Biomédica 2011;31(Supl):103-13

Trabajos en carteles

FIEBRES HEMORRÁGICAS

Asociación de polimorfismos de los genes *TNF-alfa, IL-6, IFN-gamma* y el efecto de la mezcla ancestral, con las formas clínicas de dengue en dos grupos étnicos, Colombia

Berta Nelly Restrepo, Efrén Avendaño, Juan Camilo Chacón, Winston Rojas, Piedad Agudelo, Ruth Ramírez, Gabriel Bedoya

Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Colombia
brestrepo@ces.edu.co

Introducción y objetivos. El dengue es un importante problema de salud pública en países tropicales y subtropicales. El principal desafío es la explicación de las formas graves de la enfermedad. Una de las hipótesis es la influencia genética del huésped.

El objetivo fue evaluar la asociación de polimorfismos de los genes *TNF-alfa, IL-6* e *IFN-gamma* y el efecto de la mezcla ancestral, con las formas clínicas de dengue en dos grupos étnicos, en Colombia.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo. La población de estudio estuvo constituida por 122 pacientes afrodescendientes y 104 pacientes mestizos con dengue. Los genes candidatos escogidos fueron *IFN-gamma* (-78), *INF-gamma* (4100), *IL-6* 4859 (intrón 4 AF372214) y *TNF-alfa* (-376), los cuales se procesaron mediante la técnica PCR-RFLP. La clasificación del grupo étnico se hizo por autoidentificación y por medio de 19 marcadores informativos de ancestro (AIM).

Resultados. La comparación entre grupos étnicos mostró diferencias importantes. En mestizos fueron más frecuentes los casos de dengue hemorrágico (16,3 % *Vs*. 4,1 %, p=0,003), más pacientes tuvieron trombocitopenia (66,7 % *Vs*. 47,3%, p=0,012) y más requirieron hospitalización (63,5 % Vs. 23,8 %).

Conclusiones. Estos resultados son prueba de la propensión genética a la infección por el virus del dengue. Sin embargo, es necesario llevar a cabo un mayor número de estudios.

Síndrome febril por hantavirus: diagnóstico diferencial en Tonosí, Los Santos, Panamá, 2007-2009

Blas Armien, Jamileth Mariñas, Juan Miguel Pascale, Carlos Muñoz, Demetrio Serracín, Deyanira Sánchez, Mario Ávila, Jonnattan Montenegro, Aníbal G Armien, Fred Koster

Instituto Conmemorativo Gorgas, Ciudad de Panamá, Panamá
blasarmien@yahoo.com.mx

Introducción y objetivos. Se diseñó un estudio de casos febriles para documentar las infecciones agudas por hantavirus y su diagnóstico diferencial en Tonosí, Los Santos, por ser un área de alta prevalencia de infección (IgG) por hantavirus.

Materiales y métodos. Se hicieron pruebas a todos los pacientes que acudieron al Hospital Rural de Tonosí, con fiebre mayor de 38,5 °C, sin rinorrea, residentes de Tonosí, mayores de 5 años de edad, previo consentimiento o asentimiento informado escrito.

Aplicamos un cuestionario previamente validado para evaluar los síntomas. Se definió como caso al paciente que resultó positivo a la prueba de ELISA contra el anticuerpo de IgM de hantavirus, con confirmación por Western-blot, RT-PCR o ambas, para el virus Choclo; los controles fueron aquellos con dos pruebas negativas sucesivas. Las muestras negativas se analizaron para leptospira, rickettsia, dengue y mononucleosis.

Resultados. El 76 % (58/76) de los pacientes fueron positivos para hantavirus; 8 presentaron síndrome cardiopulmonar por hantavirus y 50 no presentaron complicaciones cardiopulmonares. La edad promedio fue de 33,8 años (DE±15,4) entre los casos. Entre los casos, la mediana de las plaquetas fue 130.000/mm^3. Todos los casos de síndrome cardiopulmonar por hantavirus presentaban infiltrados en las radiografías de tórax y algunos casos con infección por hantavirus presentaron infiltrados pulmonares. Entre los

negativos, 5 (n=12) casos fueron positivos para leptospira. La relación de síndrome cardiopulmonar por hantavirus e infección por hantavirus sin dicho síndrome en el distrito de Tonosí, varía de 1:6 a 1:9,6.

Conclusiones. La infección aguda por hantavirus es más frecuente de lo que se esperaba y, por otra parte, en su fase prodrómica se puede confundir con una infección por *Leptospira* spp., por lo que es necesario fortalecer la vigilancia de los síndromes febriles inespecíficos.

