar Andrea Tavera-Rodríguez<sup>2</sup>

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

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

En julio de 2014 se detectó en Colombia el primer caso importado de fiebre por el virus del chikunguña; a la fecha se han notificado 212.597 casos en el país, de los cuales 1.318 fueron confirmados por el laboratorio y 204.106 por clínica. En el 2014, se confirmaron 25 casos sospechosos de rubéola como casos de chikunguña.

El objetivo del estudio fue describir un caso de reacción cruzada de anticuerpos IgM contra los virus de la rubéola y del chikunguña.

Se presenta un reporte de caso ocurrido en el municipio de Villavicencio, Meta, Colombia, en enero de 2015.

Se trata de una mujer de 49 años que consultó por un cuadro de un día de evolución de erupción en todo el cuerpo asociado a malestar general, sin fiebre, con escalofríos, mialgias, dolor en las rodillas y las piernas, dolor cervical y adenomegalias cervicales y en la ingle derecha.

Se sospechó rubéola, por lo que se solicitó un examen de anticuerpos IgM para rubéola con resultado positivo en la primera y en la segunda muestra de suero y evidencia de un aumento de los títulos de IgG al doble; la PCR con transcripción inversa para rubéola en orina resultó negativa, con acentuada avididad de los anticuerpos IgG anti-rubéola. La paciente se había aplicado la vacuna contra la rubéola en septiembre del 2005.

Veinticuatro días después del inicio de los síntomas, los dolores articulares en muñecas, tobillos y falanges persistían e impedían la marcha. Ante la sospecha de fiebre del chikunguña se hizo análisis de IgM con resultado negativo en la primera muestra y positivo en la segunda. El estudio de contactos reveló un caso sospechoso de rubéola con pruebas de IgM negativas para esta enfermedad.

Se descartó el diagnóstico de rubéola por la evidencia clínica, de laboratorio y epidemiológica.

Las manifestaciones clínicas de la fiebre por el virus del chikunguña se asemejan a la infección por el virus de la rubéola.

La probabilidad de falsos positivos de rubéola ante la circulación de nuevos virus plantea retos para confirmar o descartar casos de rubéola y sarampión, enfermedades que ya fueron eliminadas en el país.

..... ✕ .....

## VIRUS DEL DENGUE Y DEL CHIKUNGUÑA

### C-070. Primer registro de *Aedes albopictus*, vector de los virus del dengue y del chikunguña, en el departamento del Quindío, Colombia

Julián Zamora-Delgado<sup>1</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>, Richard Hoyos-López<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación de Inmunología Molecular, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Medicina Molecular y Traslacional, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El mosquito *Aedes albopictus*, principal vector del virus del chikunguña y segundo vector del dengue después de *Aedes aegypti* y de otros 22 arbovirus, presenta autogenia y se ha evidenciado la transmisión vertical (transovárica) y horizontal para algunos flavivirus y alfavirus. En Colombia se ha identificado en Leticia, Buenaventura, Cali, Barrancabermeja y Medellín.

El objetivo del estudio fue registrar la presencia de *Ae. albopictus* en el municipio La Tebaida, Quindío.



El 20 de febrero de 2015 se inspeccionó una vivienda ubicada en la zona rural de La Tebaida, ubicada a 75° 51' 37.2414" N y a 4° 25' 50.6172" O, y a 1.221 msnm, en busca de criaderos y adultos del mosquito con la metodología propuesta por Belkin, *et al.* (1969).

Los ejemplares inmaduros recolectados se tuvieron hasta obtener colecciones entomológicas de adultos; los especímenes recolectados en campo y obtenidos de crías se transportaron hasta el Laboratorio de Biomédica de la Universidad del Quindío, donde se los almacenó a -20 °C. Los mosquitos identificados como *Ae. albopictus* se caracterizaron molecularmente con la metodología de código de barras de ADN de la citocromo oxidasa I (*bar code*).

En una trampa para larvas ubicada en un remanente de guadua (*Guadua angustifolia*), se encontraron 50 individuos en estadios L1 a L4 y cinco pupas. Se desarrollaron hasta el estadio adulto 40 individuos y en campo se recolectaron tres mosquitos adultos. Se identificaron taxonómicamente con claves dicotómicas (Lane, 1955, Rueda, 2004, González y Carrejo, 2009) 25 individuos como *Ae. albopictus* (7 machos y 18 hembras) y 15 de *Ae. aegypti* (10 machos y 5 hembras).

Se registró por primera vez el vector *Ae. albopictus* para el departamento del Quindío y se amplió el rango de distribución de la especie.

Debido a su gran capacidad para transmitir enfermedades emergentes y reemergentes, se hace necesario una mayor vigilancia y control por parte de las entidades de salud pública, con el fin de prevenir sus efectos sobre la población.

..... X .....

**C-071. Infección concomitante por el virus del dengue y del chikunguña**

Alfredo González, Mario Supelano, Viviana López, Javier Mora, Deisy Alfonso

Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario Clínica San Rafael, Bogotá, D.C., Colombia

La infección concomitante por el virus del dengue y por el del chikunguña se ha encontrado en pocos pacientes. El primer caso fue en India (1964), y ha habido informes en África, Asia y, recientemente, en Europa. Esta infección concomitante puede estar en relación con el aumento de *Aedes albopictus* en áreas ocupadas anteriormente por

*Aedes aegyptii*, principal vector trasmisor de los dos virus. En los reportes, el curso clínico de los pacientes ha sido bueno, pero se desconoce su verdadero comportamiento.

Se han planteado varias razones para explicar la infección concomitante: la redistribución de sus principales vectores, como ya se mencionó, la combinación del rápido crecimiento demográfico y la falta de planeación en la urbanización en áreas endémicas, así como el elevado número de viajes entre distintas naciones; en todo caso, el mecanismo de la infección concomitante no es claro.

Los métodos diagnósticos de laboratorio juegan un papel importante, pues la clínica es similar y en los casos reportados el diagnóstico se ha hecho mediante reacción en cadena de polimerasa e identificación de anticuerpos IgM. Se espera una mayor prevalencia de estos casos en el futuro debido al aumento en la transmisión de estos virus en varias regiones del mundo. En Colombia, hay condiciones favorables para la coexistencia de los dos virus, lo cual favorece la aparición de la infección concomitante.

No hay claridad sobre el comportamiento de la infección simultánea con el virus del dengue y del chikunguña, y aunque esta al parecer se controla satisfactoriamente, se sabe que el dengue en ocasiones puede llegar a desembocar en la muerte, por lo que es necesario el diagnóstico diferencial.

En Colombia, hay condiciones que favorecen la aparición de ese tipo de infección (un deficiente sistema de acueducto y aumento de la población con viviendas inadecuadas), y hoy los ciclos epidémicos son más cortos y hay circulación simultánea de los dos virus, por lo que sería importante establecer la existencia de la infección concomitante.

..... X .....

**C-072. Infección concomitante de dengue y chikunguña, reporte de caso**

Alfredo González, Mario Supelano, Viviana López, Javier Mora, Deisy Alfonso

Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario Clínica San Rafael, Bogotá D.C., Colombia

El virus del dengue y el del chikunguña producen infecciones transmitidas por vectores, los cuales se distribuyen ampliamente en áreas tropicales y subtropicales. Su presentación clínica es muy similar y hoy representan un reto médico ante

la necesidad de hacer un diagnóstico diferencial oportuno. La infección concomitante se ha descrito pocas veces.

Se presenta un caso clínico relevante de infección concomitante de dengue y chikunguña en un paciente de sexo masculino de 33 años de edad procedente de Puerto Libertador (Córdoba), con un cuadro clínico de seis días de fiebre, poliartalgias intensas, escalofríos, astenia, adinamia y dolor retroocular.

En el examen físico se encontró deshidratación y exantema macular generalizado; los exámenes de laboratorio evidenciaron leucopenia y trombocitopenia, resultados negativos para hemoparásitos y normales para bilirrubinas, transaminasas, electrolitos y azoados.

Se le diagnosticó como un caso probable de dengue sin signos de alarma, contrastando el diagnóstico con el de chikunguña.

Se le hospitalizó con recomendación de reposo, reanimación hídrica y administración de analgésicos; el estudio serológico de anticuerpos IgM para dengue y chikunguña fue positivo. El paciente presentó bradicardia sinusal, y se descartaron

otras etiologías; el examen con monitor Holter y el ecocardiograma transtorácico fueron normales. La evolución fue favorable, por lo que se le dio el egreso hospitalario.

El dengue (producido por un arbovirus) y el chikunguña (producido por un alfavirus) son infecciones virales sistémicas de resolución espontánea transmitidas entre humanos por los vectores *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Su presentación clínica es similar, caracterizándose por una incubación de tres a siete días, aparición de fiebre, cefalea, náuseas, vómito, mialgias, artralgias (más acentuadas en la fiebre del chikunguña), erupción macular transitoria, y, en casos graves, manifestaciones de choque y sangrado (sobre todo en el dengue), y recuperación espontánea. Durante los periodos epidémicos estos virus pueden circular en la misma zona y, de vez en cuando, infectar a la misma persona, por lo que es importante considerar el diagnóstico diferencial con los métodos diagnósticos disponibles.

Esta infección concomitante implica una rápida diseminación de los virus, y es consecuencia de los fuertes brotes que se han presentado en los últimos dos años en el país.

..... ✕ .....

## VIRUS DEL SÍNDROME FEBRIL

### C-074. Infecciones concomitantes en el síndrome febril íctero-hemorrágico: dengue y leptospirosis en el departamento del Quindío

María Mercedes González<sup>1</sup>, Diana Patricia Londoño<sup>1</sup>, Ana Cecilia López<sup>2</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

La leptospirosis es una infección bacteriana presente en áreas urbanas y rurales, cuyo desarrollo se ve favorecido por factores ambientales y aquellos relacionados con el estilo de vida. El dengue es una enfermedad causada por el virus del dengue cuyos casos han aumentado en las últimas décadas. Las condiciones ambientales y el cambio climático favorecen la presencia de las dos.

La leptospirosis puede confundirse a menudo con enfermedades febriles virales como el dengue. La posibilidad de la presencia simultánea de estas infecciones resalta la importancia de un diagnóstico oportuno y de un tratamiento adecuado que ayude a disminuir las complicaciones.

El estudio se propuso analizar la información obtenida a partir de la notificación al Sivigila recibida en la Secretaría Departamental de Salud del Quindío entre el 2007 y el 2013.

Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo de la información recolectada. Entre el 2007 y el 2013, se reportaron en el departamento del Quindío 21.112 casos de síndromes febriles. El dengue fue la causa más frecuente. Se reportaron 428 casos de leptospirosis y la infección concomitante por el virus del dengue y la leptospirosis se encontró en 162 casos. Desde el punto de vista demográfico,

los hombres fueron los más afectados y el grupo de edad más vulnerable fue el comprendido entre los 15 y los 45 años.

El dengue y la leptospirosis comparten el mismo nicho ecológico y presentan los mismos síntomas, lo que ha llevado a que se les considere como un síndrome febril al cual se le ha denominado hemorrágico icterico. Esto exige identificar su presencia, con el fin de ofrecer un manejo oportuno y la disminución de las complicaciones.

..... ✕ .....

### **C-075. Síndrome febril en el departamento del Quindío, 2007-2013**

María Mercedes González<sup>1</sup>, Diana Patricia Londoño<sup>1</sup>, Ana Cecilia López<sup>2</sup>, Jhon Carlos Castaño-Osorio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Molecular (Gymol), Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

<sup>2</sup> Secretaría Departamental de Salud del Quindío, Armenia, Colombia

Desde 1998, la Organización Mundial de Salud (OMS) consideró la necesidad de introducir el concepto de "vigilancia sindrómica (sic.)" ante el panorama de las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes.

Este tipo de vigilancia permite detectar enfermedades como aquellas que cursan con fiebre, y procesos icterohemorrágicos como la fiebre amarilla, la leptospirosis, la hepatitis B, la infección por el

hantavirus, el dengue, la hepatitis A y la malaria, los cuales pueden agruparse bajo la denominación de síndrome febril icterohemorrágico.

El análisis de la información sobre estas enfermedades permite generar estrategias de intervención intersectoriales de prevención y control que contribuyan a disminuir la morbimortalidad por estas causas.

El estudio analizó la información obtenida mediante la notificación al Sivigila de los síndromes febriles recibida en la Secretaría Departamental de Salud del Quindío entre el 2007 y el 2013.

Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo de la información de las fichas de notificación recibidas durante el periodo de estudio. Se reportaron 21.112 casos de síndromes febriles. El dengue fue la primera causa reportada con 18.205 casos. Durante el 2010, se reportaron 9.757 casos de dengue, aproximadamente 13 veces más que los reportados en los años anteriores. Se encontraron, además, 162 casos de infección concomitante de dengue y leptospirosis. Se presentaron 22 casos de mortalidad por dengue. Asimismo, se reportaron casos de malaria, malaria mixta, fiebre tifoidea, hepatitis A, hepatitis B y leptospirosis, entre otros.

El síndrome febril icterohemorrágico exige mantener un programa de vigilancia que permita el diagnóstico precoz, las acciones tempranas, el tratamiento oportuno, y la prevención de complicaciones y la mortalidad.

..... ✕ .....

## **OTROS ARBOVIRUS**

### **C-073. Detección de anticuerpos mediante ELISA de captura de IgM contra el virus del Nilo occidental en équidos con síndrome neurológico en Colombia, 2012**

Jorge Elías Tamayo-Rozo<sup>1</sup>, Diego Soler-Tovar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Área de Medicina Equina, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario, Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

El virus del Nilo occidental es un arbovirus ARN de cadena sencilla perteneciente a la familia

Flaviviridae que transmite enfermedades infecciosas emergentes de importancia en salud pública. Tiene dos ciclos de transmisión: el ciclo enzoótico primario, o de amplificación, que involucra un grupo de vectores y huéspedes aviares, y el ciclo secundario, que incluye distintos tipos de artrópodos y se transmite a otros huéspedes vertebrados como los humanos y los caballos. En estos últimos constituye parte del diagnóstico diferencial del síndrome neurológico.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de anticuerpos IgM contra este virus en muestras recibidas en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del Instituto Colombiano Agropecuario

durante el 2012 como parte de la vigilancia pasiva, y clasificados como síndrome neurológico equino mediante prueba ELISA de captura de IgM.

Se hizo un estudio transversal en el área de medicina equina. Se efectuó el diagnóstico diferencial del virus en muestras serológicas de los casos registrados como síndrome neurológico equino y con solicitud de diagnóstico para la encefalitis equina venezolana durante el año 2012. Estas muestras procedían de diferentes regiones del país y se registraron en el marco de la vigilancia pasiva. La determinación de anticuerpos se hizo mediante una prueba interna (*in house*) siguiendo el protocolo de los *Centers for Disease Control and Prevention*.

Se analizaron 1.090 muestras de 727 animales, 119 predios y 19 departamentos de Colombia. La distribución por sexo fue de 554 hembras y 536 machos. De los 1.090 équidos estudiados, 51 eran asnales, 981 equinos y 57 mulares. En la determinación mediante ELISA para IgM se detectaron 1.077 sueros negativos y 13 indeterminados. No se hizo prueba confirmatoria.

Es importante reconocer el síndrome neurológico equino mediante el diagnóstico diferencial, incluida la encefalitis causada por el virus del Nilo occidental. Además, se debe contar con herramientas diagnósticas adicionales, entre las cuales se recomienda la prueba confirmatoria de seroneutralización en placa.

..... ✘ .....

## VIRUS ENTÉRICOS Y ENTEROVIRUS

### C-076. La activación de PPAR $\gamma$ inhibe la infección por rotavirus

Dory Gómez, Natalia Muñoz, Carlos Guerrero, Orlando Acosta

Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

El rotavirus es la principal causa de diarrea grave en niños menores de cinco años. Actualmente, se aplican dos vacunas de rotavirus vivos atenuados (Rotarix™ y RotaTeq™) y, aunque han demostrado su eficacia, no evitan la aparición de los síntomas y muchos niños siguen sin vacunar. En investigaciones anteriores se encontró que algunos medicamentos antiinflamatorios no esteroides, agonistas de PPAR y antioxidantes (NAC, ácido ascórbico), reducían la infección por rotavirus. Actualmente, se intenta aclarar cuáles son los mecanismos bioquímicos comunes de la inhibición farmacológica.

