

## Transmisión de la enfermedad de Chagas congénita en zonas sin transmisión vectorial en las ciudades de La Paz y El Alto, Bolivia, 2009-2010

Adriana Claudia Miranda  
Instituto Nacional Laboratorios en Salud, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia

**Introducción.** En América Latina, la enfermedad de Chagas es el problema de salud pública más importante y su lucha es un desafío. La identificación de esta enfermedad como una prioridad sanitaria de Bolivia ha permitido incorporarla al Plan Estratégico de Salud (PES) del Ministerio de Salud y Deportes; este plan prioriza dentro del escudo epidemiológico.

En la situación actual de Bolivia es necesario considerar que la forma de transmisión transplacentaria adquiere progresiva relevancia, como una fuente continua de transmisión que no puede ser prevenida, mientras la transfusión vectorial y por transfusiones están siendo controladas en forma progresiva. Por otro lado, el tratamiento precoz del niño infectado aumenta las probabilidades de curación parasitológica y serológica, evitando posteriores secuelas.

### Materiales y métodos

#### Materiales biológicos:

Muestras de sangre de cordón umbilical del recién nacido recolectadas en tubo *vacutainer* de 5 ml con EDTA.

Muestras de sangre periférica tomadas del talón del recién nacido recolectadas en cuatro tubos capilares con heparina y tubo *microtainer*.

#### Métodos:

##### Determinación de IgG:

Técnica ELISA, *Trypanosoma cruzi* IgG: es una ELISA utilizada para la detección de anticuerpos específicos IgG anti- *T. cruzi* en suero humano.

Técnica de hemaglutinación indirecta: es una prueba que consiste en la suspensión estabilizada de hematíes de carnero sensibilizados con antígeno de *T. cruzi*, los cuales se aglutinan en presencia de diluciones de sueros humanos que contengan anticuerpos específicos.

Técnica del tubo capilar (micrométodo): es una técnica de concentración de parásitos, basada en

la estratificación de las células sanguíneas según su densidad por acción de la fuerza centrífuga. La búsqueda de parásitos se efectúa en la interfaz entre los glóbulos blancos y el plasma, con la ayuda de un microscopio.

**Resultados.** Se determinaron los anticuerpos IgG anti- *T. cruzi* por ambas técnicas: ELISA y hemaglutinación indirecta, en los hospitales Materno Infantil, Mujer y Corea, en el período 2009-2010, y se obtuvo una frecuencia de 1,4 %. Según el resultado del microhematocrito de los recién nacidos y los informes de los hospitales, en el periodo 2009 a 2010 la tasa de transmisión vertical fue de 9,7 % en todos los hospitales.

*Resultados de la regresión logística de las preguntas del cuestionario relacionadas con la serología reactiva para Chagas.* Con el modelo se analizaron 6.915 mujeres, con información completa.

Las variables siguientes no se retuvieron en el modelo final, por ser no significativas:

1. ¿Conoce la enfermedad de Chagas? p=0,89
2. ¿Recibió transfusión sanguínea? p=0,84
3. ¿Viajó? p=0,61
4. Hospital de diagnóstico p=0,45

Pregunta	odds ratio	p>z	lc <sub>95%</sub>
¿Tiene enfermedad de Chagas ?	39,1	<0,001	13,0-117,3
¿Sabe si tiene alguna enfermedad cardíaca o digestiva?	2,3	0,02	1,1-4,5
¿Nació en región endémica para enfermedad de Chagas?	4,3	<0,001	2,7-7,1
¿Estuvo menos de un mes en región endémica?	1,8	0,02	1,1-2,8

**Conclusión.** Se recolectaron 11.276 muestras provenientes de los tres hospitales del estudio, con un universo esperado de 13.715 madres; se encontró una tasa de infección materna de 1,4 % en región sin vector. En el caso de los resultados de la transmisión congénita de *T. cruzi*, se observa que la tasa de transmisión vertical alcanza el 9,7 % (IC<sub>95%</sub> 4,5-17,5), semejante a la media de regiones endémicas, que es de 6 %.