Comportamiento de los niveles de IgM e IgG en cerdas de cría en varias granjas porcícolas del eje cafetero colombiano vacunadas contra *Leptospira* spp. con una vacuna pentavalente

Jorge Enrique Pérez, Héctor Jaime Aricapa, Nicolle Andrea Martínez, Gustavo Adolfo Cifuentes

Universidad de Caldas, Manizales, Colombia
labmicro@ucaldas.edu.co

Introducción y objetivos. La leptospirosis es una enfermedad primaria frecuente en los animales domésticos de interés zootécnico, que puede incluso transmitirse al hombre y es causante de considerables pérdidas económicas en los predios en los cuales se presenta ya sea de forma aguda o crónica.

El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de anticuerpos posteriores a vacunación contra diferentes serovares de *Leptospira* spp. en 78 cerdas de cría en dos momentos diferentes de la gestación (días 90 a 95: momento 1, y días 110 a 114: momento 2).

Materiales y métodos. Mediante el uso de las técnicas de microaglutinación (MAT) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), cada suero fue probado contra seis serovares de *Leptospira* (*canicola*, *hardjo bovis*, *pomona*, *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* y *bratislava*), para la identificación de IgM e IgG específicas frente a cada serotipo estudiado.

Resultados. Los resultados obtenidos muestran 59 % de positivos mediante microaglutinación en el primer muestreo y 17 % en el segundo muestreo, siendo los serovares *icterohemorragiae* y *hardjo bovis* los más prevalentes; por medio de IFI se encontró 100 % de sueros positivos en ambos muestreos para, al menos, uno de los serovares estudiados, con títulos entre 1:64 y 1:512, en el primer muestreo, y una pronunciada disminución en los títulos o títulos negativos, en el segundo muestreo; los serovares más prevalentes por IFI fueron *icterohaemorrhagiae* y *canicola*.

Conclusiones. Se concluye con esta investigación la baja capacidad protectora de esta vacuna, al encontrarse un aumento en el número de animales seropositivos para IgM en el segundo muestreo, frente a algunos de los serovares estudiados, así como también el aumento de los títulos de IgG frente a *icterohaemorrhagiae* en el segundo muestreo y su pobre capacidad de protección de los lechones en sus primeros días de vida, al observarse títulos negativos de ambos tipos de anticuerpos al final de la gestación.

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES POR RICKETTSIAS

Primera prueba serológica de *Rickettsia* sp. del grupo de la fiebre manchada en el departamento del Meta

Jorge Luis Miranda, Liliana Sánchez, Kaira Amaya, Salim Máttar

Universidad de Córdoba, Universidad Cooperativa de Colombia, Ciénaga de Oro, Colombia
jorgemire@hotmail.com

Introducción y objetivos. En Colombia, *Rickettsia rickettsii* es el agente etiológico de la fiebre de Tobia, enfermedad transmitida por garrapatas que produce tasas importantes de morbilidad y mortalidad en poblaciones humanas. En el corregimiento de Pachaquiaro, cerca de Puerto López (Meta), anualmente se presentan entre 50 y 80 casos de fiebres de origen desconocido de diferentes etiologías.

Los síntomas de la rickettsiosis son similares a los de otras infecciones tropicales hemorrágicas, como dengue, salmonelosis, leptospirosis, brucelosis, malaria, hepatitis viral, hantavirus, arenavirus y fiebre amarilla. Debido a esto, muchos casos quedan sin diagnosticar o con un diagnóstico erróneo.

En el departamento del Meta no existen estudios sobre la circulación de *Rickettsia* sp. El objetivo fue detectar anticuerpos contra *Rickettsia* sp. del grupo de las fiebres manchadas en personas del corregimiento de Pachaquiaro, municipio de Puerto López (Meta).

Materiales y métodos. Se analizaron 32 sueros de humanos del corregimiento de Pachaquiaro. Para la detección de anticuerpos IgG, se practicó IFI con antígenos derivados de la cepa Taiãu de *R. rickettsii* de Brasil. Los sueros de humanos fueron diluidos a 1:64.

Resultados. La seroprevalencia contra *Rickettsia* sp. del grupo de la fiebres manchadas fue de 59 % (19 humanos); se encontraron 12 sueros con título de 1:64, 6 sueros con 1:128 y un suero presentó titulación de 1:512.

Conclusiones. En el presente estudio se reporta por primera vez una alta tasa de infección por rickettsia en humanos en el departamento del Meta. Estos hallazgos podrían deberse a la gran exposición de las personas a ectoparásitos o, posiblemente, a la presencia de varias especies de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas.