El objetivo del estudio fue evaluar la expresión de las proteínas PPAR $\gamma$  y NF $\kappa$ B en vellosidades intestinales de ratones adultos ICR infectados con rotavirus (ECwt) y tratados con pioglitazona en modelos *in vivo* e *in vitro*.

Los ratones o las vellosidades aisladas fueron infectados con rotavirus ECwt; posteriormente, algunos se trataron con agonistas de PPAR $\gamma$  (pioglitazona, rosiglitazona, tiazolidiona, DHA, HODE, ácido retinoico) y otros no, y se analizó

la infección o la expresión de proteínas celulares (PPAR $\gamma$ , NF $\kappa$ B, Cox-2, PDI, Hsc70) y de especies reactivas de oxígeno (ROS).

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

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

..... ✘ .....

### C-077. Determinación de la interacción del rotavirus WTEW con las proteínas de choque térmico en la membrana citoplasmática de las células Kato III

Érika Velandia, Carlos Guerrero

Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia

En el Laboratorio de Biología Molecular de Virus de la Universidad Nacional de Colombia se está investigando si los rotavirus WWM, TRUY, Wt1-5,



O-ECwt y WTEW (generados en el laboratorio), pueden utilizarse como virus oncolíticos. En investigaciones previas se ha sugerido que los aislamientos de rotavirus interactúan con las proteínas de choque térmico (HSP) de las líneas celulares tumorales Sp2/0-Ag14, U937, REH, MDA, MCF-7 y PC3.

El objetivo del estudio fue determinar la interacción del rotavirus WTEW con las proteínas de choque térmico Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 durante la entrada a la línea tumoral Kato III (carcinoma de estómago).

Se aislaron fracciones enriquecidas de membranas citoplasmáticas, se incubaron con rotavirus o se bloquearon con anticuerpos específicos anti-HSP [completos o porción de  $F(ab')_2$ ] y se añadió el rotavirus. La interacción se observó mediante técnicas de ELISA de captura, coimmunoprecipitación y *Western blot*.

Las células se incubaron con anticuerpos  $F(ab')_2$  y luego con rotavirus durante 12 horas a 37 °C. El

rotavirus se incubó con proteínas HSP completas solubles durante 1 hora a 37 °C y luego con las células durante 12 horas a 37 °C. La infección en ambos casos se evaluó mediante inmunocitoquímica. Por último, se incubaron las células con péptidos sintéticos de cada HSP durante 1 hora a 4 °C, después se agregó el rotavirus durante 12 horas a 37 °C en cámara de CO<sub>2</sub> y la infección se evaluó mediante ELISA de captura.

Se encontró la unión del rotavirus WTEW a las HSP mediante ELISA de captura y *Western blot*. Dicha interacción se interfirió al incubar previamente las membranas celulares con anticuerpos anti-HSP. Igualmente, al incubar células íntegras con los  $F(ab')_2$  anti-HSP o con proteínas solubles o con los péptidos sintéticos hubo disminución de la infección del 60 %, 20 % y 40 %, respectivamente.

El rotavirus WTEW interactúa con las HSP de la línea Kato III, lo que facilita el ingreso del rotavirus a la célula.



## VIRUS DE LA HEPATITIS

### C-078. Estudio de la interacción entre el dominio II del sitio interno de entrada al ribosoma del virus de la hepatitis C y la subunidad ribosómica 40s mediante acoplamiento molecular

Luisa Fernanda Restrepo<sup>1</sup>, Diana di Filippo<sup>1</sup>, Fabián Cortés-Mancera<sup>1,2</sup>, María Cristina Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GI<sup>2</sup>B, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

El genoma del virus de la hepatitis C (HCV) presenta en el extremo 5' el sitio interno de entrada al ribosoma, una estructura secundaria requerida para el inicio de la traducción del genoma y subsecuente síntesis de la poliproteína viral por interacción con factores de inicio (eIF3, eIF2 y eIF5) y la unidad ribosómica.

El objetivo del estudio fue evaluar la interacción entre el dominio II de sitio interno de entrada al ribosoma del HCV y la subunidad ribosómica 40S mediante la implementación de un modelo computacional.

Se descargaron las secuencias de las proteínas ribosómicas de Uniprot y se usaron para la predicción por homología de las estructuras terciarias (3D) con Swiss Model. Se emplearon seis secuencias del sitio interno de entrada al ribosoma del HCV (GenBank: KM275478-79,81-84) de aislamientos provenientes de pacientes colombianos sometidos a múltiples transfusiones para la predicción del dominio II usando la plataforma RNAComposer 1.0; se calculó la distancia media cuadrática mínima con base en el modelo experimental del dominio II (PDB: 1P5P). Las estructuras obtenidas se usaron para hacer el acoplamiento entre proteína y ARN en el programa Haddock server.

Se obtuvo el modelo de las proteínas ribosómicas (S5 y S25) y de seis estructuras del dominio II que tienen variaciones en la secuencia; las estructuras KM275478 y KM275479 presentaron una distancia media cuadrática mínima de 4,29 Å, con mayor diferencia con la estructura KM275484 (distancia media cuadrática mínima=6,1 Å).

La simulación por acoplamiento evidenció interacciones que afectan el posicionamiento del dominio II sobre la subunidad ribosómica 40s. El modelo

computacional sugiere que las sustituciones que modifican los apareamientos en las estructuras del dominio II afectan su interacción con la subunidad ribosómica 40S.

Se requieren posteriores estudios experimentales para confirmar si estas sustituciones afectan las interacciones con el ribosoma y la traducción de la poliproteína.

..... ✕ .....

### C-079. Evidencia de circulación del virus de la hepatitis A, genotipo IA, en muestras ambientales en Antioquia

Paula A. Báez<sup>1</sup>, Carlos Mario Jaramillo<sup>1</sup>, Lina Arismendi<sup>2</sup>, Julio C. Rendón<sup>1</sup>, Fabián Cortés-Mancera<sup>1,3</sup>, Mónica Toro<sup>1</sup>, Dioselina Peláez<sup>4</sup>, María Mercedes González<sup>5</sup>, Francisco Molina<sup>2</sup>, María Cristina Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> GAIA, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GI<sup>2</sup>B, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

El virus de la hepatitis A (HAV) es un agente patógeno hepatotrofo que se transmite principalmente por vía fecal-oral. Colombia presenta un patrón de endemia intermedia para la infección por HAV.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de HAV en muestras del agua de abastecimiento de los acueductos y de aguas residuales de nueve municipios de cada subregión de Antioquia.

Entre diciembre de 2012 y mayo de 2013 se obtuvieron –antes del tratamiento– tres muestras seriadas de las fuentes principales de abastecimiento del acueducto y de los sitios de descarga de aguas residuales de cada municipio. Las muestras se concentraron mediante filtración y ultrafiltración tangencial (aguas de abastecimiento del acueducto) y mediante las técnicas de polietilenglicol y floculación con leche descremada (aguas residuales). Se extrajo el ARN viral y se amplificó mediante PCR con transcripción inversa la región VP3-VP1 para la detección y mediante PCR con transcripción inversa anidada la región VP1-2B para la genotipificación.

Durante el primer muestreo se detectó el genoma del HAV en el agua de cinco municipios: en

Frontino, en el corregimiento de Nutibara (quebrada La Golondrina) y en el municipio de Puerto Berrío (río Magdalena) en aguas de abastecimiento del acueducto, y en Arboletes, Zaragoza y Venecia en aguas residuales. Este hallazgo coincidió con el reporte de casos de hepatitis A al SiviGila durante el mismo periodo en cuatro de estos municipios. En el segundo muestreo, solo hubo una muestra positiva (aguas residuales de Frontino), lo que coincidió con el reporte de casos de hepatitis A en este municipio. Todos los especímenes del tercer muestreo fueron negativos en el análisis mediante PCR con transcripción inversa. Mediante el análisis de las secuencias (MEGA 5.2) se identificó el genotipo IA del HAV en cuatro muestras.

La presencia de HAV en las fuentes de abastecimiento de los acueductos implica un riesgo de infección para las comunidades en donde no hay planta de potabilización, como es el caso del corregimiento de Nutibara.

Se reportó por primera vez la circulación del genotipo IA/HAV en muestras ambientales en Antioquia.

..... ✕ .....

### C-080. Comparación del perfil proteico en dos líneas celulares con expresión transitoria de la proteína NS5A del virus de la hepatitis C

Esteban Velásquez<sup>1</sup>, María Fernanda Caicedo<sup>1</sup>, María Cristina Navas<sup>2</sup>, Wilson Ríos<sup>2</sup>, Johanna Pedroza<sup>1</sup>, Johanna Arroyave<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GI<sup>2</sup>B, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El virus de la hepatitis C (HCV) es un virus oncogénico que pertenece a la familia Flaviviridae. Uno de los mecanismos reportados para el desarrollo de cáncer involucra la proteína no estructural NS5A del HCV, la cual interactúa con otras proteínas celulares desregulando vías de señalización y procesos como la proliferación y la apoptosis. Sin embargo, existen pocos estudios *in vitro* que exploren el efecto dependiente de la NS5A en el perfil proteico de las células. Utilizando específicamente la metodología de electroforesis bidimensional es posible contribuir en la búsqueda de proteínas de interés que tengan un potencial como nuevos blancos terapéuticos.

El objetivo del estudio fue evaluar la expresión diferencial de proteínas en dos líneas celulares con expresión transitoria de la proteína NS5A del HCV.

Se indujo transitoriamente la expresión de la proteína NS5A del HCV en células HeLa y Huh7. Para este fin,  $1 \times 10^6$  células se sembraron en cajas de Petri y 24 horas después se transfectaron con 10  $\mu\text{g}$  de pTRACER-NS5A de HCV previamente generada a partir del clon JFH1. Como controles se incluyeron células transfectadas con pBI-GFP y células no transfectadas.

A las 48 horas de la transfección, las células se lisaron y se hizo la extracción de las proteínas en tampón de lisis CHAPS 4%/Urea 7M mediante ciclos de 'sonicación' y congelación en nitrógeno líquido, y posteriormente se cuantificaron mediante el método BCA y se sometieron a electroforesis SDS-Page.

Por último, se analizaron 50  $\mu\text{g}$  de proteína mediante electroforesis bidimensional (2D) utilizando el sistema ZOOM IPGRunner (Invitrogen). Los geles se analizaron con el programa ImageMaster 2D Platinum 7.0 (General Electric-Life Sciencie).

Se lograron estandarizar las condiciones de electroforesis bidimensional a partir de lisados celulares utilizando 50  $\mu\text{g}$  de proteína total.

Al analizar los resultados se espera encontrar la expresión diferencial de proteínas en las células con expresión transitoria de NS5A comparadas con los controles.

..... X .....

### **C-081. Diseño computacional de péptidos con posible actividad antiviral contra la proteína de cápside del virus de la hepatitis E**

Carolina Quintero-Gil<sup>1</sup>, Jaime Parra-Suescún<sup>2</sup>, Albeiro López-Herrera<sup>2</sup>, Sergio Orduz-Peralta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Ecología y Sistemática, Universidad Nacional, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Biodiversidad y Genética Molecular, BIOGEM, Universidad Nacional, Medellín, Colombia

El virus de la hepatitis E (HEV) se considera el principal agente etiológico causante de hepatitis agudas; la enfermedad que causa es de origen zoonótico. No existe actualmente una vacuna de distribución masiva ni tratamientos específicos contra esta afección, y los tratamientos con ribavirina e interferón 'pegilado' están contraindicados

en mujeres embarazadas y en pacientes con trasplantes, quienes representan la población de mayor riesgo; por lo tanto, la búsqueda de nuevos tratamientos efectivos sigue siendo una prioridad.

El estudio se propuso evaluar en un modelo computacional la interacción de péptidos antivirales y la proteína de cápside del HEV.

La estructura cristalizada de la proteína C del HEV, con resolución de 1,9 Å, se descargó de la base de datos PDB (código 3RKC). Posteriormente, se modelaron péptidos con posible actividad antiviral mediante I-TASSER con base en secuencias reportadas de bacteriocinas y secuencias con actividad antiviral conocida; por último, se analizó la interacción entre la proteína C y los péptidos candidato mediante acoplamiento usando el programa Autodock Vina, con el fin de seleccionar los péptidos con mayor potencial antiviral, es decir, aquellos que obtuvieran una mejor puntuación en una escala de 0 a -14 kcal/mol, siendo -14 kcal/mol el valor que representa la mejor energía de afinidad.

Se modelaron siete péptidos que mostraban una probabilidad mayor del 65 % de tener actividad antiviral (AVPpred); para el péptido 5 se obtuvo una energía de afinidad de -7,2 kcal/mol, por lo que representa el mejor candidato antiviral.

Se implementó la estrategia de búsqueda racional de medicamentos mediante el uso de métodos computacionales para un modelo viral de gran importancia. Las secuencias de péptidos serán mejoradas, sintetizadas y evaluadas en cultivos para determinar su eficacia.

..... X .....

### **C-082. Detección del genoma del virus de la hepatitis B en tejido hepático proveniente de pacientes con enfermedades hepáticas terminales, negativos para el marcador serológico HBsAg**

Alejandra Duque-Jaramillo<sup>1</sup>, Julio César Rendón-Londoño<sup>1</sup>, Fabián Cortés-Mancera<sup>1,2</sup>, Gonzalo Correa-Arango<sup>1,3</sup>, Juan Carlos Restrepo-Gutiérrez<sup>1,3</sup>, Sergio Iván Hoyos-Duque<sup>1,3</sup>, María Cristina Navas-Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo GI<sup>2</sup>B, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

La infección oculta por el virus de la hepatitis B (HBV) se define como la presencia del genoma

viral en muestras de suero o tejido hepático de individuos negativos para el antígeno de superficie (HBsAg). La infección oculta está asociada con el desarrollo de cirrosis y carcinoma hepatocelular. En Colombia, se han hecho algunos estudios, principalmente en pacientes con infección por HIV y en donantes de sangre.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia del genoma del HBV en muestras de tejido hepático provenientes de pacientes con enfermedades hepáticas sometidos a trasplante y negativos para el marcador serológico HBsAg.

Entre febrero de 2013 y marzo de 2014 se obtuvieron muestras de tejido hepático provenientes de pacientes que cumplían con los criterios de inclusión. Se detectó el genoma viral a partir del ADN extraído de las muestras mediante amplificación de tres regiones del genoma viral (S, Core y X). Se hizo *Southern blotting* a partir de los productos de amplificación de S y X con sondas específicas marcadas con digoxigenina. La infección oculta se definió al detectar, al menos, dos regiones del genoma viral. Las muestras positivas en la PCR de una sola región se confirmaron por PCR cuantitativa.

Se obtuvieron 16 muestras de tejido hepático; en 2/16 (12,5 %) se detectó el genoma del HBV mediante PCR anidada para la región S y PCR semianidada para la región X, resultado confirmado mediante *Southern blotting* y PCR cuantitativa. Estas muestras provenían de pacientes negativos para todos los marcadores serológicos de infección por HBV.

La frecuencia de la infección oculta por el HBV reportada en este estudio descriptivo (12,5 %) es similar a lo descrito en pacientes sometidos a trasplante en Brasil (17,6 %). Sin embargo, el tamaño limitado de la muestra no permite llegar a conclusiones con respecto a dicha infección en la población de estudio.

..... ✕ .....

### C-083. Diseño, construcción y evaluación de un control plasmídico en la detección y genotipificación del virus de la hepatitis C mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real

Daniela Arcos-Corredor<sup>1,2</sup>, Andrés Páez<sup>2</sup>, José A. Usme-Ciro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

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

El virus de la hepatitis C (HCV) es un importante agente causante de cirrosis y carcinoma hepatocelular. Más de 350.000 personas mueren cada año a causa del virus. El pronóstico y el esquema de tratamiento están directamente ligados al genotipo viral infectante.

El objetivo del estudio fue diseñar, construir y evaluar la utilidad de un control plasmídico en la detección del HCV mediante PCR con transcripción inversa convencional y genotipificación mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real.