Las preguntas anteriores permiten suponer una fuerte probabilidad de encontrar casos verdaderos de enfermedad de Chagas. Estos resultados muestran que para un sistema de tamización por

cuestionario se pueden usar únicamente estas cuatro preguntas para discriminar los casos probables de enfermedad de Chagas en una región sin transmisión vectorial.



### **Efecto sobre las concentraciones de tioles (glutati6n y cisteína) y la formación de $\beta$ -hematina de compuestos aislados de *Solanum nudum* (solanaceae) y actividad anti-*Plasmodium* de sus derivados**

Adriana Pab6n  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducci6n.** De la planta *Solanum nudum* Dunal se han aislado una sapogenina esteroidea (diosgenona) y cinco an6logos estructurales con actividad anti-*Plasmodium in vitro* y sin capacidad mut6gena, que presentan como característica estructural el sistema 4-en-3-ona similar a la progesterona. Estos hechos refuerzan e impulsan estudios para conocer la forma como los esteroides destruyen a los parásitos, su selectividad, la especificidad de estadio parasitario, la interacci6n con medicamentos convencionales y, tambi6n, para conocer los aspectos estructurales y funcionales involucrados en la acci6n antipalúdic. Todos estos son pasos importantes para elucidar su modo de acci6n y mejorar su perfil farmacol6gico.

**Materiales y métodos.** El efecto de los esteroides de *S. nudum* sobre las concentraciones de los tioles totales, se evalu6 en cultivos de *Plasmodium falciparum*. Se evalu6 su capacidad de inhibir la cristalizaci6n de la de  $\beta$ -hematina. Al SN-1 se le busc6 el estadio de *Plasmodium* m6s sensible y se combin6 con medicamentos convencionales. Por último, se hicieron modificaciones en los grupos funcionales de los esteroides y a los m6s activos se les valor6 su efecto terapéutico *in vivo*.

**Resultados.** Se encontr6 que los eritrocitos parasitados tratados con los esteroides tenían m6s glutati6n total (T-GSH), en relaci6n con los eritrocitos no parasitados ( $p < 0,005$ ). El SN-1 disminuy6 significativamente la concentraci6n de T-GSH en los eritrocitos sincronizados en anillos ( $p = 0,000$ ), pero increment6 el contenido de T-GSH en comparaci6n con el control sin tratamiento ( $p = 0,000$ ). El SN-1 inhibi6 la cristalizaci6n de la  $\beta$ -hematina por encima de 80 % y el trofozoíto joven fue el estadio m6s sensible. Tambi6n se encontr6 un efecto sinergista para la combinaci6n de SN-1 con cloroquina y quinina. Por último, se encontr6

pérdida de la actividad anti-*Plasmodium* cuando se modificaba el sistema 4-en-3-ona en los derivados. Se consigui6 actividad anti-*Plasmodium in vitro* mejor que la diosgenona e, *in vivo*, se obtuvieron porcentajes de inhibici6n de la parasitemia mayores de 30 %.

**Discusi6n.** Los esteroides de *S. nudum* afectan el contenido de los tioles en cultivos de *P. falciparum*. En estas primeras exploraciones encaminadas a establecer la relaci6n entre la estructura y la actividad, se puede sugerir que el grupo carbonilo es necesario para la actividad antipalúdic de los esteroides naturales.



### **Signos de peligro en el paciente con malaria: valor pron6stico de signos clínicos y parasitol6gicos**

Alberto Tob6n  
Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducci6n.** Los pacientes con malaria pueden presentar complicaciones clínicas con alto riesgo de muerte. Este desenlace se relaciona con las dificultades de acceso a la atenci6n sanitaria y con la deficiente calidad de esta atenci6n. Una posible vía para causar un impacto sobre la morbilidad grave y la mortalidad, sería integrar al diagn6stico y al tratamiento de la malaria, el reconocimiento precoz de las complicaciones clínicas, lo que puede lograrse aplicando un protocolo para reconocimiento de signos de peligro.