Es necesario investigar los vectores y alertar a la comunidad médica sobre la circulación de rickettsias y la posible aparición de casos sospechosos. Dado que este es el primer estudio en el Meta, se demuestra que Colombia tiene zonas endémicas de rickettsiosis.

Prueba serológica de *Rickettsia* spp. del grupo de la fiebre manchada en perros (*Canis lupus familiaris*) de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Córdoba

Jorge Luis Miranda, María José Machado, Salim Máttar, Marcelo Labruna

Universidad de Córdoba, Ciénaga de Oro, Colombia
Universidade de São Paulo, São Paulo Brasil
jorgemire@hotmail.com

Introducción y objetivos. Los perros son infectados por varias especies de *Rickettsias* del grupo de las fiebres manchadas; la infección puede cursar con manifestaciones clínicas (casos fatales) o ser asintomática. Los perros juegan un papel importante como huéspedes de las garrapatas, lo que permite el incremento de las poblaciones de garrapatas infectadas. Esta situación aumenta el riesgo de transmisión de rickettsiosis a las personas en estrecho contacto con los caninos infectados.

El objetivo fue determinar la seroprevalencia de *Rickettsia* spp. del grupo de la fiebres manchadas en perros llevados a la Clínica Veterinaria de la Universidad de Córdoba.

Materiales y métodos. Se analizaron 117 sueros de perros que asistieron a la clínica veterinaria entre 2009 y 2010. Para la detección de anticuerpos IgG, se utilizó inmunofluorescencia indirecta con antígenos derivados de la cepa Taiãu de *R. rickettsii* de Brasil. Los sueros de los perros fueron diluidos 1:64.

Resultados. Se encontraron tres (2,5 %) perros con anticuerpos contra *Rickettsia* spp. del grupo de la fiebres manchadas: en un suero se encontraron títulos de 1:64, y dos presentaron títulos de 1:128. Los tres perros seropositivos provenían de zonas rurales del municipio de Montería. Los perros no presentaron sintomatología clínica concordante con la infección por *Rickettsia*.

Conclusiones. En Colombia son pocos los estudios de rickettsiosis en perros, tal vez, por la ausencia de sospecha clínica o difícil acceso de los laboratorios a las pruebas de diagnóstico.

El presente estudio reporta por primera vez la prueba serológica de infección por *Rickettsia* del grupo de las fiebres manchadas en perros del departamento de Córdoba. Los perros pueden servir como centinelas de la infección por rickettsias en zonas endémicas.

Es necesario realizar estudios para establecer la especie de *Rickettsia* circulante en el área y estudiar la población humana para estar alertas y evitar la aparición de nuevos casos de rickettsiosis en Córdoba.

Eco-epidemiologic study of the seroprevalence for *Rickettsia* and *Borrelia* organisms in wild and domestic animals in Rio Doce hydrographic basin, Minas Gerais State, Brazil

Rafael Mazioli Barcelos, Gabriel Guimarães Gomes, Carlos Emmanuel Montandon, Higo Nasser Santana Moreira, Bruno Silva Milagres, Elenice Mantovani, Natalino Hajime Yoshinari, Marcelo Bahia Labruna, Márcio Antonio Moreira Galvão, Claudio Lisias Mafra de Siqueira

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil
mafra@ufv.br

Introduction and objetives. Rickettsiosis and borreliosis are bacterial infectious diseases that have arthropod vectors. Brazilian spotted fever (BSF) is mainly caused by *Rickettsia rickettsii*, which belongs to the spotted fever group. *Borrelia burgadorferi* sensu lato is a complex responsible for Lyme disease.

The objective of this study was to analyze the prevalence of antibodies against these zoonoses in vertebrate hosts to understand the correlation host-parasite infections comparing and evaluating the eco-epidemiological situation in two municipalities located at Rio Doce basin, Minas Gerais State, in Brazil.

Materials and methods. Both areas are considered endemic for BSF. For immune response inquiries, serological tests were carried out using indirect immunofluorescence assay (IFA) for *Rickettsia* spp. and ELISA for *Borrelia burgdorferi* sensu lato in wild (rodents) and domestic animals (dogs and horses).

Results. We collected 307 animals for which 39% (120/307) of hosts were positive against rickettsial antigens. Within positive samples, 65% (78/120) were related to rodents, 13.3% (16/120) to dogs and 21.6% (26/120) to horses. *Borrelia* was verified as occurring in 6.8% (21/307) of the infected hosts. The seropositivity in animals was 19% (4/21) referring to rodents, 42.8% (9/21) to dogs and 38.1% (8/21) to horses.