Se hizo el diseño computacional mediante la inclusión de secuencias de la región 5'UTR del HCV. Se incluyeron sitios de hibridación de las sondas para los genotipos 1 al 4 y una región espaciadora proveniente de pBeloBAC11. El inserto se generó mediante dos pasos secuenciales de amplificación por PCR. El inserto se clonó en pJET1.2, y a continuación se hizo la transformación de DH5a de *Escherichia coli*. Las colonias recombinantes se verificaron mediante PCR y secuenciación. Para evaluar la funcionalidad, se utilizaron diluciones seriadas del plásmido de control en ensayos de detección y genotipificación del HCV mediante PCR con transcripción inversa convencional y en tiempo real. Los resultados de la genotipificación a partir de muestras clínicas se corroboraron mediante secuenciación.

El producto de la primera PCR se purificó y se utilizó como molde para la segunda. Tres colonias se confirmaron como recombinantes mediante la amplificación del inserto. Dos de los clones secuenciados presentaron la secuencia esperada. El producto de la amplificación fue de 327 pb, aproximadamente, el cual pudo distinguirse fácilmente del amplicón obtenido a partir de una muestra positiva (259 pb). Se pudo validar el correcto funcionamiento de las sondas para la



asignación de los genotipos 1 a 4 del HCV a partir de muestras clínicas mediante la utilización del plásmido como control positivo.

La utilidad del control plasmídico en la detección y genotipificación del HCV no solo permite la validación de los resultados negativos, sino también la identificación de la contaminación cruzada que puede llevar a la obtención de resultados falsos positivos.

..... ✕ .....

#### **C-084. Prevalencia de la infección concomitante por los virus B y D de la hepatitis en población de la zona bananera, Magdalena, Colombia, 2014**

Martha Escalante<sup>1</sup>, Dioselina Peláez<sup>1</sup>, Alejandro, Rossi<sup>2</sup>, Mancel Martínez<sup>2</sup>, Harold Cruz<sup>3</sup>, Ana Balaguera<sup>4</sup>, Angee López<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Subdirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Subdirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Epidemiología, Instituto del Corazón de Bucaramanga, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

La infección concomitante con el virus de la hepatitis B (HBV) y el de la hepatitis D (HDV) se relaciona con el riesgo de hepatitis fulminante. La infección puede presentarse de dos formas: 1) como infección concomitante, y 2) como sobreinfección, esta última más agresiva. Estas formas de infección son causa de morbilidad y mortalidad elevadas y altos costos económicos debido a sus complicaciones (falla hepática, cirrosis o hepatocarcinoma).

En la región amazónica del país y en la zona bananera del departamento de Magdalena se han documentado brotes de hepatitis fulminante, con una importante prevalencia de infección concomitante por los virus de las hepatitis B y D.

El estudio se propuso determinar la prevalencia de la infección concomitante por estos virus en muestras de suero de pacientes de la zona bananera reactivas en la prueba rápida de ELISA para AgHBs y positivas en la prueba de neutralización.

A partir del estudio "Prevalencia del virus de la hepatitis B en la zona bananera del Magdalena,

Colombia, 2014" llevado a cabo por el Instituto Nacional de Salud, se tomaron 32 muestras positivas para HBV de las 1.027 analizadas, y se las analizó mediante pruebas serológicas para la hepatitis D (anticuerpos IgM anti-D y anti-D totales) con pruebas rápidas de ELISA.

Treinta y dos muestras fueron positivas para HBV; de estas, dos presentaron infección concomitante con HBV y HDV, una procedente de la vereda Julio Zawady, con anticuerpos totales anti-D, y otra de Cerro Blanco, con anticuerpos anti-D totales e IgM, ambas veredas situadas en el corregimiento de Riofrío (zona bananera de Magdalena). Una muestra reactiva para AgHBs y para anticuerpos totales anti-D no pudo confirmarse debido a su volumen insuficiente. No se encontró infección concomitante en los corregimientos de Santa Rosalía y Gran Vía. En Varela se halló una muestra reactiva para AgHBs que no se confirmó debido a su volumen insuficiente. Las infecciones concomitantes se presentaron en mujeres de 48 a 66 años, ambas con compañero permanente y sin antecedentes de vacunación contra la hepatitis B. Una de ellas tenía antecedentes familiares de hepatitis. No se confirmó la positividad para AgHBs ni la infección concomitante con HBV y HDV en 13 de las muestras debido a su volumen insuficiente.

El estudio demostró una prevalencia de infección con HBV de 3,1 %, mientras la de la infección concomitante con HBV y HDV fue de 6,25 %. Puesto que esta infección concomitante es de importancia en salud pública, se debe fortalecer su vigilancia con estudios de seroprotección y prevalencia y adoptar medidas de promoción, prevención y control.

..... ✕ .....

#### **C-085. Seropositividad para anticuerpos anti-core totales y para el anti-antígeno de superficie del virus de la hepatitis B en la población de Varela, zona bananera del departamento de Magdalena, Colombia, 2014**

Martha Escalante<sup>1</sup>, Dioselina Peláez<sup>1</sup>, Harold Cruz<sup>2</sup>, Ana Balaguera<sup>3</sup>, Angee López<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Infecciones, Instituto del Corazón de Bucaramanga, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

En la infección por el virus de la hepatitis B (HBV) se reconocen tres sistemas antígeno-anticuerpo distintos que se relacionan con una diversidad de marcadores circulantes útiles en el diagnóstico. El anti-HBs es el anticuerpo específico contra el AgHBs y aparece en la mayoría de los individuos simultáneamente con la desaparición del AgHBs durante la fase de recuperación de la infección por el HBV y como respuesta a una vacunación exitosa. El anti-HBs indica la recuperación de la infección, así como no ser infecciosa y presencia de inmunidad. Los anticuerpos anti-HBc totales pueden detectarse en el suero de pacientes que padezcan hepatitis B aguda o crónica, o en pacientes curados.

Existen otros marcadores: el anti-HBcIgM, que se expresa predominantemente en la hepatitis aguda; el AgHBe, que indica replicación viral y contagiosidad, y el anti-Hbe, que evidencia su disminución.

El objetivo del estudio fue establecer la susceptibilidad a la infección por el HBV mediante la determinación de los anticuerpos anti-HBc totales y anti-HBs en pacientes con prueba serológica no reactiva para AgHBs.

Se analizaron 130 sueros con resultado no reactivo en la prueba rápida de ELISA para HBsAg, con el fin de detectar anticuerpos anti-HBc totales y anti-HBs mediante ELISA de fluorescencia azul.

El 55,38 % de la población no presentó anticuerpos anti-HBc totales ni anti-HBs; El 16,9 % fue reactivo para anti-HBc totales y anti-HBs; el 10 % de las muestras no presentó reacción frente al anti-HBc total, pero fue positivo para anticuerpos anti-AgHBs; el 11,5 % fue reactivo para anti-HBc total con anti-HBs negativo y el 6,3 % no presentó reacción al anti-HBc total, en tanto que tuvo un resultado indeterminado para anti-HBs.

Más del 55 % de la población estudiada fue susceptible a la infección por el HBV. El 45 % restante estaba conformado por población con infección resuelta, población con infección pasada, personas sin anticuerpos protectores y población sin evidencia de infección y con anticuerpos protectores.

Se sugiere fortalecer las acciones de promoción, prevención y control de la infección por HBV y determinar los anticuerpos anti-HBs nuevamente en la población con reactividad al anti-HBc total, pero con anti-HBs negativo.

..... ✕ .....

### **C-086. Determinación de anticuerpos totales frente al virus de la hepatitis A en menores de 10 años del departamento de Magdalena, Colombia, 2014**

Martha Escalante<sup>1</sup>, Dioselina Peláez<sup>1</sup>, Harold Cruz<sup>2</sup>, Ana Balaguera<sup>3</sup>, Angee López<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Referente de Infecciones, Instituto del Corazón de Bucaramanga, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

El virus de la hepatitis A (HAV) se transmite por vía oro-fecal mediante el consumo de agua o alimentos contaminados con heces y se asocia con condiciones ambientales deficientes, con el hacinamiento y la aparición de brotes y epidemias. La infección por el virus de la hepatitis A es de resolución espontánea, aunque se dan casos aislados con falla hepática y otros que desembocan en la muerte. La detección de anticuerpos anti-HAV de tipo IgM denota una infección aguda, mientras que la de anticuerpos de tipo IgG implica exposición previa, inmunidad asociada con la vacunación y no contagiosidad.

El estudio se propuso determinar los individuos seropositivos para anticuerpos totales anti-HAV del virus de la hepatitis A en menores de 10 años de la zona bananera del departamento de Magdalena, Colombia.

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal con una muestra de 66 sueros de menores de 10 años procedentes de los corregimientos de Riofrío (Julio Zawady y Cerro Blanco), Gran Vía y Santa Rosalía de la zona bananera de Magdalena. Se analizaron los anticuerpos totales anti-HAV mediante ELISA de fluorescencia azul en el Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud.

El 75,7 % de los sueros fueron positivos para anticuerpos totales anti-HAV, con una concentración de anticuerpos superior a 20 mUI/ml. El 24,3 % fue negativo, con una concentración inferior a 15 mUI/ml, lo que indica susceptibilidad a la infección; de esta proporción, el 4,5 % (n=3) correspondía a niños entre 1 y 3 años de edad.

La elevada proporción de resultados positivos para anticuerpos totales anti-HAV en la población de estudio evidenció seroconversión frente al HAV relacionada con la inmunidad debida a la

vacunación o a la exposición previa a la infección por el virus. Tres de los casos con susceptibilidad correspondían a pacientes con edades entre 1 y 3 años, lo que llama la atención, ya que la vacuna contra el HAV (en el primer año de vida) está incluida en el Plan Ampliado de Inmunizaciones desde enero del 2013.

..... ✕ .....

### **C-087. Resultados seropositivos al virus de la hepatitis B en la zona bananera del Magdalena, Colombia, 2014**

Martha Escalante<sup>1</sup>, Dioselina Peláez<sup>1</sup>, Alejandro Rossi<sup>1</sup>, Máncel Martínez<sup>1</sup>, Harold Cruz<sup>2</sup>, Ana Balaguera<sup>3</sup>, Angee López<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Referente de Infecciones, Instituto del Corazón, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

La hepatitis B es una enfermedad transmisible causada por el virus de la hepatitis B (HBV), perteneciente a la familia Hepadnaviridae. La enfermedad origina un proceso agudo o crónico que puede llevar a la muerte o al desarrollo de carcinoma hepatocelular o insuficiencia hepática crónica.

En los estudios de serología del virus se evidencia la presencia del antígeno de superficie (HBsAg) del HBV en la fase aguda y de IgM anti-HBc en la fase crónica; el antígeno HBsAg, así como el Hbc total, persisten durante más de seis meses.

Colombia se considera como un país con endemia baja. Sin embargo, en la zona bananera del departamento del Magdalena se reportó el 20 % de positivos para HBsAg durante un brote de hepatitis fulminante en 1981. En 1991 (antes de la introducción de la vacuna), se determinó una prevalencia de portadores de 4,7 % y en el 2008 una de 5,66 % en San José del Guaviare, lo que sitúa al país como uno de endemia intermedia con gran variabilidad entre sus regiones.

El objetivo del estudio fue establecer la proporción de positivos al HBV en sueros de habitantes de la zona bananera del Magdalena recolectados durante el primer semestre del 2014.

Se analizaron 1.027 sueros de pacientes de seis poblaciones de la zona bananera del Magdalena para detectar HBsAg mediante la prueba rápida de

ELISA. Las muestras reactivas o indeterminadas para HBsAg se analizaron mediante ELISA de fluorescencia azul y se confirmaron por neutralización. Las muestras positivas para HBV se analizaron también para anti-HBc total e IgM de HBc.

El 3,21 % de las muestras fue positivo para HBsAg en pacientes con una edad promedio de  $40,7 \pm 15,37$  años ( $IC_{95\%}$  35,25-46,15); el lugar con la mayor distribución fue Santa Rosalía con 48 %, seguido de Julio Zawady con 27 %, en tanto que el 25 % restante se distribuyó entre Varela, Gran Vía y Cerro Blanco. No hubo casos provenientes del Hospital San Cristóbal de Ciénaga; 13 muestras fueron reactivas para HBsAg sin que esto se pudiera confirmar debido al volumen insuficiente. Un suero fue reactivo para IgM anti-HBc, con lo que se confirmó un caso agudo de infección por HBV.

Los resultados seropositivos hallados permiten recomendar la vigilancia de la infección por el HBV en esta población. Las muestras sin confirmar podrían aumentar los seropositivos.

..... ✕ .....

### **C-088. Caracterización del proteoma de las células Hela Tet-Off con expresión inducible de la proteína NS5A del virus GB del tipo C**

María Fernanda Caicedo<sup>1</sup>, Esteban Velásquez<sup>1</sup>, María Cristina Navas<sup>2</sup>, Johanna Pedroza<sup>1</sup>, Johanna C. Arroyave<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de investigación e Innovación Biomédica, GI<sup>2</sup>B, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El virus GB, tipo C (GBV-C), pertenece a la familia Flaviviridae y está filogenéticamente relacionado con el virus de la hepatitis C (HCV). Hasta la fecha se considera al GBV-C un virus no patógeno, sin embargo, se ha reportado que podría ser un factor de riesgo para el desarrollo del linfoma Hodgkin y no Hodgkin, lo cual sugiere que tiene potencial oncogénico.

Con base en la homología estructural entre las proteínas NS5A del HCV y el GBV-C, es posible plantear que las primeras comparten funciones relacionadas con la capacidad de regular la expresión de proteínas que intervienen en procesos como la proliferación celular y la apoptosis. Actualmente, se desconoce el efecto biológico

de la proteína NS5A del GBV-C y no existen estudios que demuestren su capacidad de regular la expresión proteica.

El objetivo del estudio fue caracterizar el perfil proteico de las células Hela Tet Off con expresión inducible de la proteína NS5A del GBV-C.

Para los experimentos se sembraron aproximadamente  $1 \times 10^6$  células Hela Tet Off en cajas de Petri y 24 horas después se transfectaron transitoriamente 10  $\mu\text{g}$  de pTRE-Tight NS5A del GBV-C en presencia (1  $\mu\text{g}/\text{ul}$ ) y ausencia de doxiciclina; como control se incluyeron células no transfectadas. A las 48 horas de la transfección se obtuvieron lisados celulares y las proteínas se extrajeron en tampón de lisis CHAPS 4%/Urea 7M y se cuantificaron con el método de BCA. Se evaluó la integridad mediante electroforesis SDS-Page. Con 50  $\mu\text{g}$  de proteína se hizo electroforesis bidimensional utilizando el sistema ZOOM IPGRRunner (Invitrogen). El análisis de los spots se hará en el programa Image Master Platinum 7.0

En las células transfectadas con pTRE-TightNS5A del GBV-C se espera encontrar la expresión diferencial de las proteínas en comparación con los controles.

Este trabajo permitirá identificar proteínas y su potencial relación con los procesos de proliferación celular y apoptosis.

..... X .....

### C-118. Transfection efficiency of conventional DNA vectors expressing hepatitis C virus proteins in rat primary hepatocytes and the Huh7 cell line

Wilson Alfredo Ríos-Ocampo<sup>1,2</sup>, Han Moshage<sup>2</sup>, Toos Daemen<sup>3</sup>, Nico Faber-Klaas<sup>3</sup>, Diana di Filippo<sup>1</sup>, María-Cristina Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> MDL Group, Gastroenterology and Hepatology Department, University of Groningen, The Netherlands

<sup>3</sup> Virology and Immunology Group, Medical Microbiology Department, University of Groningen, The Netherlands

The hepatitis C virus (HCV) replication and viral protein expression induce oxidative stress and an inflammatory response that, in the long term, may lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, the mechanisms related to these infection-induced dysfunctions are not fully understood and contradictory results have been reported.

In the present study we evaluated molecular mechanisms related with cell death, oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in rat primary hepatocytes and hepatocyte cell lines expressing hepatitis C virus proteins (Core and NS3/NS4A and NS5A). The mechanisms were evaluated for HCV proteins expression and oxidative stress induced by menadione.