Este protocolo debe basarse en la utilidad de los signos clínicos y parasitol6gicos en el pron6stico, y centrarse en aquellos que sean f6cilmente reconocibles por personal sanitario no m6dico, ya que m6s del 95 % de los diagn6sticos de malaria en Colombia lo hacen los microscopistas.

Este estudio aporta al conocimiento clínic de la malaria en zonas de endemia baja y transmisi6n inestable, y es un primer estudio sobre el tema en estas zonas.

**Materiales y métodos.** El objetivo fue conocer el valor de los signos clínicos y parasitol6gicos en el pron6stico de gravedad. El diseño del estudio fue de cohorte prospectiva con pacientes con malaria por *Plasmodium vivax* o *P. falciparum*, en cinco municipios de la Costa del Pacífico y Urabá colombianos. Las complicaciones se identificaron mediante criterios mayores (Organizaci6n Mundial de la Salud) y menores de gravedad.

**Resultados.** Se evaluaron 730 pacientes. Las complicaciones mayores diagnosticadas fueron: disfunci6n hepática, anemia grave, trombocitopenia

grave y malaria cerebral; y las menores, disfunción hepática, anemia, trombocitopenia, disfunción renal, hipoglucemia y alteración neurológica. Se identificaron como signos de peligro la ictericia, la orina oscura, la hiperpirexia, los signos de deshidratación, los signos neurológicos, los signos respiratorios, el vómito a repetición, la hiperparasitemia, el dolor abdominal y la palidez.

**Conclusión.** Se identificaron los signos asociados con complicaciones. El mejor modelo de regresión incluye seis signos de peligro. Se propone una estrategia de reconocimiento de signos de peligro en los pacientes con malaria, que se acompañe de otros elementos de la atención, como el suministro de un tratamiento antipalúdico adecuado y oportuno.

• • •

### Concordancia de la necesidad de hospitalización por dengue de pacientes pediátricos, con la nueva guía de clasificación de la Organización Mundial de la Salud

Alfredo S. Linero, Margarita M. Velasco, Lissette Chan, Gonzalo Guerra  
Universidad Libre, Cali, Colombia

**Introducción.** La clasificación y protocolo del dengue han sido muy cuestionados. En el 2008 surgió el estudio internacional DENCO (*Dengue Control*) cuyo objetivo fue encontrar una mejor forma de clasificar la enfermedad y la necesidad de hospitalización de los pacientes con diagnóstico de dengue.

**Objetivo.** Analizar la concordancia en la necesidad de hospitalización de los pacientes pediátricos entre la anterior clasificación del dengue y la nueva propuesta de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio descriptivo y retrospectivo en el que se incluyeron 104 historias clínicas de pacientes hospitalizados con diagnóstico clínico de dengue; se hizo un análisis de concordancia que consistió del índice Kappa, porcentaje de acuerdo entre positivos y porcentaje de acuerdos entre negativos.

**Resultados.** De los pacientes con diagnóstico de dengue clásico, 30,2 % (26) no cumplían con los criterios necesarios para su clasificación según el anterior protocolo, al igual que 33,3 % (6) de aquellos con diagnóstico de fiebre hemorrágica dengue. Siguiendo el protocolo anterior, 17,3 % (18) no cumplían criterios para manejo hospitalario. Según la nueva propuesta de la OMS, 35,6 % (37) serían clasificados como “dengue sin signos

de alarma” y, siguiendo el esquema de manejo de la nueva propuesta, estos pacientes pueden ser manejados en casa, lo cual sugeriría que no requerían hospitalización. Se obtuvo un índice kappa bajo ( $K=0,22$ ), un porcentaje de acuerdo entre positivos de 0,52 y un porcentaje de acuerdo entre negativos de 0,25, lo que sugería una baja concordancia de los criterios para la hospitalización de los pacientes entre los dos protocolos.