Conclusions. These results suggest a higher positive correlation of rickettsiosis in the hosts examined for borreliosis, and the occurrence and distribution of etiologic agents among wild and domestic animals. We suggest more investigations about the natural history of these agents for a better understanding of eco-epidemiology for preventing and controlling these diseases in the studied areas.

Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) from Blumenau, southern Brazil

Amalia R. M. Barbieri, Matias P. J. Szabó, Fernanda A. Nieri-Bastos, Julio C. Souza Junior, Marcelo B. Labruna

Faculdade de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
amalia.barbieri@gmail.com

Introduction and objectives. The present study evaluated the rickettsial infection in ticks removed from dogs of a spotted fever endemic area in the Blumenau municipality, in southern Brazil.

Materials and methods. Each of the 125 ticks collected in January 2011 was evaluated for the presence of *Rickettsia*-like structures by the hemolymph test. Eighteen ticks were considered to contain *Rickettsia*-like structures, and were selected for further attempts to isolate rickettsiae by the shell vial technique. Until now, three *Amblyomma ovale* ticks were processed, with rickettsiae being successfully isolated from one of them in Vero cell culture. DNA extraction was performed on the infected cells, and also on remnants of the three ticks processed for rickettsial isolation. DNA samples were tested by polymerase chain reaction

(PCR) targeting fragments of the rickettsial genes *gltA, ompA and ompB*. Two of the tick remnants, and the infected cells from one of these ticks, were shown to contain rickettsial DNA.

Results. The isolate generated *gltA*, *ompA* and *ompB* sequences that were 100% identical to the *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest, which was recently detected in A. ovale ticks and in a eschar of a spotted fever patient in the state of São Paulo (southeastern Brazil), and also in another patient in the state of Bahia (northeastern Brazil).

Conclusions. The typical clinical signs of the disease caused by *R. parkeri* are the presence of eschar at the tick bite site and lymphadenopathy. These signs have been reported in patients that were reported to be infected by a spotted fever agent in Blumenau. Since the diagnosis in these patients relied solely on serological methods, the identification of the Rickettsia species could not be performed. The results obtained in the present work suggest that *R. parkeri* strain Atlantic rainforest could be the etiological agent of spotted fever in Blumenau.

VECTORES DE LAS ENFERMEDADES POR RICKETTSIAS

Molecular detection of Rickettsiae organisms in ticks collected in the area of influence of a hydropower plant in the region of Rio Doce Valley, Minas Gerais State, Brazil

Higo Nasser Santanna Moreira, Edvaldo Barros, Bruno Silva Milagres, Carlos Emmanuel Montandon, Rafael Mazioli Barcelos, Gabriel Guimarães Gomes, Natasha Lagos Maia, Nayra Fernandes Santos, Cláudio Lisias Mafra

Universidade Federal de VIçosa, Viçosa, Brasil
mafra@ufv.br

Introduction and objectives. Brazilian spotted fever (BSF), the major hemorrhagic disease caused by rickettsiae organisms in Brazil, is transmitted primarily by *Amblyomma* ticks, widely distributed in the southeastern region of this country.

The aim of this study is to detect by PCR approach, the presence of BSF group rickettsiae in ticks using the nested-PCR approach in ticks collected in a disturbed area due to the hydroelectric plant in Rio Doce basin, Minas Gerais State, in Brazil.

Materials and methods. We collected 955 ticks from the environment and animals (five dogs and four horses) that were organized into 33 lots, according to origin, species and stage of development. The samples were tested with primers 17K3 (forward) and 17K5 (reverse) for a second amplification reaction, and respectively, 17K1 and 17K2, for a second reaction, specific for the gene encoding the antigen of 17kDa. The result of these reactions was seen in 1.5% agarose gel, photographed and analyzed.

Results. In the ticks collected from the environment, the most common was the *Amblyomma* genus. In animals, adults of *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*, and larvae of the genus *Ixodes* were found. Seven lots (21.2%) were positive for rickettsiae organisms from the spotted fever group, being one of these collected from the environment (*Amblyomma* genus) and the others obtained from three horses (two *A. cajennense* and two *R. microplus* ticks) and two dogs (2 *R. sanguineus* ticks).

Conclusions. We concluded that spotted fever group rickettsiae are circulating in the region, with a possibility of *A. cajennense*, *R. microplus* and *R. sanguineus* ticks to be acting as vectors.