The HCV clone JFH1 strain, genotype 2a (obtained from T. Wakita) was used for the construction of the Core, NS3/4A and NS5A vectors. The sequences were inserted into pTracer<sup>TM</sup>-EF (Invitrogen). The vectors (Core, NS3/4A and NS5A) were confirmed by sequencing. The optimal transfection conditions were established using lipofectamine 3000 (Invitrogen) and pTracer<sup>TM</sup>-EF; 1:2 and 1:4 DNA:Lipofectamine ratios were used for Huh7 cells and primary hepatocytes, respectively. The transfection efficiency was determined by flow cytometry detection of GFP expression 24 hours post-transfection; 35 % of transfected Huh7 cells and 17 % of primary hepatocytes were GFP-positive. The transfection assays using the vectors pTracer<sup>TM</sup>-EF-Core and pTracer<sup>TM</sup>-EF-NS3/4A were performed in the same conditions; the transfection efficiency of these assays was similar to the one found when using the empty vector. The expression of Core and NS3/4A was confirmed by Western blot 24 and 48 post-transfection. HCV proteins expression was obtained in primary hepatocytes and Huh7 cells. Apoptosis assays of cells with HCV proteins expression in the presence of Menadione are in progress. Stress and apoptosis evaluation in both primary hepatocytes and the hepatoma cell line could be the best model for understanding HCV pathogenesis in liver injuries.

..... X .....

### C-119. Identificación de sitios de integración del genoma del virus de la hepatitis B en casos de infección oculta

Julio-Cesar Rendón<sup>1</sup>, Fabián Cortés-Mancera<sup>1,2</sup>, Marcela Gaviria<sup>1</sup>, Juan Carlos Restrepo<sup>1,3</sup>, Gonzalo Correa<sup>1</sup>, Sergio Hoyos<sup>1,3</sup>, María-Cristina Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación e Innovación Biomédica, GIIB, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia



Se ha demostrado que algunas secuencias del genoma del virus de la hepatitis B se encuentran integradas en el genoma celular de manera aleatoria; el mecanismo que permite la integración de estas secuencias aún no se ha dilucidado totalmente. Esta estrategia se considera un mecanismo oncogénico y también podría ser una estrategia de patogenia en la infección oculta por el virus de la hepatitis B.

El objetivo del estudio fue identificar eventos de integración del genoma del virus de la hepatitis B en casos de infección oculta.

A partir de 63 muestras de tejido hepático de pacientes sometidos a trasplante y con resultados negativos para el marcador de antígeno de superficie, se identificaron seis casos de infección oculta por el virus de la hepatitis B. Estos casos se evaluaron para detectar eventos de integración de secuencias virales usando la técnica Alu-PCR, seguida de detección mediante *Southern blot*. Las

secuencias obtenidas se analizaron y se identificó el sitio de integración en el genoma celular.

La integración del genoma del virus de la hepatitis B se demostró en dos de las muestras evaluadas. En una de ellas, la integración se identificó en el gen de la isoforma 1 del receptor del tipo de la tirosina fosfatasa (cromosoma 20q12). En la otra muestra, el evento de integración se demostró en el gen de la proteína *dedo de cinc* 263 y en el gen del factor 2 liberador de nucleótidos de guanina específico para proteínas ras (*Ras protein-specific guanine nucleotide-releasing factor 2*) (cromosomas 16p13,5 y 5q14,2, respectivamente).

Se identificaron dos eventos de integración en dos de las seis muestras de tejido hepático proveniente de pacientes con enfermedades hepáticas terminales. La integración de las secuencias virales no puede explicar completamente el desarrollo de la infección oculta por el virus de la hepatitis B, aunque sí es una señal de la infección viral.



## VIRUS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS

### C-093. Evaluación del rotavirus Wt1-5 como virus oncolítico en cultivos primarios de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B

Rafael Guerrero<sup>1</sup>, Carlos Guerrero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Biología Molecular de Virus, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Biología Molecular de Virus, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Para el tratamiento del cáncer se han diseñado, entre otras, nuevas metodologías basadas en los ARN de interferencia, los micro-ARN, así como nuevos fármacos quimioterapéuticos y virus oncolíticos. Estos últimos son virus con capacidad de destruir o disminuir selectivamente la viabilidad de células tumorales. Para el diseño y uso de agentes virales es necesario, en primer lugar, desarrollar estudios en modelos *in vitro* que determinen las características diferenciales de replicación del virus en el tejido neoplásico.

El objetivo del estudio fue evaluar el potencial oncolítico del aislamiento del rotavirus Wt1-5 en

muestras de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B.

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes diagnosticados con leucemia mieloide aguda de precursores B. Se purificaron y recuperaron las células blásticas, las cuales se inocularon con el rotavirus oncolítico Wt1-5, y se evaluó la susceptibilidad a la infección mediante citometría de flujo. Se determinó la viabilidad celular con azul tripano y resazurina. Se evaluó la citotoxicidad con DiOC6 y 7-AAD, y se determinó la expresión de algunas proteínas asociadas con la progresión tumoral mediante citometría de flujo.

El análisis de los resultados reveló que las células blásticas son susceptibles a la infección por el rotavirus oncolítico Wt1-5 en proporción diferente en cada paciente; se encontraron antígenos virales a partir de las 8 horas de la infección. En algunas muestras se observó una disminución de la viabilidad celular desde las 12 horas de la infección.

El rotavirus Wt1-5 generó efectos citotóxicos sobre los linfoblastos de forma heterogénea. Se observó que el porcentaje de células positivas para DiOC6, 7-AAD se incrementó en las células infectadas.

Al analizar la expresión de las proteínas celulares Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, Hsc70, integrina  $\alpha\beta3$  y PDI, todas relacionadas con un peor pronóstico, se encontró una mayor expresión en los linfoblastos.

El rotavirus Wt1-5 infectó y disminuyó la viabilidad de forma heterogénea en los linfoblastos de pacientes con leucemia.

..... ✕ .....

#### **C-094. Interacción de las proteínas Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp40 con las proteínas Hsc70, PDI y la integrina $\beta3$ y con rotavirus en la membrana citoplasmática de células tumorales**

José Rico<sup>1</sup>, Carlos A. Guerrero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Los rotavirus, causantes de la gastroenteritis infantil, son virus ARN de doble cadena cubiertos por tres capas concéntricas de proteínas. Como moléculas receptoras se han propuesto el ácido siálico en glucoconjugados, las integrinas  $\alpha2\beta1$ ,  $\alpha\beta2$ ,  $\alpha\beta3$ ,  $\alpha4\beta1$ , la proteína Hsc70 y la proteína PDI. En nuestro laboratorio se está investigando si los rotavirus WWM, TRUY, Wt1-5, O-ECwt y WTEW (generados en el laboratorio), pueden utilizarse como virus oncolíticos. En investigaciones previas se ha sugerido que estos rotavirus interactúan con las proteínas de choque térmico (HSP) de diferentes líneas tumorales. La evidencia indirecta obtenida al bloquear las HSP de la membrana citoplasmática demuestra que estas pueden jugar un papel en la entrada del rotavirus a las líneas celulares MFC7, REH, U937.

El objetivo de este estudio fue evaluar la interacción entre las proteínas Hsp90, HSP70, Hsp60 y Hsp40, Hsc70, PDI y  $\beta3$  en las líneas celulares MFC7, REH, U937, y de estas con las proteínas del rotavirus.

Para evaluar la interacción entre las proteínas celulares, primero se obtuvieron fracciones enriquecidas de membrana citoplasmática; luego se solubilizaron con detergentes y se analizó la 'coimmunoprecipitación' mediante ELISA de captura, y los microdominios lipídicos (balsas lipídicas) se evaluaron mediante gradiente de sacarosa. Para

evaluar la interacción entre las proteínas celulares y el rotavirus, las células íntegras se incubaron con Ac F(ab')<sub>2</sub> y luego se agregó el rotavirus, se lavó y la interacción se evaluó mediante ELISA de captura.

Se encontró que en las líneas celulares MFC7, REH, U937, las proteínas Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, Hsc70, PDI y la integrina  $\beta3$  forman complejos de péptidos en balsas lipídicas, y que las proteínas celulares estudiadas "coimmunoprecipitan" con antígenos del rotavirus. La incubación de las células con anticuerpos específicos anti-HSP, PDI o  $\beta3$  disminuyó el rotavirus unido a la membrana.

Las HSP de la membrana citoplasmática de las células MFC7, REH, U937 formaron un complejo de péptidos en balsa y se unieron con el rotavirus durante las etapas iniciales de la infección.

..... ✕ .....

#### **C-095. El rotavirus WTEW, candidato a virus oncolítico, induce muerte celular en líneas tumorales U937 y REH**

Catalina Castaño, Carlos Guerrero, Orlando Acosta

Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

En la actualidad, el cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, por lo cual se buscan nuevas alternativas de tratamiento. Se han investigado algunos virus que infectan células tumorales selectivamente y disminuyen su viabilidad y que han sido modificados con diferentes estrategias para aumentar su capacidad de infectar, replicar y destruir solo células tumorales. En investigaciones previas del Laboratorio de Biología Molecular de Virus de la Universidad Nacional de Colombia se ha reportado que cinco cepas de rotavirus aisladas en el laboratorio infectaban y lisaban la línea Sp20/Ag-14, lo que sugiere la posibilidad de que sean virus oncolíticos.

El objetivo de este estudio fue determinar los marcadores de muerte celular y producción de especies reactivas de oxígeno en las líneas U937 (linfoma histiocítico) y REH (leucemia linfocítica aguda) infectadas con el rotavirus WTEW.

Las líneas U937 y REH se infectaron con rotavirus WTEW; se evaluó el porcentaje de infección, la generación de viriones, la expresión de las proteínas celulares IKB, COXII, NFKB, PPAR $\gamma$ , HSP90 y PDI, la fragmentación y las rupturas del

ADN, la alteración de la membrana celular, y el potencial de la membrana mitocondrial. Igualmente, se evaluó la generación de especies reactivas de oxígeno mediante dihidroetidio.

Las líneas U937 y REH se infectaron y se generaron viriones. El porcentaje de células con fragmentación del ADN aumentó con la infección, al igual que los niveles de TUNEL y PARP, lo que indica la ocurrencia de rupturas en el ADN y sugiere la posibilidad de que el rotavirus active señales de muerte celular.

Los niveles de especies reactivas de oxígeno aumentaron en las células infectadas, y la adición previa de NAC a la infección disminuyó los niveles de especies reactivas de oxígeno y de infección. Los niveles de las proteínas IKB, COXII, NFKB $\beta$  disminuyeron en presencia de NAC, y la PPAR $\gamma$  permaneció constante en REH y disminuyó en U937, HSP90 y PDI.

La infección con el rotavirus WTEW de las líneas tumorales U937 y REH induce marcadores de muerte celular relacionados con apoptosis y necrosis.

..... X .....

## VIRUS ZONÓTICOS

### C-017. Rabia en humanos: análisis epidemiológico descriptivo de las variables de tiempo, persona y lugar, 2004-2014

Orlando Hernández<sup>1</sup>, Natalia Cediel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

La rabia es una zoonosis fatal de origen viral. En Colombia, ha sido la enfermedad zoonótica de mayor importancia en salud pública y el programa para su control a nivel nacional tiene un presupuesto significativo destinado a la vacunación de perros, gatos y humanos, así como al suero antirrábico para uso en humanos.

El objetivo de este estudio fue explorar y describir las variables asociadas a la ocurrencia de la rabia humana en Colombia.

Se tomaron los casos de rabia humana (33 confirmados) reportados al Instituto Nacional de Salud entre el 2004 y el 2014 en todo el país. Se hizo un análisis epidemiológico descriptivo con las variables de tiempo, persona y lugar.

En los años 2004 y 2005, el mayor número de casos (17) se presentó en el Bajo Baudó, Chocó, y correspondió al 52 % de los casos confirmados en los últimos 10 años. En el 58 % de los casos el animal agresor fue el murciélago. La población más afectada fue la de personas menores de 20 años, con una mortalidad de 81 %. El 61 % de la población era de sexo masculino. El tipo de agresión más común fue el ataque múltiple, con el 58 % de los casos; en el 61 % de los casos no se

estableció el nivel de profundidad del ataque y el 79 % de los casos fue por mordedura. La mayoría de los casos (61 %) ocurrió en área rural dispersa. El lugar anatómico con el mayor número de ataques fue el área de la cara, la cabeza y el cuello, con el 35 % de los casos, seguido de miembro inferior, con el 24 %.

Los resultados permiten concluir que las comunidades vulnerables son las más afectadas debido a las condiciones de vivienda, los hábitos, la poca disponibilidad de servicios de salud, la educación, el desconocimiento de los aspectos de prevención y la deficiencia de los planes de vacunación en lugares de alto riesgo.

..... X .....

### C-039. Efecto de la infección con el virus de la rabia en el marcador de poblaciones neuronales NeuN en la médula espinal de ratones

Gerardo Santamaría, Jeison Monroy-Gómez, Orlando Torres-Fernández

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

El virus de la rabia es un virus neuronotrópico y la proteína nuclear neuronal (NeuN) se expresa casi exclusivamente en neuronas, por lo tanto, es un excelente marcador para estudiar selectivamente las neuronas, distinguiéndolas fácilmente de otro tipo de células del tejido nervioso.

El objetivo del estudio fue determinar el efecto de la infección con el virus de la rabia en las

neuronas inmunorreactivas a la proteína NeuN de la médula espinal.

Se inocularon cinco ratones con el virus de la rabia tipo 'calle' por vía intramuscular en las extremidades posteriores. Otros cinco animales se inocularon con la solución vehículo, desprovista del virus (controles). Cuando los ratones inoculados manifestaron síntomas avanzados de la enfermedad, todos los animales fueron anestesiados y sometidos a fijación por perfusión intracardiaca con paraformaldehído al 4 %. Se extrajeron las médulas espinales, se incluyeron en agar y se cortaron en un vibrátomo para obtener rodajas transversales de 50 micrómetros de espesor. Estas se procesaron para el análisis inmunohistoquímico utilizando un anticuerpo monoclonal anti-NeuN en dilución de 1:2.500. Se contaron las neuronas inmunorreactivas a la proteína dentro de la sustancia gris y se hizo el análisis cuantitativo para evaluar el efecto de la infección en la población de neuronas NeuN+.

Tanto en los controles como en los animales infectados se observó una gran cantidad de neuronas marcadas para NeuN, aproximadamente, 1.200 células en un plano transversal completo de la sustancia gris a nivel de la médula cervical. Aunque se observó una tendencia a la disminución en el número de neuronas NeuN+ en los animales infectados, la diferencia no fue estadísticamente significativa. La muerte neuronal en la médula espinal no parece ser un componente importante de la patogénesis de la rabia, probablemente por la necesidad de mantener la integridad neuronal para garantizar la diseminación del virus hasta el encéfalo.

..... ✕ .....

#### **C-040. La inmunomicroscopía electrónica para el diagnóstico de la rabia en tejido sometido a degeneración post mórtem**

Jeison Monroy-Gómez, Ladys E. Sarmiento, Orlando Torres-Fernández

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

Para el diagnóstico inmunohistoquímico post mórtem de la rabia es necesario fijar oportunamente el tejido nervioso en formaldehído. No obstante, puede ocurrir que, por diferentes motivos, los cerebros de individuos muertos (humanos o animales) permanezcan muchas horas sin fijación.

Esto provoca una disminución notable de la capacidad de inmunorreacción. La combinación de la inmunohistoquímica con la microscopía electrónica aumenta la sensibilidad para la localización ultraestructural de antígenos.

El objetivo de este estudio fue evaluar con el microscopio electrónico la inmunorreacción a los antígenos del virus de la rabia en tejido cerebral de ratones en diferentes tiempos post mórtem.

Se inocularon ratones con virus de rabia y cuando mostraron signos avanzados de la enfermedad se sacrificaron en cámara de CO<sub>2</sub> y se dejaron a temperatura ambiente (20 °C). Cada seis horas (0, 6, 12, 18, 24 y 30 horas) se extrajeron dos cerebros y se sumergieron en una solución de formaldehído al 10 % durante 12 horas. Luego se hicieron cortes coronales de los cerebros de 150 micrómetros de espesor utilizando un vibrátomo; dichos cortes se procesaron para el análisis inmunohistoquímico de la rabia. A continuación, estos mismos cortes se procesaron para microscopía electrónica. También se procesaron algunos de los cortes para microscopía electrónica sin tratamiento inmunohistoquímico previo.