**Conclusión.** El valor bajo del índice kappa se explica por la presencia de concordancia esperada por el azar y sugiere que se requiere una revisión detallada de casos que identifiquen factores causales de discordancia para subsanarlos y generar resultados congruentes que orienten la toma de decisiones acertadas. El gran número de pacientes que no cumplían con los criterios de hospitalización al aplicarse los dos protocolos, propone que aún hay dificultades para clasificar adecuadamente los casos de dengue que requieren hospitalización. Asimismo, permite considerar la realización de futuros trabajos de investigación sobre el tema que identifiquen los signos y síntomas que, en la práctica, motivan al médico a hospitalizar a un paciente.

• • •

### Acción de la glibenclamida en *Leishmania* spp.: estudios genéticos y resistencia

Andrea Orué  
Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela e Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela

**Introducción.** La leishmaniasis es una enfermedad causada por parásitos del género *Leishmania*. El tratamiento de esta enfermedad consiste en el uso de antimoniales pentavalentes, muy tóxicos, de mecanismo de acción desconocido y con gran frecuencia de desarrollo de resistencia.

La evaluación antileishmanicida de nuevos fármacos con mecanismos de acción conocidos en otros organismos, resulta importante, por ejemplo, la glibenclamida, una sulfonilurea con mecanismo de acción conocido. Hemos demostrado el efecto antileishmanicida del fármaco y la selección de líneas de parásitos resistentes.

El objetivo de este trabajo fue el estudio del fenotipo de resistencia a glibenclamida, en un aislamiento venezolano de *Leishmania* (*L.*) *mexicana* y el potencial uso de este medicamento en la leishmaniasis cutánea.

**Materiales y métodos.** Se evaluó un tratamiento combinado de glibenclamida y glucantime en

infecciones de ratones Balb/c, causadas por *L. (L.) mexicana* y aislamientos de leishmaniasis difusa, respectivamente. El tratamiento y la medición de las lesiones se hicieron diariamente.

Asimismo, se compararon los mapas proteómicos de promastigotes de *L. (L.) mexicana* sensible y resistente a glibenclamida, mediante electroforesis en dos dimensiones y análisis de MALDI-TOF. Igualmente, se evaluó *in silico* la presencia de genes asociados al mecanismo de acción de la glibenclamida en los genomas de *Leishmania* spp.

**Resultados.** El tratamiento combinado de glucantime y glibenclamida resultó efectivo en las lesiones experimentales de leishmaniasis cutánea. El mecanismo de acción de la glibenclamida en *Leishmania* spp. es desconocido; el gen que actúa como blanco en humanos no está presente en el genoma del parásito. El estudio comparativo de los perfiles proteómicos de *L. (L.) mexicana* sensible y resistente, mostró diferencias cualitativas y cuantitativas. Se relacionaron proteínas con el fenotipo de resistencia a glibenclamida.

**Conclusión.** Las proteínas identificadas en el fenotipo resistente fueron: enolasa, transportadores y nucleósido bisfotato-cinasa, entre otras.

• • •

### Clonación y caracterización bioquímica de la galactocinasa de *Trypanosoma cruzi*

Ángel Lobo, Ana Cáceres, Juan Luis Concepción  
Laboratorio de Enzimología de Parásitos, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

**Introducción.** *Trypanosoma cruzi* es el agente causante de la tripanosomiasis americana. Se estima que existen alrededor de 7,7 millones de personas infectadas, por lo que se considera un problema de salud pública.

*Trypanosoma cruzi* está cubierto por un glucocálix compuesto de glucolípidos y glucoproteínas unidas a GPI ricos en galactosa. El primer paso del metabolismo de la galactosa es catalizado por la galactocinasa (Galk), que fosforila el primer carbono de este monosacárido usando ATP.

**Materiales y métodos.** En el genoma de *T. cruzi* se identificaron dos genes que putativamente codifican para la galactocinasa (Galk120 y Galk110); ambos fueron clonados mediante PCR usando "oligos" específicos para cada uno y, a partir del ADN genómico del parásito, fueron secuenciados y subclonados en el vector pET28a. Las dos proteínas recombinantes se expresaron en la bacteria *Escherichia coli*, cepa BL21, y se purificaron a homogeneidad mediante

una cromatografía de unión a metales (IMAC). Se determinaron las constantes  $k_m$  y  $V_{max}$  para galactosa y ATP, y se determinó la localización subcelular en epimastigotes de *T. cruzi* mediante centrifugación diferencial y permeabilización selectiva con digitonina.