DIAGNÓSTICO Y OTROS

Serologic profile of Brazilian spotted fever patients from two Brazilian states to antigens of six *Rickettsia* species that occur in Brazil

Matias Szabo, Fabiana Santos, Silvia Colombo, Elvira Nascimento, Jonas Moraes-Filho, Rodrigo Angerami, Marcelo Labruna

Universidade de São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, Superintendência de Controle de Endemias, Coordenadoria de Vigilância em Saúde, Estado de Sâo Paulo Brasil
labruna@usp.br

Introduction and objectives. The immunofluorescence assay (IFA) of paired human sera samples, collected at 14 day intervals and tested for seroconversion against *Rickettsia rickettsii* antigens has been the most used method for confirmation of Brazilian spotted fever (BSF) infection. During routine diagnostic procedures of the Instituto Adolfo Lutz of São Paulo State, in Brazil, 29 BSF cases (13 from the São Paulo State, 16 from the Santa Catarina State) were confirmed by seroconversion to *R. rickettsii* antigens.

Materials and methods. We tested these sera by IFA to endpoint titers to six rickettsia antigens: *R. rickettsii, R. parkeri, R. amblyommii, R. rhipicephali, R. bellii,* and *R. felis.*

Results. All 29 patients presented a four-fold increase of IgG titers to at least one *Rickettsia* species. Patients from both São Paulo and Santa Catarina states displayed similar serologic profiles, with the convalescent serum sample showing high endpoint titers to basically all six rickettsial antigens.

Conclusions. Interestingly, BSF patients from São Paulo generally presented severe illness, usually associated with severe hemorrhagic manifestations, but without lymphadenopathy. Contrastingly, BSF patients from Santa Catarina presented a mild febrile disease, usually accompanied by lymphadenopathy, suggesting that different agents are causing spotted fever in these two states. *Rickettsia rickettsii* has been confirmed to infect some of the patients from São Paulo by molecular methods. While no *Rickettsia* species was detected in patients from Santa Catarina, ticks collected in endemic areas of that state were recently shown to be infected by *R. parkeri* strain Atlantic rainforest, suggesting that this rickettsia is the etiological agent of spotted fever in Santa Catarina. In any case, the present study shows that the spotted fever of both São Paulo and Santa Catarina are serologically undifferentiated.

Real time PCR in serum samples: a potential tool for diagnosis of fatal human cases of spotted fever?

Fabiana Santos, Roosecelis Brasil, Elvira Nascimento, Gizelda Katz, Rodrigo Angerami, Silvia Colombo, Eliana Souza, Marcelo Labruna, Marcos Silva

Instituto Adolfo Lutz, Superintendência de Controle de Endemias, Coordenaria de Vigilância em Saúde do estado de São Paulo, Universidade de São Paulo, Instituto de Infectologia Emílio Ribas Brasil
labruna@usp.br

Introduction and objectives. Brazilian spotted fever (BSF) is frequently associated with a severe clinical course and a high case-fatality rate. The early diagnosis of BSF during the acute phase is a challenge, especially in fatal cases, when SFG antibodies are not detectable.

Rickettsia isolation by cell culture and immunohistochemistry (IHC) are both useful techniques; however, these methods are not currently used because specimens are not always available.

The aim of the present study was to compare the results of IHC in autopsy specimens, and real-time PCR in serum samples, for the diagnosis of BSF among fatal cases.

Materials and methods. 32 suspected cases of fatal BSF investigated during 2010 were selected. Autopsy specimens were tested by (IHC) assay with immunoperoxidase staining in order to detect *Rickettsia* spp. DNA extraction was conducted with 200 µL of patient serum using PureLink Viral RNA/DNA, Invitrogen, and extraction quality was verified by amplification of a constitutive human gen (RNAse P). Two protocols of real time PCR were used: one *Rickettsia*-genus specific (citrate synthase gene, by TaqMan probe detection), and another for specific detection of spotted fever group rickettsiae (*OmpA* gene, by SYBR green detection).

Results. IHC assay detected 11 positive cases, which were all positive by real-time PCR in their respective serum samples. 19 cases were negative by IHC and real-time PCR, while 2 cases were

positive only by real-time PCR. There was a 93.6% result concordance between the two methods.

Conclusions. Our results show that real-time PCR in serum sample is an important molecular tool for BSF diagnosis among fatal cases and could be used when autopsy specimens are not available.

Rickettsiosis: informe de un caso

Solmara Bello, Flor Rodríguez, María Elena Realpe

Grupo de Microbiología, Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia
sbello@ins.gov.co

Introducción y objetivos. En Colombia se ha reportado la presencia de rickettsiosis en diferentes municipios (Villeta, Ciénaga de Oro, Urabá, Necoclí, etc.); sin embargo, la situación real de la enfermedad es desconocida en gran parte del territorio nacional, por la difícil diferenciación clínica entre la rickettsiosis y otras enfermedades febriles agudas durante los primeros días de inicio de la enfermedad.