La inmunomicroscopía electrónica reveló la presencia de antígenos de origen rábico hasta las 30 horas post mórtem, incluidos cuerpos de Negri bien demarcados. Se observaron partículas virales intactas hasta las 18 horas post mórtem. Fue dispendioso localizar partículas virales y cuerpos de Negri hasta las 18 horas en los tejidos que no se sometieron a la reacción inmunohistoquímica; a partir de las 24 horas apenas se distinguían restos de tejido desintegrado.

En el modelo de ratón se preservó durante más tiempo la inmunorreacción al virus de la rabia detectada por microscopía electrónica que la presencia de partículas virales intactas. Esta información es importante para el diagnóstico post mórtem.

..... ✕ .....

#### **C-041. Expresión de la calbindina en células de Purkinje del cerebelo de ratones infectados con rabia**

Julián Ricardo Naizaque, Orlando Torres-Fernández

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

La calbindina es una proteína de unión a calcio que se encuentra en diferentes tipos de neuronas; su concentración es particularmente elevada en



las células de Purkinje del cerebelo. En estudios anteriores se ha demostrado la pérdida de esta proteína en diferentes áreas del sistema nervioso de ratones inoculados con el virus de la rabia: la corteza cerebral, los núcleos basales, el hipocampo y la médula espinal.

El objetivo del estudio fue determinar el efecto del virus de la rabia sobre la expresión de la calbindina en células de Purkinje del cerebelo de ratones. Se inocularon cinco ratones ICR con virus 'fijo' de la rabia por vía intramuscular en las extremidades posteriores. Cuando los animales manifestaron síntomas avanzados de la enfermedad, se anestesiaron y se fijaron mediante perfusión intracardiaca con paraformaldehído al 4 %. Se les extrajo el cerebelo y se hicieron cortes sagitales de 50 micrómetros de espesor en un vibrátomo. Estos se recogieron en secuencias alternas y se procesaron mediante inmunohistoquímica para revelar la presencia de antígeno rábico o calbindina. El mismo procedimiento se llevó a cabo con cinco animales no infectados con el virus (controles).

Inicialmente se confirmó la presencia de antígenos virales en las células de Purkinje de los ratones infectados. En las imágenes panorámicas observadas con el microscopio se comprobó que solo las células de Purkinje fueron inmunorreactivas a la calbindina. La inmunotinción fue muy evidente en el soma y en el árbol dendrítico. Con la evaluación mediante densitometría óptica no se hallaron diferencias en la inmunorreactividad de la calbindina entre los animales infectados y los controles. Tampoco se hallaron cambios en el número de células de Purkinje positivas para la calbindina. A diferencia de lo que se ha demostrado en otras áreas del sistema nervioso del ratón, la expresión de la calbindina en las células de Purkinje del cerebelo parece no verse afectada por la infección con rabia.

..... ✕ .....

#### **C-042. Análisis geográfico de los focos de rabia silvestre y zonas de riesgo epidemiológico en el departamento de Nariño**

Carlos Velázquez<sup>1</sup>, Darío Vallejo<sup>1</sup>, Janeth Benavides<sup>1</sup>, Juan Serrano†<sup>2</sup>, Leandro Ordóñez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria, MIFARVET, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia

<sup>2</sup> Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Pasto, Colombia

<sup>3</sup> Consultorio privado, Pasto, Colombia

A medida que la rabia urbana disminuye en Colombia y en el mundo, cobra mayor importancia la rabia silvestre. El departamento de Nariño posee zonas geográficas aptas para el transmisor del virus rábico y esto se suma a un aumento en la población animal susceptible, lo que constituye un grave problema de salud pública.

Este estudio se propuso analizar geográficamente los focos de rabia silvestre en el departamento de Nariño y determinar las zonas de riesgo epidemiológico.

Se hizo un estudio retrospectivo de tipo descriptivo. Se analizaron los casos de rabia silvestre confirmados por histopatología e inmunofluorescencia directa en el Instituto Colombiano Agropecuario entre 1997 y 2008. Las variables analizadas fueron: la localización geográfica, el número de focos, la distancia entre focos, la distancia entre focos y fuentes hídricas, el trayecto de la circulación viral y la altitud.

Se encontraron 17 focos ubicados en siete municipios, de los cuales los más afectados correspondieron a Colón (Génova) con 35,4 % y Buesaco con 23,5 %. El 100% de los focos se localizó a distancias menores a los 5 km del cañón de los ríos Juanambú, Mayo y Guátara. Se determinaron las zonas de riesgo alto en los municipios de Colón y Buesaco y de riesgo medio en los municipios de Ancyú, Arboleda, El Tablón, Linares y La Unión.

El comportamiento epidemiológico de la rabia silvestre en Nariño durante el periodo de estudio (1997-2008) presentó un aumento sostenido. Todos los focos se localizaron a distancias menores de 2 km entre el foco y las principales fuentes hidrográficas.

..... ✕ .....

#### **C-043. Técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico y la vigilancia de los virus de la rabia en Colombia**

Martha Gracia, Felipe Acero, Katherine Laiton, José Usme, Andrés Páez

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

La rabia es una zoonosis viral que se transmite entre mamíferos por agresiones o contacto con individuos infectados. El virus infecta el sistema

nervioso central y causa la muerte en todos los casos. Se transmite en dos ciclos epidemiológicos: el urbano, con el perro como transmisor, y el silvestre, con diversas especies silvestres como transmisores. Las personas pueden ser víctimas accidentales de la infección con virus originarios de cualquiera de estos ciclos. El diagnóstico de la rabia en animales y humanos se hace mediante el estudio de los antecedentes de contacto o agresión de animales transmisores, la aparición de los síntomas de la rabia y las pruebas de laboratorio.

Este estudio se propuso describir las técnicas de laboratorio utilizadas en Colombia para el diagnóstico y vigilancia por laboratorio de la rabia.

La detección de anticuerpos antirrábicos en suero o líquido cefalorraquídeo se hace mediante ELISA. La detección del antígeno rábico se hace mediante inmunofluorescencia directa en material encefálico utilizando anticuerpos policlonales, cuyos resultados se confirman mediante una prueba biológica en ratones. Los virus aislados se tipifican

antigénicamente mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales y genéticamente mediante PCR con transcripción inversa y secuenciación del gen de la nucleoproteína.

Frecuentemente, la detección de anticuerpos antirrábicos resulta en falsos negativos. La inmunofluorescencia directa presenta una concordancia superior al 99,9 % con respecto a la prueba biológica confirmatoria. Las técnicas de tipificación viral antigénica y genética tienen una sensibilidad y especificidad del 100 % para los virus de la rabia.

La inmunofluorescencia directa combinada con la prueba biológica siguen siendo las pruebas de referencia para el diagnóstico y la vigilancia de la rabia por laboratorio. Las técnicas de tipificación viral son de vital importancia para elucidar dinámicas de transmisión de la rabia en la geografía y entre especies, lo que las convierte en herramientas de apoyo a la toma de decisiones relativas al control y la eliminación.

..... X .....

## VIRUS ANIMALES

### C-011. Coronavirus en animales porcinos: importancia y presentación del virus de la diarrea epidémica porcina en Colombia

Ricardo Piñeros<sup>1,2</sup>, José Darío Mogollón<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Medicina y Sanidad Animal, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Corporación de Patología Veterinaria, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

El objetivo del presente artículo fue dar a conocer algunos aspectos generales de los coronavirus en animales porcinos, la forma en que se presentan en Colombia, y la forma específica del virus de la diarrea epidémica porcina.

Los coronavirus porcinos tienen como origen ancestral coronavirus provenientes de murciélagos y aves, los cuales están agrupados dentro del orden Nidovirales, que incluye la familia Coronaviridae y dos subfamilias: la Coronavirinae y la Torovirinae.

Los coronavirus que afectan la especie porcina son principalmente el virus de la gastroenteritis

transmisible porcina, el coronavirus respiratorio porcino, el virus de la encefalomiélitis hemaglutinante porcina, el virus de la diarrea epidémica porcina y el deltacoronavirus porcino. Este último fue descrito en el 2014 en los Estados Unidos América. Actualmente, se sabe que el virus de la diarrea epidémica porcina fue reconocido por primera vez en el Reino Unido en 1971 y en la última década se ha reportado en Europa, Asia, Estados Unidos, Centroamérica y Suramérica como causante de brotes en cerdos, caracterizados por síntomas como el vómito y la diarrea, así como por la alta mortalidad en animales jóvenes.

En Colombia, se han tenido reportes anteriores del virus de la gastroenteritis transmisible porcina y el coronavirus respiratorio porcino asociados con la importación de animales provenientes de Estados Unidos, los cuales se controlaron en las granjas infectadas y en las unidades de cuarentena.

El virus de la diarrea epidémica porcina se detectó por primera vez en Colombia a mediados de marzo del 2014, frente a lo cual el Instituto Colombiano Agropecuario expidió la alerta sanitaria debido a la presentación inusual de un cuadro epidémico

de vómito y diarrea en animales jóvenes y adultos, aborto en cerdas gestantes, y altas tasas de mortalidad (hasta de 100 %) en animales de una semana de edad.

..... X .....

### **C-012. Avances en el diagnóstico molecular del moquillo y la parvovirus caninas en Colombia**

Paola Barato<sup>1</sup>, Ricardo Piñeros<sup>2</sup>, César Díaz<sup>1</sup>, Carlos Venegas<sup>1</sup>, Henry Benavides<sup>3</sup>, Felipe Pérez-Benavides<sup>3</sup>, Miguel Montúfar<sup>1</sup>, Elisabete Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Corporación de Patología Veterinaria, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Clínica Veterinaria Dover, Bogotá, D.C., Colombia

El diagnóstico molecular de enfermedades virales en pequeños animales ha permitido la detección precoz, rápida, sensible y específica del ARN o el ADN del virus del moquillo y del parvovirus caninos.

La disponibilidad de la PCR con transcripción inversa, la PCR con transcripción inversa cuantitativa y la PCR para estos agentes virales en Colombia ha generado bancos de amplificaciones de los virus que pueden secuenciarse e identificarse como genotipos de campo.

En el Valle de Aburrá, la Universidad de Antioquia ha genotipificado 23 amplificaciones del virus del moquillo canino, proponiendo una nueva variante para Suramérica, la SA4. En Bogotá, la Corporación de Patología Veterinaria y la Universidad de La Salle han obtenido 52 amplificaciones positivas de moquillo canino mediante PCR con transcripción inversa (RT-PCR) y RT-PCR cuantitativa, las cuales están siendo genotipificadas para caracterizar su ubicación filogenética.

La presencia de tres linajes en Suramérica (SA2, SA3 y SA4), así como un cuarto intercontinental (EU1/SA1), sugiere que en nuestro continente tenemos la mayor diversidad genética de cepas del virus del moquillo canino.

Por otro lado, el parvovirus canino es un agente que desde su primera descripción en 1978 ha ido evolucionando en cuatro tipos: CPV-2, CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c. El CPV-2c es muy patógeno y puede afectar animales caninos adultos con esquema de vacunación completo. La emergencia de la parvovirus canina en Colombia ha

accionado las alertas sobre la presencia de este último tipo, como ya ha ocurrido en Argentina, Brasil y Uruguay. Por esta razón, el uso de la PCR para la detección viral en muestras de materia fecal ha permitido no solo la identificación temprana de los portadores, lo que permite tomar medidas epidemiológicas que reduzcan el riesgo de contagio en poblaciones caninas, sino también la recolección de amplificaciones de genes que serán caracterizadas y comparadas con los antígenos de las vacunas para evaluar indirectamente la eficiencia de los esquemas actuales.

El trabajo en equipo a través de la Red Suramericana de Estudio de Enfermedades Virales con animales carnívoros y perros domésticos permitirá ampliar el conocimiento local y a nivel suramericano sobre el estatus de estas dos enfermedades.

..... X .....

### **C-013. Interface entre ungulados silvestres y bovinos: estudio de un caso de infección por el virus de la diarrea viral bovina en venados coliblanco (*Odocoileus virginianus*)**

P. E. Navas-Suárez<sup>1</sup>, D. Soler-Tovar<sup>2</sup>, L. Arias-Bernal<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Patología Comparada de Animales Silvestres, Universidad de São Paulo, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Bioparque Wakata, Cundinamarca, Colombia

Los animales silvestres juegan un papel importante en la transmisión de agentes infecciosos, lo que tiene un impacto en la salud de los humanos y los animales domésticos. Debido al desarrollo urbano y agrícola, los ecosistemas han disminuido, favoreciendo la interacción entre humanos, animales domésticos y animales silvestres. El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) afecta especies rumiantes domésticas y silvestres (bisontes, venado coliblanco, ciervo mulo y cabras silvestres). En Colombia, la diarrea viral bovina no está sujeta a control oficial. Entre el 2005 y el 2009 se presentó una prevalencia de 41 % en animales bovinos (5.219 animales positivos).

El objetivo del estudio fue determinar los niveles de anticuerpos para el BVDV mediante ELISA competitivo en una población cautiva de venados coliblanco (*Odocoileus virginianus*) en Cundinamarca, Colombia.

Se tomaron 21 muestras de suero (11 machos y 10 hembras) en venados coliblanco en una institución zoológica en Cundinamarca. El suero se obtuvo mediante venopunción de la vena yugular derecha. Los anticuerpos se determinaron mediante ELISA.

Se encontró una muestra positiva y otra sospechosa, y las 18 restantes fueron negativas (seroprevalencia del 5 %). La muestra positiva pertenecía a una hembra adulta en puerperio y la muestra sospechosa correspondía a un neonato. Debido a que en el momento del muestreo había dos neonatos, y uno de ellos era el de la muestra sospechosa, es probable que la hembra positiva fuera la madre de esa cría.

Teniendo en cuenta el fundamento de la técnica (cuantificación de anticuerpos específicos de la proteína no estructural p80/125), y que esta población no ha estado expuesta a la vacunación, la evidencia de reacción inmune en este individuo se atribuyó a la replicación viral.

Se demostró la presencia de anticuerpos específicos para el BVDV, con lo cual se brinda información para la vigilancia de este virus en poblaciones de venados coliblanco, cuya importancia radica en su interacción con animales de producción como los bovinos.

..... ✕ .....

#### **C-014. Estudio retrospectivo en tres laboratorios de diagnóstico veterinario y aplicación de la técnica de inmunohistoquímica para el diagnóstico del virus del moquillo canino**

Alisson Bello<sup>1</sup>, María Paula Santos<sup>1</sup>, Ricardo Piñeros<sup>2,3</sup>, Paola Barato<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas Veterinarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Corporación de Patología Veterinaria, Bogotá, D.C., Colombia

La técnica de inmunohistoquímica es un método de diagnóstico que utiliza anticuerpos monoclonales para la identificación de antígenos y que en el caso del virus del moquillo canino se hace en tejidos fijados en formalina. Para su interpretación y aplicación se recomienda prestar especial atención a variables como la edad, el estado inmunitario, el momento de la recolección de la muestra, la fase

de infección, el tropismo del virus en los diferentes tejidos, y la cronicidad de la infección, entre otras.

El objetivo del estudio fue aplicar la técnica de inmunohistoquímica para determinar la presencia del virus del moquillo canino en tejidos fijados con formalina y embebidos en parafina.

Para ello, se revisaron casos analizados por histopatología entre el 2007 y el 2013. Se analizaron 36 casos registrados en tres laboratorios con diagnóstico clínico e histopatológico de moquillo canino, o que presentaban lesiones compatibles con esta enfermedad.

Se seleccionaron tejidos del sistema respiratorio, el nervioso y el linfoide dado el tropismo y las lesiones asociadas con la infección por este virus evidenciadas en la necropsia y el examen histopatológico.

Se encontró que los tejidos que presentaron mayor marcación inmunológica fueron los de pulmón y ganglio (cinco casos: 20 % cada uno), de encéfalo (cuatro casos: 16 %), de bazo (tres casos: 12 %) y, por último, de amígdala (dos casos: 8 %).

Se encontró, asimismo, un excelente nivel de concordancia entre los resultados obtenidos mediante inmunohistoquímica y mediante histopatología en pulmón (82 %); el nivel fue aceptable en tejido linfoide (38 %) y no muy bueno en tejido encefálico (28 %).