Caso clínico. Se presenta el caso de un niño de 12 años procedente de Mariquita (Tolima) con el antecedente de haber estado en una finca cafetera y en contacto con ganado en un municipio de Santander.

Acudió el 4 enero de 2011 al centro de salud con cuadro febril agudo de 18 días de evolución, malestar general, astenia, fiebre de 40 °C, cefalea y dolor torácico. El paciente fue tratado con 2 g diarios de ceftriazona por 14 días.

Reingresó el 15 enero de 2011 a la unidad de cuidados intensivos con choque compensado, dolor abdominal, muscular y de tórax, y aparición de petequias en los miembros inferiores asociada a hemorragia.

Se le solicitaron exámenes de laboratorio: cuadro hemático, en el que se observó anemia leve y trombocitopenia; transaminasas elevadas.

Se hicieron pruebas para el diagnóstico de síndromes febriles: la prueba de inmunofluorescencia indirecta IgM para *Rickettsia rickettsii* mostró títulos mayores de 1:1.040 en la primera y la segunda muestra, y la de IgG, títulos de 1:128 para la primera y de 1:256 para la segunda muestra. El examen para leptospirosis por la técnica de microaglutinación demostró un título de 1:100 para *Leptospira australis* en la primera y la segunda muestra, lo que sugirió la presencia de anticuerpos de memoria. El examen para dengue fue negativo. Se le dio tratamiento con dipirona, acetaminofén, lactato de Ringer y doxiciclina, y se obtuvo mejoría.

Conclusiones. Se hizo diagnóstico de rickettsiosis ocasionada por *R. rickettsii*. La fiebre manchada debe ser considerada por los médicos clínicos entre los síndromes febriles con ictericia, en la población expuesta a garrapatas y se debe tener en cuenta como una enfermedad emergente con alta letalidad.

Contribución al estudio de ehrlichiosis y anaplasmosis humana en Venezuela

Ismar A. Rivera-Olivero, Rosalba M. Moros, Marta Cardona

Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, Caracas, Venezuela
rosalbamor_sa@hotmail.com

Introducción y objetivos. La ehrlichiosis y la anaplasmosis humana son zoonosis causadas por varios miembros del género *Ehrlichia* y *Anaplasma*, como *Ehrlichia chaffeensis*, y *Anaplasma phagochytophilum*, entre otras. Estas enfermedades están incluidas en los síndromes febriles ictérico-hemorrágicos. En Venezuela se ha difundido la utilización del diagnóstico morfológico y existen muy pocos reportes en los que se utilice la prueba de referencia de inmunofluorescencia indirecta (IFI), PCR o ambas.

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia mediante IFI y confirmar los pacientes positivos por PCR.

Materiales y métodos. Entre 2003 y 2011 se evaluaron 406 sueros de pacientes provenientes de diferentes estados del país que ingresaron con diagnóstico de síndrome febril ictérico-hemorrágico en el Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel.

Se utilizó la IFI para detectar anticuerpos IgM e IgG contra *E. chaffeensis* y *A. phagochytophilum*, usando antígenos de Focus. El ADN se extrajo mediante columnas Qiagen y se practicó la PCR con los iniciadores basados en secuencias de 16SrRNA y GroEL para *E. chaffeensis* y el gen *rrs* y *msp2* de *A. phagocytophilum.*

Resultados. De los pacientes evaluados mediante IFI, 7 % (29/409) fueron positivos. En 2,5 % y 1,5 % de los pacientes se encontraron anticuerpos

IgG e IgM contra *E. chaffeensis*, y en 3,75 % y 0,5 %, anticuerpos contra *A. phagocytophilum* IgG e IgM, respectivamente. Además, se detectaron dos casos de ehrlichiosis y cuatro anaplasmosis. De los pacientes positivos, 80 % tenía el antecedente de picadas de garrapatas, una mascota parasitada con este artrópodo o ambas cosas. Las manifestaciones clínicas más frecuentes en 65 % de los individuos positivos, fueron: fiebre, cefalea, artralgias, mialgias y decaimiento.

Conclusiones. Llama la atención el pequeño porcentaje de positivos obtenidos mediante IFI en este grupo de pacientes de varios estados del país, en comparación con los datos reportados previamente utilizando otras pruebas diagnósticas. Es importante confirmar el diagnóstico con la prueba de PCR en los pacientes positivos y en algunos negativos con antecedentes epidemiológicos.