Además, se encontraron lesiones compatibles con otras entidades virales que son erróneamente diagnosticadas como moquillo canino.

Con base en los resultados obtenidos se concluyó que había un diagnóstico excesivo de moquillo canino por histopatología, lo que hace necesario el uso de la inmunohistoquímica para la confirmación de casos. Se evidenció, igualmente, la presencia de otras entidades virales aún no diagnósticas en animales caninos en Colombia.

..... ✕ .....

#### **C-015. Descripción histopatológica de los patrones neumónicos ocasionados por el herpesvirus bovino en vacas de la cuenca lechera del departamento de Nariño**

Darío Vallejo, Carlos Velázquez, Patricia Morillo, Mauricio Quintero, Mauricio Chaves

Grupo de Investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria, MIFARVET, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia



En Colombia, las enfermedades generadas por el herpesvirus bovino se manifiestan con síntomas respiratorios y reproductivos y constituyen una de las principales causas de pérdidas económicas en el sector ganadero.

Este estudio hace una descripción histopatológica de los patrones neumónicos ocasionados por el herpesvirus bovino en vacas de la cuenca lechera del departamento de Nariño.

Se hizo un estudio descriptivo transversal doble ciego. Se tomaron muestras de la porción proximal, media y distal de los pulmones de vacas en los municipios de Pasto e Ipiales. Se estableció la presencia del herpesvirus bovino mediante PCR y la técnica de inclusión en parafina y coloración de hematoxilina y eosina de rutina para la evaluación histopatológica. Las variables consideradas fueron los cambios microscópicos en los pulmones, el patrón de distribución de las lesiones, su gravedad, y el tipo de alteración.

Se encontró hiperplasia moderada del epitelio en las vías respiratorias (31,3 %). De este porcentaje, el 4,5 % presentó sincitios y el 7,1 %, aplanamiento del epitelio en las vías respiratorias con cambios asociados a muerte celular.

Los hallazgos indican la entrada del agente por vía aérea o sistémica, con la posible participación concomitante de otros agentes virales, lo que significa que la enfermedad responde a múltiples factores.

..... ✕ .....

### **C-016. Análisis filogenético del gen E2 del virus de la peste porcina clásica en Colombia**

Andrea Victoria Castillo-Torres, María Antonia Rincón-Monroy, Claudia Patricia Calderón-Parra, Jennifer Natalie Castro-Vargas

Laboratorio de Biología Molecular, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario, Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá, D.C., Colombia

La peste porcina clásica es una enfermedad altamente contagiosa de los cerdos, caracterizada por la presencia de lesiones hemorrágicas y un alto porcentaje de mortalidad en animales no inmunizados.

En Colombia, es una enfermedad de control oficial en proceso de erradicación, cuyo diagnóstico se basa en la observación de los signos clínicos, las lesiones macroscópicas y microscópicas, y en la

detección del virus mediante PCR con transcripción inversa y el aislamiento viral.

Desde el 2007 no se habían reportado brotes de la enfermedad, pero en el 2013 se identificaron focos en la frontera colombo-venezolana y desde entonces se han presentado varios casos positivos en departamentos de la Costa Atlántica.

El objetivo del estudio fue analizar filogenéticamente las secuencias correspondientes a la región E2 del virus de la peste porcina clásica a partir de muestras de campo que ingresaron al Laboratorio Nacional de Diagnóstico del ICA para su diagnóstico molecular durante 2013, 2014 y 2015.

A partir de muestras de tejidos (amígdala, bazo, ganglio y riñón, principalmente), y de sueros, se detectó la presencia del virus de la peste porcina clásica mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real y la amplificación del fragmento 5'UTR. Posteriormente, se hizo la amplificación mediante PCR con transcripción inversa anidada del gen que codifica la proteína E2 del virus de la peste porcina clásica y la secuenciación a partir de muestras de campo o de aislamientos virales.

Hasta el momento, se han secuenciado 52 aislamientos de casos ocurridos en los departamentos de Bolívar, Cesar, Magdalena, Nariño, Norte de Santander y Sucre. Los virus detectados entre el 2013 y el 2015 se clasificaron filogenéticamente dentro del genotipo 2.2, y fueron diferentes a los virus de la peste porcina clásica relacionados con los brotes ocurridos antes del 2002, los cuales se clasificaron dentro del genotipo 1.1.

Se demostró la circulación del virus de la peste porcina clásica del genotipo 2.2 en los casos de la enfermedad ocurridos en los últimos años y su relación con cepas virales procedentes de Venezuela.

..... ✕ .....

### **C-018. Primeros datos sobre el virus de la diarrea viral bovina, genotipo 2, en Colombia**

Viviana Villamil, Víctor Vera, Gloria Ramírez, Jairo Jaime

Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) afecta los hatos bovinos y tiene diferentes presentaciones clínicas que incluyen desde las formas

asintomáticas hasta los cuadros con síntomas entéricos, reproductivos o respiratorios en los animales. Con base en su secuencia de nucleótidos, se han clasificado dos biotipos del virus (citopático y no citopático), y tres genotipos (1, 2, 3). El genotipo 1 está ampliamente distribuido en Colombia y es el agente causal de problemas reproductivos, mientras que los genotipos 2 y 3 no han sido detectados en el país y se desconoce su incidencia.

El propósito del presente estudio fue determinar la presencia del genotipo 2 (BVDV-2) en el territorio nacional mediante la evaluación de animales procedentes de cuatro zonas ganaderas y el empleo de la técnica de PCR con transcripción inversa en suero y cartílago de oreja.

Se recolectaron 379 muestras de suero preparto en hembras, 274 de suero precalostro de los terneros nacidos de estas hembras, 145 de suero de los terneros a los 25 días del nacimiento y 181 biopsias de cartílago de oreja de estos mismos terneros. Inicialmente, se hizo la PCR con transcripción inversa en todas las muestras para determinar la presencia o ausencia del BVDV y en aquellas que resultaron positivas se hizo una nueva PCR de transcripción inversa con iniciadores específicos para la detección del VDVB-2.

Se encontró que 11 (2,9%) de las muestras de suero de las hembras resultaron positivas para el BVDV-1 y seis (1,58 %) para el BVDV-2 (1,58 %). En cuanto a las muestras de suero precalostro, seis (2,12 %) fueron positivas para el BVDV-1. De las muestras tomadas a los 25 días del nacimiento, dos (1,38 %) fueron positivas para el BVDV-1. Ninguna de las muestras de suero obtenidas de los terneros resultó positiva para el BVDV-2. Por último, tres (1,65 %) biopsias de cartílago de oreja fueron positivas para el BVDV-1 y 14 (7,73 %) para el BVDV-2.

Este estudio registra los primeros datos documentados sobre la presencia del genotipo 2 del BVDV en bovinos de Colombia.

..... ✕ .....

**C103. Vigilancia y caracterización del virus de la influenza A en especies animales en Colombia**

Karl Ciuderis<sup>1</sup>, Erik A. Karlsson<sup>2</sup>, Pamela J. Freiden<sup>2</sup>, Brad Seufzer<sup>2</sup>, Stacey Schultz-Cherry<sup>2</sup>, Juan C. Dib<sup>3</sup>, Walberto Naranjo<sup>3</sup>, Óscar Robin<sup>4</sup>, Sandra Ruiz<sup>4</sup>, Juan E. Uribe<sup>4</sup>, Jorge E. Osorio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Patobiológicas, Universidad de Wisconsin, Madison, WI, USA

<sup>2</sup> Departamento de Enfermedades Infecciosas, Hospital Pediátrico St. Jude, Memphis, TN, Estados Unidos

<sup>3</sup> Fundación Salud para el Trópico, Santa Marta, Colombia

<sup>4</sup> Laboratorio Animed, Ltda., Carval, S.A., Bogotá, D.C., Colombia

Desde el reconocimiento de la influenza española en 1918, la transmisión del virus de la influenza A de los animales a los humanos se ha documentado suficientemente en Norteamérica y Eurasia. Sin embargo, aunque es de importancia para la salud pública, la información epidemiológica sobre el virus en Suramérica es muy limitada, especialmente en Colombia. Por lo tanto, los estudios enfocados en la vigilancia y la caracterización de los virus circulantes en poblaciones de animales en Colombia contribuyen al conocimiento epidemiológico del virus y generan el conocimiento para llenar el vacío de información que existe en la actualidad.

El estudio se propuso vigilar y caracterizar los virus de la influenza A circulantes en poblaciones de aves y cerdos en cuatro regiones de Colombia.

Se presentan aquí los datos de prevalencia obtenidos de la vigilancia en cuatro regiones del país en poblaciones de aves y cerdos entre octubre de 2012 y enero de 2014. La prevalencia viral obtenida en muestras nasales, orales y fecales de diversas especies fluctuó entre 2,6 y 14 %. Las muestras se procesaron mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real para la detección del gen de la matriz de los virus A de la influenza. En cerdos, se evidenció la circulación del virus pandémico H1N1, mientras que en las poblaciones de patos silvestres del género *Dendrocygna* circulaba un virus de baja patogenicidad, el H5N2.

Con estos resultados se demostró que el virus de la influenza A está circulando activamente en diversas poblaciones animales en Colombia, lo cual resalta la necesidad de una mayor vigilancia para evaluar el impacto potencial de esta enfermedad.

Dada la limitada información sobre el virus de la influenza en Latinoamérica, estos resultados generan una línea de base para los estudios sobre el comportamiento epidemiológico de estos virus en Colombia.

..... ✕ .....

## VIRUS VEGETALES

**C-006. Los potyvirus y los crinivirus no producen síntomas atípicos en plantas de papa (*Solanum* spp.) con infección concomitante**

Jenny Paola Alfaro, Liliana Franco-Lara

Grupo de Fitoplasmas y Virus, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia

En observaciones hechas en cultivos de papa (*Solanum* spp.) de Cundinamarca, Boyacá y Nariño, se detectaron plantas con síntomas atípicos (hojas con manchas irregulares verde oscuro sobre un fondo amarillo intenso), los cuales sugerían infección viral. Estos síntomas no se correlacionaron con virus descritos para la papa en Colombia. Dado que la presencia del crinivirus *Potato yellow vein virus* (PYVV) (*Crinivirus*) y del potyvirus *Potato virus Y* (PVY) es frecuente en cultivos de papa de Colombia, y que el sinergismo entre los crinivirus y los potyvirus está reportado, se evaluó la hipótesis de que los síntomas atípicos fueran el resultado de infecciones mixtas del PYVV y el PVY.

El objetivo del estudio fue determinar si los síntomas atípicos se correlacionaban con infecciones mixtas del PYVV y el PVY.

La presencia del PYVV y el PVY se evaluó mediante PCR con transcripción inversa (RT-PCR) en 57 plantas de campo con síntomas de infección por i) el PYVV, ii) el PVY, iii) virus atípicos y iii) sin síntomas aparentes, en dos ensayos de campo, registrándose la correlación entre los síntomas y los virus encontrados. La presencia de PVX, PLRV, PVM y PVS se verificó mediante la prueba DAS-ELISA en 21 de estas plantas.

De 10 plantas con síntomas atípicos evaluadas, solo una estaba infectada con el PYVV y el PVY. Por otro lado, se observaron infecciones concomitantes con los dos virus en cuatro de las cinco plantas sin síntomas aparentes y en 17 de 37 plantas con síntomas característicos de infección con el PYVV.

Del total de 20 plantas evaluadas mediante ELISA, 18 presentaban infección por el PVX, aunque no se observaron síntomas asociados con este virus. Ocho de estas plantas estaban infectadas también con el PVY y el PYVV además del PVX, pero mostraban síntomas característicos de la infección por el PYVV.

Lo anterior sugiere que las infecciones mixtas de PYVV y PVY no se correlacionaron con síntomas atípicos. Estos síntomas tampoco se correlacionaron con infecciones causadas por PLRV, PVS, PVM, PVX o sus combinaciones.

..... ✕ .....

**C-096. Identificación y caracterización de virus en cultivos de lulo y uchuva de Antioquia mediante secuenciación de nueva generación y PCR con transcripción inversa en tiempo real**

Laura Muñoz-Baena<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Juan Fernando Alzate<sup>2</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Centro Nacional de Secuenciación Genómica, CNSG, Facultad de Medicina, Grupo de Parasitología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

En las regiones andinas de Colombia se cultivan diferentes frutales solanáceos con gran potencial para la exportación por sus excelentes características nutritivas y organolépticas. Entre ellos se destacan el lulo (*Solanum quitoense*) y la uchuva (*Physalis peruviana*). Estos cultivos son muy susceptibles a enfermedades virales que ocasionan síndromes devastadores y que, dado el desconocimiento de su etiología específica, no se manejan adecuadamente por parte de los agricultores.

El objetivo del estudio fue identificar los principales virus que afectan los cultivos de lulo y uchuva en Antioquia, utilizando secuenciación de nueva generación y pruebas serológicas y moleculares.

La secuenciación se hizo a partir del transcriptoma de muestras de tejido foliar de lulo y uchuva de diferentes municipios de Antioquia utilizando el sistema Hi-Seq 2000. Con base en las secuencias obtenidas se diseñaron y probaron iniciadores específicos para la detección de los virus de mayor incidencia mediante PCR con transcripción inversa convencional (RT-PCR) y en tiempo real (qRT-PCR).

En las plantas de uchuva se encontró la especie *Potato virus X* (PVX) como la de mayor incidencia. La secuenciación masiva del genoma de este virus indicó un tamaño de 6.435 nt y niveles de similitud cercanos al 95 y el 77 % con respecto a miembros del subgrupo euroasiático y americano del PVX, respectivamente. La organización del genoma fue similar a la de otros aislamientos, con cinco marcos abiertos de lectura que codifican para las proteínas RdRp, TGBp1, TGBp2, TGBp3 y CP. En las plantas de lulo se encontró repetidamente un potyvirus mediante pruebas de ELISA y RT-PCR cuantitativa, sin embargo, hasta el momento no ha sido posible su identificación a nivel de especie.

El genoma del aislamiento PVX-Physalis descrito en este estudio es la única secuencia completa de un potexvirus disponible en Colombia y se añade al número restringido de aislamientos de PVX que infectan plantas diferentes a la papa en el mundo.

..... ✕ .....

#### **C-097. Detección y caracterización molecular del *Potato virus S* en cultivos de *Solanum phureja* de Antioquia mediante secuenciación de nueva generación**

Daniela Vallejo-Correa<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Juan Fernando Alzate<sup>2</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Centro Nacional de Secuenciación Genómica, CNSG, Facultad de Medicina, Grupo de Parasitología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

Las enfermedades virales son uno de los principales problemas para la producción de papa en la Región Andina, pues reducen los rendimientos de los cultivos, afectan la calidad de los tubérculos y limitan su utilidad como semilla. Los programas de manejo de enfermedades virales deben estar sustentados en el conocimiento de las especies de virus y sus variantes en cada región, así como en la disponibilidad de herramientas de diagnóstico específicas y sensibles.

El estudio se propuso caracterizar el viroma de ARN asociado a diferentes tejidos de plantas de *Solanum phureja*, cultivar Criolla Colombia, mediante secuenciación de nueva generación.

La secuenciación se hizo a partir del transcriptoma de muestras de tejido foliar, radicular y de brotes de tubérculos de papa criolla de diferentes municipios de Antioquia utilizando los sistemas Hi-Seq 2000 y 454 GS-FLX.

En las plantas de *S. phureja* se encontró que la especie *Potato virus S* (PVS) fue la de mayor incidencia, así como dos variantes principales derivadas del tejido foliar (PVS-RVC) y del tejido radicular (PVS-Col). La secuenciación masiva del genoma del PVS-RVC indicó un tamaño de 8.507 nt y seis marcos abiertos de lectura (RdRP, TGBp1, TGBp2, TGBp3, CP y NABP). Este aislamiento tuvo 79 % de identidad con las secuencias del virus de Europa (por ejemplo, el Leona y el Vltava), y de Norteamérica (por ejemplo, el WaDef-US y el Id4106-US), y el 80 % con el aislamiento del Brasil BB-AND.

El nivel de identidad encontrado entre los dos linajes del PVS detectados en este estudio fue del 79 %, lo que permite recomendar la evaluación independiente de ambos linajes en programas de certificación del tubérculo semilla y de mejoramiento genético de *S. phureja* para incrementar la resistencia al virus. Además, es necesario diseñar cebadores y sondas específicas para su diagnóstico mediante RT-PCR convencional y en tiempo real (qRT-PCR).

..... ✕ .....

#### **C-098. Caracterización molecular del *Potato virus V* en cultivos de papa de Antioquia mediante secuenciación de nueva generación**

Daniela Álvarez-Yepes<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Helena Jaramillo-Mesa<sup>1</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

El *Potato virus V* (PVV) es un potyvirus inicialmente considerado como una variante del *Potato virus Y* (PVY) y que actualmente es reconocido por el *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) como una especie diferente. El PVV induce la aparición de mosaicos y amarillamientos suaves, así como deformaciones de la lámina foliar, en



las plantas de papa. Es transmitido a través del tubérculo semilla y de diferentes especies de áfidos (por ejemplo, *Myzus persicae*).

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia del PVV en cultivos de papa criolla (*Solanum phureja*) de Antioquia mediante técnicas serológicas y moleculares.

La presencia del PVV se evaluó en cuatro lotes de cultivos de *S. phureja* del oriente y el norte de Antioquia mediante pruebas de DAS-ELISA, PCR con transcripción inversa convencional (RT-PCR) y cuantitativa (qRT-PCR) y secuenciación masiva con Hi-Seq 2000.

El PVV se detectó en los cuatro lotes evaluados mediante ELISA y RT-PCR, y su identidad se confirmó mediante secuenciación de la cápside viral. Además, fue posible secuenciar el genoma completo del virus a partir del transcriptoma de tejido foliar de papa. El genoma del aislamiento del PVV-Phureja presentó 9.904 nt (excluida la cola poli-A en el extremo 3'), con 83 % de identidad con respecto a los dos aislamientos (DV42 y KER.LAL.P) de este virus ya secuenciados completamente y disponibles en el GenBank. El genoma comprende un único marco abierto de lectura que codifica para una poliproteína de 3.065 residuos y regiones 5' y 3' no traducidas (UTR) de 217 y 448 nt, respectivamente.

Los hallazgos de este trabajo resaltan la necesidad de implementar medidas de control que eviten la dispersión del PVV en las regiones cultivadoras de papa en Colombia e incluir su detección en los programas de certificación del tubérculo semilla de *S. phureja* en el país.

..... ✕ .....

### **C-099. Detección del *Potato virus X* y del *Potato leafroll virus* en tubérculos de papa en Antioquia mediante pruebas de ELISA y PCR con transcripción inversa cuantitativa**

Daniela García-Ruiz<sup>1</sup>, Mauricio Mesa-Medina<sup>1</sup>, Marta González-Ramírez<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

Las virosis son uno de los problemas fitosanitarios más limitantes y de mayor incidencia en la producción de papa en Colombia y otros países del mundo. Las especies PVY, PLRV, PVX, PVS, PMTV y PYVV del virus son las que generan las mayores pérdidas económicas en la región andina. Generalmente, estos virus son transmitidos por áfidos y otros insectos homópteros, o a través del tubérculo semilla, lo que genera un proceso de acumulación de carga viral y disminución progresiva de rendimientos cuando no se utiliza semilla certificada.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia y la distribución del *Potato leafroll virus* (PLRV) y del *Potato virus X* (PVX) en tubérculos *Solanum tuberosum*, variedad Diacol-Capiro, y de *Solanum phureja*, variedad Criolla-Colombia, en Antioquia mediante pruebas de DAS-ELISA, cuyos resultados se confirmaron mediante PCR con transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR).

Se evaluaron 128 muestras que representaban cuatro tipos de tejidos de tubérculos (cáscara, yemas, ápice y base de los brotes), y se determinaron los niveles de detección alcanzados con la prueba DAS-ELISA, los que luego se confirmaron en un subgrupo de muestras mediante qRT-PCR y con el sistema SYBR Green.

La presencia del PVX se detectó en cerca del 28 % de las muestras analizadas, mientras que el PLRV solo se presentó en el 13 % de estas.

Con respecto a la distribución de los virus en los tejidos de tubérculos de papa, se determinó una mayor acumulación viral en los ápices de los brotes de ambas variedades y un volumen menor de títulos en la cáscara. Las pruebas de qRT-PCR permitieron confirmar la identidad de ambos virus y, además, detectar el virus en algunas muestras negativas con la DAS-ELISA.

Estos hallazgos resaltan la necesidad de utilizar tubérculos semilla certificados en los cultivos de papa y de fortalecer los programas de vigilancia con el empleo de técnicas de detección viral de gran sensibilidad como la qRT-PCR.

..... ✕ .....

### C-100. Detección del *Potato virus Y* en tubérculos y tejido foliar de cultivos de papa de Antioquia mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real

Héctor Camilo Medina-Cárdenas<sup>1</sup>, Daniel Muñoz-Escudero<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

El *potato virus Y* (PVY) es uno de los problemas virales más limitantes y de mayor incidencia en la producción de papa en Colombia y otros países. Es transmitido por áfidos y a través del tubérculo semilla, lo que genera un proceso de acumulación de virus y disminución progresiva de los rendimientos cuando no se utiliza semilla certificada. El PVY presenta una gran variabilidad biológica y molecular debido a sus altas tasas de mutación y recombinación genética, y se reconocen diferentes variantes como las PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>NTN</sup> y PVY<sup>C</sup>, entre otras.

El objetivo del estudio fue determinar la presencia y la distribución de PVY en tubérculos y tejido foliar de papa de la variedad Diacol-Capiro (*Solanum tuberosum*) utilizando PCR cuantitativa con transcripción inversa.

La presencia del PVY se detectó en cultivos del oriente y el norte de Antioquia, mediante pruebas de ELISA y de PCR cuantitativa con transcripción inversa utilizando los sistemas de SYBR Green y Sonda Taqman en diferentes tejidos de tubérculos (brotes, yemas latentes y cáscara), así como en folíolos. Además, se identificaron las variantes del PVY predominantes en estas regiones mediante secuenciación de la cápside viral.

El PVY se detectó en cerca del 90 % de las muestras foliares evaluadas y en el 98 % de los tubérculos de Diacol-Capiro, con valores de umbral del ciclo (Ct) que oscilaron entre 9,06 y 28,35, siendo evidente la presencia de un mayor volumen de títulos virales en los tejidos del ápice (Ct promedio=11,5; DE=3,78) que en las yemas latentes (Ct promedio=17,4; DE=5,04) y en la piel de tubérculo (Ct promedio=20,9; DE=6,30). Los análisis de secuencias de la cápside viral identificaron las variantes necrosantes del PVY (por

ejemplo, PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>NTN</sup>) como las predominantes en las regiones bajo estudio.

Los hallazgos de este trabajo apuntan a que es necesario reforzar las prácticas de certificación del tubérculo semilla en Colombia a partir del empleo de técnicas de gran sensibilidad como la PCR cuantitativa con transcripción inversa, especialmente durante las primeras etapas del proceso (por ejemplo, semillas superélite, élite y básicas).

..... ✕ .....

### C-101. Secuenciación de una nueva generación del genoma del potyvirus *Tamarillo leaf malformation virus* en *Solanum betaceum* en Antioquia

Mateo Duque-Villegas<sup>1</sup>, Pablo Gutiérrez-Sánchez<sup>1</sup>, Juan Fernando Alzate<sup>2</sup>, Mauricio Marín-Montoya<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Centro Nacional de Secuenciación Genómica, CNSG, Facultad de Medicina, Grupo de Parasitología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Colombia

Uno de los problemas más serios del cultivo del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Colombia son las virosis, pues inducen disminución de los rendimientos, reducción de la longevidad de las plantas y el detrimento de las características cosméticas y organolépticas de los frutos. En estudios recientes con métodos serológicos y moleculares se ha encontrado que, al menos, ocho virus afectan este frutal en Colombia, incluidos el polerovirus, el cucumovirus, el tobamovirus y el potyvirus, y que el *Tamarillo leaf malformation virus* (TaLMV) es una de las especies con mayor incidencia.

El objetivo del estudio fue caracterizar el genoma del TaLMV en aislamientos de tomate de árbol en Antioquia mediante secuenciación de nueva generación.

La secuenciación se hizo a partir del transcriptoma de dos grupos de muestras de tejido foliar de plantas de tomate de árbol del oriente y el norte de Antioquia, utilizando el sistema Hi Seq 2000 de Illumina y análisis bioinformáticos tendientes a la caracterización del genoma y la detección de los niveles de variación intraespecífica. Posteriormente,

se diseñaron y probaron iniciadores específicos muy sensibles para la detección del TaLMV mediante PCR con transcripción inversa convencional y en tiempo real.

La secuencia del genoma del TaLMV presentó 9.676 nt (excluido el extremo de poli-A) y resultó idéntica al *Colombian datura virus* (CDV) en el 70 %. Se observó un gran marco de lectura abierto que codificó para una poliproteína de 3.073 aminoácidos flanqueada por una región

no traducida (UTR) de 156 (5') y 315 nt (3'). Los iniciadores diseñados permitieron detectar el TaLMV en las pruebas de RT-PCR cuantitativa y hacer análisis filogenéticos con las secuencias de cápside que identificaron a CDV, TEV, PVA y TVMV como los más cercanos a este potyvirus.

La utilización de los iniciadores diseñados en este estudio ofrece alternativas muy sensibles para la detección del TaLMV en los programas de certificación de semilla de este frutal.

..... ✘ .....

## OTROS CARTELES

### C-092. Compuestos de inspiración natural con actividad biológica: una mirada a la relación entre la estructura y la actividad de sustancias venenosas con efectos antivirales en un modelo computacional

Yornei R. Pérez<sup>1,3</sup>, Pedro M. Olmos<sup>1,3</sup>, Óscar F. Hernández<sup>1,3</sup>, Manuel Támara<sup>2,3</sup>, Liliana Solano<sup>2,3</sup>, Aldo F. Combariza<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Modelamiento (sic.) Molecular y Simulación Computacional - *In silico*, Sincelejo, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Sincelejo, Colombia

<sup>3</sup> Universidad de Sucre, Sincelejo, Sucre, Colombia

Como resultado de la evolución, animales como los artrópodos, los reptiles y los anfibios han desarrollado la capacidad para producir sustancias con una gran eficiencia biocatalítica, resistencia proteolítica y estabilidad estructural, lo que los convierte en potenciales candidatos para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas o farmacológicas. La mayoría de estas sustancias venenosas actúan de manera sinérgica y son mezclas complejas de compuestos de naturaleza química muy variada: proteínas, péptidos, enzimas, nucleótidos, lípidos, aminas biogénicas y otra serie de sustancias desconocidas. Especial interés ha despertado el probado potencial de estas sustancias como alternativa para el control de agentes causantes de enfermedades infecciosas virales como, el dengue y la fiebre amarilla.

El objetivo de este estudio fue analizar mediante técnicas analíticas la composición de los venenos de especies de serpientes de la Región Caribe (familia *Bothrops*), y caracterizar computacionalmente la relación entre su estructura y su actividad.

Se utilizó una metodología combinada, experimental y computacional, para estudiar características estructurales que hacen de las sustancias presentes en el veneno antivirales efectivos. La espectrometría de masas MALDI-TOF se ha utilizado para detectar las sustancias presentes en la sustancia venenosa. Los métodos atomísticos basados en campos de fuerza (de mecánica molecular y dinámica molecular) se utilizan para estudiar la dinámica y la estabilidad de compuestos específicos.

El veneno analizado está compuesto principalmente por fosfolipasas A2 (PLA2), proteinasas, acetilcolinerasas y L-aminoácido oxidasas, entre otras. Estas últimas son flavoenzimas enantioselectivas que catalizan los procesos de deaminación oxidativa estereoespecífica de un amplio rango de L-aminoácidos. Las estructuras cristalinas de diferentes isoformas de la enzima sPLA2s se han obtenido y publicado. La forma general de estas estructuras presenta tres hélices principales, con dos de ellas en posiciones antiparalelas que forman el centro de la proteína. La dinámica más relevante se presenta en los bucles externos, donde se lleva a cabo el contacto con iones de calcio.

..... ✘ .....

## VIRUS EXÓTICOS

**C-108. Virus Hendra: zoonosis emergente en el mundo**Diana Benavides-Arias<sup>1</sup>, Diego Soler-Tovar<sup>2</sup><sup>1</sup> Semillero de Investigación Una Salud, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

El virus Hendra (familia Paramyxoviridae) es una zoonosis que se transmite entre especies y tiene una amplia gama de huéspedes (murciélagos frugívoros, cerdos, gatos, perros, caballos y humanos). Infecta neuronas y células endoteliales provocando síntomas respiratorios graves y gran mortalidad.

En lugares donde habita su huésped natural (zorros voladores, murciélagos frugívoros o macroquirópteros), la infección se presenta en los animales domésticos y en humanos. La ruta para la infección humana incluye el contacto directo o indirecto con los murciélagos en sus áreas de percha o de alimentación, la contaminación de productos alimenticios por parte de murciélagos y la transmisión de persona a persona.

El virus Hendra se disemina en los caballos a través de los zorros voladores del género *Pteropus*, especialmente *Pteropus alecto*, *P. poliocephalus* y *P. scapulatus*, los cuales viven en colonias integradas por miles de animales. Además, el virus puede persistir dentro de su huésped. La interacción de los seres humanos y los perros con los zorros voladores se da en los dos sentidos, y cualquier evento que provoque estrés en los zorros voladores produce una mayor excreción del virus en el ambiente. Las poblaciones de murciélagos se incrementan con los continuos cambios ambientales, lo que a su vez aumenta la exposición de los animales domésticos y los humanos, especialmente de los médicos veterinarios en el ejercicio de su profesión.

Las iniciativas de salud pública contra el virus Hendra se han centrado en actividades que propician cambios en la educación y el comportamiento de los grupos de alto riesgo, como veterinarios, propietarios de caballos y personas que trabajan en la industria equina.

..... X .....

**C-109. La fiebre del valle del Rift: importancia en salud animal y humana**Sergio Andrés Pinzón-Saavedra<sup>1</sup>, Diego Soler-Tovar<sup>2</sup><sup>1</sup> Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

La fiebre del valle del Rift es una zoonosis viral causada por un virus del género *Phlebovirus*, familia Bunyaviridae, que se distribuye en África subsahariana, Madagascar y la península arábiga. Se destaca la amplia gama de vectores que la transmiten, principalmente mosquitos de los géneros *Aedes* y *Culex*, pero también *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Eretmapoites*, *Mansonia* y *Ochlerotatus*, los cuales abundan en áreas de la franja intertropical.

La enfermedad tiene un gran impacto en la economía, ya que afecta animales domésticos, entre ellos bovinos, ovinos y caprinos, con tasas de morbilidad, mortalidad y abortos que superan el 70 %.

En humanos, en especial en trabajadores del sector pecuario, la enfermedad puede causar síntomas incapacitantes como la fiebre hemorrágica e incluso la muerte, por lo que puede constituir una enfermedad laboral de importancia en salud pública. La transmisión al ser humano se da de varias formas: a través de fluidos de animales infectados o de sus tejidos, por la picadura de mosquitos y por el consumo de leche sin pasteurizar o de carne cruda.

La enfermedad es de notificación obligatoria ante las autoridades sanitarias mundiales y hace parte de la lista de enfermedades del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal. Por su variada forma de transmisión tiene la capacidad de colonizar nuevos territorios donde existan vectores y especies susceptibles.

Teniendo en cuenta la presencia en el país de la gran mayoría de los géneros de mosquitos transmisores del virus, existe el riesgo de introducción de la enfermedad, por lo que es necesario implementar medidas de vigilancia.

..... X .....



### C-110. *Orthopoxvirus* en ardillas silvestres y su introducción en nuevas áreas geográficas

Laura Jaramillo Ortiz<sup>1</sup>, Diego Soler-Tovar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Semillero de Investigación Una Salud, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

Los *Orthopoxvirus* son virus zoonóticos pertenecientes a la familia Poxviridae, su genoma está constituido por ADN monocatenario y causa diversas enfermedades en mamíferos silvestres y domésticos, así como en humanos. Los principales reservorios de estos virus son los roedores, entre ellos, las ardillas, cuyo papel varía de acuerdo con su hábitat y distribución geográfica.