Detección de rickettsiosis humana en Venezuela

Rosalba M. Moros, Marta N. Cardona, Ismar A. Rivera-Olivero

Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, Caracas, Venezuela
rosalbamor_sa@hotmail.com

Introducción y objetivos. Las rickettsiosis son enfermedades zoonóticas, producidas por diferentes especies de bacterias intracelulares del género *Rickettsia*. En Venezuela existe escaso conocimiento de estas enfermedades, incluidas entre los síndromes febriles íctero-hemorrágicos. Se identificaron como emergentes mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en casos de síndrome febril íctero-hemorrágicos de etiología desconocida. El diagnóstico serológico es difícil en la fase aguda de la enfermedad, al igual que definir si son infecciones recientes o pasadas.

El objetivo del presente estudio fue determinar mediante IFI la casuística, así como confirmar los casos de rickettsiosis por PCR.

Materiales y métodos. Entre 2002 y 2009 se procesaron 517 muestras de sueros de pacientes humanos con síndrome febril íctero-hemorrágico o con epidemiología sugestiva, de diferentes estados del país, que resultaron negativas en el diagnóstico diferencial, que incluía leptospirosis, dengue y hepatitis.

Se utilizó la técnica de IFI para detectar anticuerpos IgM e IgG contra bacterias de los grupos *typhi* y fiebres manchadas (Focus). El ADN se extrajo de las células blancas y plasma de los pacientes mediante columnas Qiagen. Se hizo la prueba PCR con los iniciadores basados en secuencias de 16SrRNA, *groEL*, *ompB* y *ompA.*

Resultados. Mediante la prueba IFI se detectaron 21,66 % de casos de rickettsiosis, del grupo *typhi* y grupo fiebres manchadas, en similar proporción. Además, 9,67 % presentó anticuerpos IgG, principalmente en el segundo grupo. Las manifestaciones clínicas más frecuentes en los casos de rickettsiosis fueron: síndrome hemorrágico, cefalea, adenopatías, derrame pleural, fiebre, mialgias, ictericia y hepatomegalia.

Conclusiones. La gran cantidad de resultados positivos para rickettsiosis indica que podría constituir un problema de salud pública en Venezuela. La aplicación de la PCR representará un aporte importante para ampliar el conocimiento de estas enfermedades en el país e identificar las especies mediante biología molecular. Esta es la primera prueba de casos comprobados de rickettsiosis en Venezuela, mediante IFI y PCR.

Primer reporte del aislamiento y la caracterización molecular de *Rickettsia amblyommii* y *Rickettsia felis* en Centroamérica

Laya Hun-opfer, Adriana Troyo, Lizeth Taylor, Amalia Barbieri, Marcelo Labruna

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica
mayra.taylor@ucr.ac.cr

Introducción y objetivos. *Rickettsia rickettsii* fue identificada como la causa de cuadros de fiebres manchadas en Costa Rica desde los años 1950. Sin embargo, no se cuenta con un estudio ecológico que permita identificar los vectores responsables. Recientemente, a nivel mundial se han reportado casos humanos de rickettsiosis producidos por especies no descritas previamente o especies que no se consideraban patógenas y, en Costa Rica, se presentaron casos graves y fatales durante el último año.

El objetivo fue obtener aislamientos de especies de *Rickettsia* detectadas en ectoparásitos

hematófagos, para su reporte y respectiva caracterización molecular.

Materiales y métodos. Se procesaron 15 garrapatas adultas y 7 pulgas de tres regiones de Costa Rica (Cahuita, Turrialba y San José) por PCR del gen de la citrato sintetasa (*gltA*). Tres de ellas fueron procesadas para cultivo en monocapas de células Vero y C6/36. El cultivo se examinó cada tres días por tinción de Gimenez e inmunofluorescencia con anticuerpo contra *R. rickettsii*. El sobrenadante de los cultivos se analizó, además, por PCR para los genes *ompA* y *ompB*. Las muestras positivas en cultivo se secuenciaron en el *Genetic Analyzer* 3130™ (*Applied Biosystems*/Hitachi). Las secuencias se editaron y analizaron con BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Resultados. Las 15 garrapatas fueron clasificadas como *Amblyomma cajennense* y, las siete pulgas, como *Ctenocephalides felis*. De las quince garrapatas, 10 (66,7 %), resultaron infectadas con alguna especie de rickettsia (positivas para *gltA*). Por secuenciación de los fragmentos de los tres genes utilizados, se logró identificar *Rickettsia amblyommii* en los cultivos de garrapatas y *Rickettsia felis* en los de las pulgas.

Conclusiones. Este es el primer reporte de aislamiento y caracterización de estas especies de rickettsias en Centroamérica. Por la abundancia de estas garrapatas y pulgas en Costa Rica y el alto porcentaje de infección con rickettsias encontrado en las mismas, se hace indispensable evaluar su papel como vectores en la transmisión y la producción de casos clínicos humanos o caninos de rickettsiosis.