En Norteamérica, algunos *Orthopoxvirus* son endémicos, pero rara vez infectan ardillas grises (*Sciurus carolinensis*). En México, se determinó una seroprevalencia de *Orthopoxvirus* del 30 % en ardillas (*Sciurus aureogaster*), aunque no se encontraron individuos enfermos ni muertos que indicaran su papel como reservorios asintomáticos. En Italia, la República de Irlanda y el Reino Unido, en cambio, los *Orthopoxvirus* causan una enfermedad fatal en las ardillas rojas (*Sciurus vulgaris*), caracterizada por un cuadro dermatológico ulcerativo y exudativo grave que amenaza la supervivencia de la especie. Existen evidencias de que las infecciones por *Orthopoxvirus* en ardillas europeas se originaron por la invasión de ardillas norteamericanas. A excepción de México, no existen reportes de *Orthopoxvirus* en ardillas de Centroamérica o Suramérica.

En Colombia, se reportó recientemente la circulación de *Orthopoxvirus* en animales bovinos y personas, en quienes ha causado ulceraciones graves e incapacitantes en manos y cara, constituyéndose así en un problema socioeconómico y de salud pública.

Aunque no se han identificado los reservorios naturales, estos podrían ser roedores silvestres, entre ellos las ardillas (*Sciurus granatensis* y *Sciurus pucheranii*), las cuales tienen una amplia distribución a nivel nacional.

Las investigaciones sobre el papel que juegan las ardillas en los ciclos enzoóticos y epizooticos de los *Orthopoxvirus* en Colombia será de gran utilidad

para entender su ecología y poder establecer estrategias de prevención y control dirigidas a disminuir el riesgo de infección para animales y personas.

..... X .....

### C-111. El dengue 5 y sus implicaciones en salud pública

Andrew Sebastián Muñoz-Gamba, José Aldemar Usme-Ciro

Programa de Biología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

El virus del dengue, perteneciente al género *Flavivirus* de la familia Flaviviridae, es un virus transmitido por vectores. Posee un genoma ARN de sentido positivo y se clasifica en cuatro serotipos (DENV-1 a -4), que se relacionan filogenéticamente de manera estrecha y se diferencian por sus propiedades antigénicas.

La mortalidad anual por dengue a nivel mundial es de 25.000 personas, aproximadamente, con más de 100 millones de casos y 2.500 millones de personas en riesgo de infección.

En una conferencia internacional sobre el virus del dengue llevada a cabo en octubre del 2013, se propuso un nuevo serotipo, el DENV-5. Los análisis evolutivos han permitido demostrar que los serotipos DENV-1, -2 y -4 tienen un origen selvático y que el DENV-5 podría corresponder a un nuevo linaje del virus con el potencial adaptativo para establecerse en la población humana y en los vectores de zonas periurbanas y urbanas.

Este nuevo serotipo se detectó en una muestra proveniente de un agricultor de Sarawak, Malasia, en el 2007. Inicialmente se pensó que era un caso selvático del DENV-4, el cual circula entre primates y en el mosquito *Aedes nivalis* en bosques de Asia suroriental.

Los ensayos serológicos mediante la prueba de neutralización por reducción de placas demostraron su gran diferencia antigénica con respecto a los cuatro serotipos descritos hasta la fecha. Un análisis filogenético indicó que el DENV-5 sería el tipo de base de los demás serotipos.

Aún no existen datos que evidencien el establecimiento de este nuevo virus en la población humana, sin embargo, desde ahora debe evaluarse su potencial impacto epidemiológico, así como la pertinencia de su inclusión en el desarrollo de

la vacuna, pues de confirmarse el fenómeno de potenciación dependiente de anticuerpos, la inmunización contra los serotipos existentes podría convertirse en un factor de riesgo para el dengue grave.

La aparición del nuevo serotipo representa un reto adicional en el desarrollo de una vacuna. Ante su eventual establecimiento y dispersión deben evaluarse las implicaciones a nivel inmunológico y en salud pública.

..... ✕ .....

### **C-112. El virus de la influenza aviar A (H7N9): su tránsito de virus local a posible amenaza mundial**

Judier Karelly Melgarejo-Colmenares, José Aldemar Usme-Ciro

Programa de Biología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de la Salle, Bogotá, D.C., Colombia.

El virus de la influenza aviar A(H7N9) se reportó por primera vez en China en marzo de 2013 en el desarrollo de una infección por el virus de la influenza A (familia Orthomyxoviridae). Los virus de la influenza A se clasifican en subtipos con base en dos antígenos de superficie: las proteínas hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). Existen 16 antígenos H (H1-H16) y nueve antígenos N (N1-N9). Según su capacidad patógena, los virus de la influenza aviar se denominan IABP (baja capacidad patógena) e IAAP (alta capacidad patógena).

Este virus puede producir infecciones en humanos por exposición a aves de corral infectadas o entornos contaminados. Las aves infectadas pueden diseminar el H7N9 a través del excremento, las mucosas o por el aire. Los estudios indican que el virus presenta un patrón estacional.

La infección en el ser humano se caracteriza por fiebre alta y tos en los casos leves, y puede cursar con neumonía, síndrome agudo de insuficiencia respiratoria, choque séptico e insuficiencia de varios órganos en los casos graves, los cuales pueden conducir a la muerte.

En el 2013, la Organización Mundial de la Salud reportó 132 infecciones y 44 muertes por H7N9 en humanos. Según datos suministrados por el Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades el 22 de enero de 2015, desde su aparición el virus ha causado 487 casos y 185 muertes, reportándose nuevos casos en provincias y ciudades de China.

Aunque no existen pruebas de contagio o de transmisión sostenida de persona a persona, es de esperarse que el H7N9 pueda adquirir rápidamente esa capacidad debido a su alta tasa de evolución, lo que desencadenaría un brote global de la enfermedad (pandemia).

Los riesgos e implicaciones de este virus para la salud pública de países como Colombia deben considerarse oportunamente con el fin de preparar e informar al país sobre el eventual ingreso del virus.

..... ✕ .....

### **C-113. El virus Lassa: potencial amenaza para las Américas**

Melissa Margarita Cordero-Rodríguez, José Aldemar Usme-Ciro

Programa de Biología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

El virus Lassa pertenece al género *Mammarenavirus*, familia *Arenaviridae*, y posee un genoma con dos segmentos de ARN monocatenario. Este virus causa en los humanos una enfermedad hemorrágica aguda denominada fiebre de Lassa, descrita por primera vez en 1969 en la ciudad de Lassa, Nigeria. Actualmente el virus es endémico en países de África occidental como Nigeria, Liberia, Sierra Leona, Guinea, República Centroafricana, Congo, Malí y Senegal, y causa anualmente cerca de 300.000 casos y 5.000 muertes.

El principal reservorio y transmisor del virus es el ratón *Mastomys natalensis*, ampliamente distribuido en África como plaga doméstica; los casos en humanos ocurren por consumo de su carne o contacto con sus excrementos. El contagio de persona a persona se da por contacto con secreciones corporales.

El virus presenta un periodo de incubación de 5 a 21 días, después de los cuales se evidencian síntomas como conjuntivitis, vómitos con sangre, disfagias, ulceración de la mucosa oral, edemas y paro cardiaco, aunque, aproximadamente, el 80 % de las infecciones en humanos son asintomáticas y pasan inadvertidas. No es posible descartar que algún roedor distinto a *M. natalensis* presente en el continente americano pueda actuar como reservorio del virus Lassa, tampoco que el virus se adapte a nuevos huéspedes.

El actual fenómeno de globalización, con el consecuente flujo de viajeros de un continente a otro en cortos periodos, constituye la principal amenaza para la diseminación del virus Lassa, como ha ocurrido recientemente con otros virus como el Ébola, proveniente de África occidental, el cual ha sido detectado en Norteamérica y Europa.

Los países de las Américas, así como los de otras regiones, deben implementar las medidas necesarias para minimizar el riesgo de introducción y establecimiento del virus Lassa.

..... ✕ .....

#### **C-114. El virus Usutu, una posible amenaza para la biodiversidad en Colombia**

Alicia Alejandra Rosales, José Aldemar Usme-Ciro

Programa de Biología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D.-C., Colombia

El virus Usutu (USUV), aislado por primera vez de *Culex naevei* en 1959 en Sudáfrica, pertenece al género *Flavivirus* (familia Flaviviridae). Es un virus estrechamente relacionado con el virus del Nilo occidental y el virus de la encefalitis japonesa, con una estructura esférica de 40 a 60 nm de diámetro y un genoma ARN de sentido positivo de 11 kb, aproximadamente, el cual codifica para tres proteínas estructurales (de la cápside, la membrana y la envoltura) y siete no estructurales.

El ciclo natural de transmisión del virus incluye las aves como huéspedes y los mosquitos como vectores. Ha sido aislado de mosquitos *Culex pipiens*, *Cx. naevei*, *Cx. perexiguus* y *Aedes albopictus*, entre otros; *Cx. pipiens* y *Cx. Naevei* se consideran los vectores más importantes. Recientemente, fue aislado de murciélagos, cuyo papel en la transmisión aún se desconoce.

El virus emergió de nuevo en Italia en 1996 y en Austria en el 2001, causando una considerable mortalidad en mirlos (*Turdus merula*); en los años siguientes se registraron brotes en aves en Inglaterra, la República Checa, España y Polonia. El virus Usutu también ha sido detectado en humanos en Italia (2009), Croacia (2013) y Alemania (2014), y se ha asociado con trastornos neurológicos en pacientes inmunocomprometidos transfundidos con sangre infectada.

Teniendo en cuenta que Colombia es un importante destino turístico al que podrían ingresar viajeros

infectados, y que se ha demostrado la presencia y la dispersión de *Ae. albopictus* y *Cx. pipiens* en gran parte del territorio nacional, cabe preguntarse si los humanos podrían ser un huésped competente para la transmisión, y si existe la posibilidad de que el virus se adapte a alguna de las especies de aves endémicas, con el riesgo consecuente de que se establezca en el país.

Aunque es muy improbable, el eventual establecimiento del virus Usutu en Colombia podría tener un efecto negativo en la biodiversidad de las aves y en la salud pública, por lo que sería necesario evaluar su impacto.

..... ✕ .....

#### **C-115. América, territorio sin presencia del virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo**

Arturo Gasca-Mayans, Andrés Páez-Martínez

Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C, Colombia.

El virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, miembro de la familia Bunyaviridae, género *Nairovirus*, debe su nombre a la península de Crimea y a la República Democrática del Congo, donde ocurrieron infecciones en humanos que permitieron identificarlo en 1969.

Su ARN genómico es monocatenario con polaridad negativa y, aunque se ha aislado de diferentes especies de garrapatas, su verdadero vector son las de la especie *Hyalomma marginatum*, que infestan gran variedad de vertebrados silvestres y especies pecuarias como cabras, vacas y ovejas. Entre las aves, los avestruces son los más susceptibles.

La infección en animales es asintomática, pero en los humanos tiene un comienzo repentino, con fiebre, rigidez, escalofríos, dolores de cabeza, cuello, espalda, piernas y ojos, mareo y ftofobia. Pueden ocurrir hemorragias que producen falla hepática, renal o pulmonar y coma, y la muerte se produce entre los días 5 y 14 de la enfermedad.

La tasa de mortalidad varía entre 5 y 80 % dependiendo de la cepa viral, el grado de educación de la población y la efectividad de las intervenciones en salud pública. En pacientes que se recuperan, algunos síntomas pueden persistir durante más de un mes. Cada año se notifican más de 1.000 casos en países como Albania, Bulgaria, Kosovo y Turquía. En los países africanos, las tasas de infección y el número de casos se desconocen.

La educación en prevención del personal de salud y de la comunidad es crucial para disminuir la tasa de infecciones. La identificación de las zonas endémicas es fundamental para implementar acciones de manera concentrada y dirigida y la tamización serológica de los animales permite identificar las zonas afectadas. El tratamiento con repelentes puede ser efectivo para reducir la infestación de los animales con garrapatas.

La población colombiana y del resto de países de las Américas presenta poco riesgo de infección por el virus de Crimea-Congo, ya que su vector *H. marginatum*, no está presente en la región.

..... ✕ .....

### C-116. Colombia: aún sin riesgo de transmisión del virus de la encefalitis japonesa

Vanessa Cortés, Andrés Páez-Martínez

Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C, Colombia

El virus de la encefalitis japonesa es un arbovirus con simetría icosaédrica y genoma ARN monocatenario no segmentado y de polaridad positiva que pertenece al género *Flavivirus* de la familia Flaviviridae.

Se documentó por primera vez en Japón en 1871 y es endémico en 24 países de Asia suroriental y el Pacífico occidental, en donde es la principal causa de encefalitis viral y causa anualmente más de 65.000 casos clínicos y 20.000 muertes, poniendo en riesgo la salud de más de 3.000 millones de personas.

Aunque la enfermedad sintomática es poco frecuente, una de cada 250 infecciones resulta grave, con fiebre elevada, cefalea, rigidez de nuca, desorientación, coma, ataques y parálisis espástica. El 30 % de las personas infectadas muere y el 40 % tiene secuelas neurológicas o psiquiátricas permanentes.

El virus infecta cerdos, caballos y aves lacustres mediante picaduras de mosquitos infectado del género *Culex*. Los humanos se convierten en huéspedes accidentales del virus cuando son picados por mosquitos infectados del género *Culex*, pero no desarrollan suficiente viremia para infectar a los mosquitos que los piquen.

Aunque no existe ningún tratamiento antiviral para los pacientes con encefalitis japonesa, sí existen vacunas seguras y eficaces para prevenirla.

Entre las actividades de prevención y control están la vacunación de personas en las regiones endémicas y el fortalecimiento de la vigilancia y la notificación. Aunque menos eficaces, las intervenciones para reducir la abundancia de mosquitos y evitar su picadura como el uso de repelentes, toldillos y prendas que cubran la mayor parte del cuerpo, también se recomiendan.

Pese a que recientemente este virus se ha propagado a Indonesia, el norte de Australia, Papúa Nueva Guinea y Pakistán, en Colombia y el resto de países de las Américas no hay circulación, por lo que la población no está en riesgo de contraerlo.

..... ✕ .....

### C-117. El virus Zika: ¿una amenaza para Colombia?

Julián Steven Beltrán-Ruge, Andrés Páez-Martínez

Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá D.C, Colombia

El virus Zika es un virus envuelto con simetría icosaédrica y genoma ARN monocatenario de polaridad positiva no segmentado, con 10.800 nucleótidos, aproximadamente. Este virus, miembro de la familia Flaviviridae y del género *Flavivirus*, está relacionado con los virus de la fiebre amarilla, del dengue, del virus del Nilo occidental, y de la encefalitis japonesa, y es transmitido por varias especies de mosquitos del género *Aedes*.

El virus Zika fue aislado por primera vez en 1947 de un mono *Rhesus* en el bosque Zika en Uganda y posteriormente en humanos en Nigeria en 1968. En los años siguientes se obtuvo evidencia serológica de la infección por Zika en humanos en otros países africanos como Tanzania, Egipto, República Centroafricana, Sierra Leona y Gabón, y en países de Asia como India, Malasia, Filipinas, Tailandia, Vietnam e Indonesia.

La fiebre Zika se considera leve y de resolución espontánea y se puede confundir clínicamente con el dengue y el chikunguña. Se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, erupción cutánea, dolor de huesos y articulaciones.

Se han reportado brotes de esta infección fuera de África y Asia, que afectaron las poblaciones de la



isla de Yap en el 2007, y de la Polinesia Francesa y de la Isla de Pascua en el 2014.

Estos brotes constituyen prueba de que el virus Zika puede ser propagado a grandes distancias por viajeros infectados.

Las estrategias de prevención y control de la fiebre Zika deben ser similares a las del dengue y el chikunguña, e incluir la promoción del uso de

repelente de insectos e intervenciones para reducir la abundancia de mosquitos.

Los funcionarios encargados de la vigilancia de la salud pública en Colombia y el resto de países de las Américas deben estar alerta ante la posible propagación de la fiebre Zika y tener en cuenta la posible confusión clínica entre esta enfermedad y el dengue y el chikunguña.

..... ✕ .....