Estudio morfológico de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) provenientes de perros domésticos de los departamentos de Antioquia y Sucre, Colombia

Eduar Elías Bejarano, Gonzalo Abril, Margaret Paternina-Gómez, Luis Enrique Paternina

Grupo de Investigaciones Biomédicas,
Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia
luispaternina@yahoo.com

Introducción y objetivos. *Rhipicephalus sanguineus* es una garrapata cosmopolita de origen africano que se considera un importante vector de enfermedades por rickettsias. Esta garrapata afecta principalmente a perros domésticos y pertenece a un grupo de especies morfológicamente similares denominado "grupo *Rhipicephalus sanguineus*", del cual se han descrito dos morfotipos base en América: el morfotipo brasilero y el morfotipo argentino.

El objetivo del presente trabajo fue determinar morfológicamente el morfotipo americano al cual pertenecen las garrapatas de esta especie recolectadas en perros del área urbana de Medellín y en áreas rurales de los municipios de Sampués, Ovejas y Sincelejo, del departamento de Sucre, Colombia.

Materiales y métodos. Sesenta y tres especímenes de Medellín y 90 provenientes del departamento de Sucre (se recolectaron larvas, ninfas y adultos en ambos departamentos), fueron estudiados preliminarmente mediante esteremicroscopía a 100X; luego, cuatro adultos (hembras y machos) de cada departamento fueron metalizados en oro para la fotodocumentación mediante microscopía electrónica de barrido en un equipo JEOL JSM-5910LV SEM™. Los especímenes utilizados se encuentran depositados en el Museo Entomológico Francisco Luis Gallego de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

Resultados. El estudio de microscopía electrónica de barrido permitió tipificar a todas las garrapatas estudiadas como pertenecientes al morfotipo base "brasilero", lo cual tiene grandes consecuencias epidemiológicas debido a que exhiben una gran capacidad de reproducción, lo que implica un mayor potencial epidémico en la transmisión de *Rickettsia* spp.

Conclusiones. Además de esta información suministrada por la morfología, se requieren estudios de bionomía, infección natural por *Rickettsia* spp. y genética de poblaciones de *R. sanguineus*, para determinar el riesgo real de adquirir rickettsiosis por estas garrapatas en Colombia.

Detección y evaluación de las proteínas antigénicas de *Anaplasma platys* en perros con infección natural y experimental

Omaira Parra, Arraga Cruz, Rafaela Muñoz, Ana Urdaneta, Fanny Gallardo, Gibson Fernández, María Rodríguez

Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Investigaciones Clínicas, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela
omaira.parra@fcv.luz.edu.ve

Introducción y objetivos. *Anaplasma platys* es una rickettsia plaquetaria causante de la trombocitopenia cíclica infecciosa canina.

El objetivo del estudio fue determinar las proteínas antigénicas de *A. platys* y la especificidad del organismo.

Materiales y métodos. Se obtuvieron cepas de *A. platys* de perros que fueron llevados a la consulta de la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia. Las cepas se inocularon en seis perros serológicamente negativos para *A. platys*, *Ehrlichia canis* y *Babesia canis*. Cuando la parasitemia alcanzó su máximo pico, se recolectaron 100 ml de sangre para estudios de hematología y serología, y separar plasma rico en plaquetas infectadas. Este plasma se separó por sonido, y suspendido en PBS, y colocado en una columna de *Sephacryl* S-1000, para obtener el organismo *A. platys* libre de restos celulares. Las proteínas de *A. platys* se sometieron a electroforesis en un gel de poliacrilamida al 10 % (SDS PAGE) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (0,45 nm).

Resultados. Una proteína antigénica de 58 kDa se expresó en todos los perros inoculados; dos perros expresaron tres proteínas adicionales (48, 66 y 102 kDa) y otros seis proteínas adicionales (31, 40, 48, 46,79 y 102 kDa). Varios perros que mostraban estructuras intraplaquetarias parecidas a *A. platys* no expresaron proteínas, lo que sugería que pudieran ser restos de núcleos de megacariocitos. La proteína de 58 kDa se obtuvo en la fase aguda y crónica de la enfermedad. Los animales experimentales no presentaron signos clínicos, sólo trombocitopenia, durante el estudio.

Conclusiones. *Anaplasma platys* expresa una proteína inmunogénica de 58 kDa independiente del tiempo de infección. Este es el primer reporte en Latinoamérica sobre los constituyentes antigénicos de *A. platys*.