**Resultados.** Las secuencias de aminoácidos de las dos galactocinasas comparten un porcentaje de identidad de 53 % y presentan una señal de importación al glucosoma PTS-1, ubicación subcelular que fue comprobada en el estadio de epimastigote. Ambas Galk poseen un peso molecular de alrededor de 51 kDa, aunque presentan diferentes puntos isoeléctricos (pI) de 8,11 para Galk120 y de 6,99 para Galk110. La Galk120 se expresó insoluble, mientras que la Galk110 fue parcialmente soluble, y para esta última se determinaron los valores de  $k_m$  para galactosa y ATP, 100  $\mu$ M y 350  $\mu$ M, respectivamente.

**Conclusión.** Los epimastigotes de *T. cruzi* expresan ambos genes Galk y las galactocinasas se encuentran en el glucosoma; esta enzima podría intervenir en la producción de UDP-galactosa, sustrato de las galactosil-transferasas.

• • •

### Evaluación de la proteína recombinante p20, semejante a una calpaína, como antígeno en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en fase crónica

Annie Castillo, Alfredo Mijares, Juan Luis Concepción,  
José David Rosales  
Instituto Venezolano de Estudios Avanzados, Miranda,  
Venezuela

**Introducción.** Los marcadores cardíacos son sustancias liberadas hacia la sangre cuando se produce un daño al corazón. De los pocos utilizados, el marcador de elección es la troponina. Otros marcadores cardíacos son menos específicos de lesión cardíaca y pueden aumentar, también, en lesiones o enfermedades del músculo esquelético, y en enfermedades hepáticas o renales. Sin embargo, estos marcadores no son útiles en el seguimiento de la evolución de la cardiopatía de la enfermedad de Chagas que, a medida que progresa la enfermedad, compromete la actividad cardíaca. Esto ocurre en 20 a 30 % de los afectados. A pesar de varios intentos de grupos de investigación, los resultados no han sido alentadores; hace falta la búsqueda y estandarización de este tipo de biomarcador para poder determinar a qué pacientes se les aplicará el tratamiento. Las proteínas *calpain*-

*like* (CALP) son proteínas atípicas y son frecuentes en todos los eucariotas inferiores. Algunas de estas proteínas poseen cambios en su sitio catalítico y están acompañadas del sitio de unión de calcio o no lo están. Este trabajo de investigación demuestra el uso de la *calpain-like* de *T. cruzi* en el reconocimiento serológico de las diferentes formas clínicas de la enfermedad de Chagas.

**Materiales y métodos.** Todos los reactivos son de grado biología molecular, excepto los utilizados en los cultivos celulares. Las formas epimastigotes de *T. cruzi* se cultivaron en medio LIT. Los cultivos de tripomastigotes y amastigotes de *T. cruzi* se obtuvieron a partir del cultivo de células Vero (Cepa EP y la YBM). Las diferentes cepas de *Escherichia coli* se cultivaron en medio LB a 37 °C. Se utilizó como vector de expresión el pET28a.

Se recolectaron 96 sueros y 56 muestras de sangre de pacientes adscritos a los Servicios de Cardiología del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela (Dr. Juan Márquez y Dr. Iván Mendoza), y del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario de los Andes (estado Mérida) (Dr. Diego Dávila).

A todos los participantes se les entregó por escrito un consentimiento informado respetando los criterios éticos del comité de bioética del IVIC. Todos los pacientes se agruparon bajo la clasificación clínica de H. Carrasco. Después de la recolección de las muestras, se llevó a cabo el serodiagnóstico para la enfermedad de Chagas.

**Resultados.** En este trabajo se subclonó, se “hiperexpresó” y se purificó la P20 semejante a calpaína de *T. cruzi*, la cual se estudió como marcador de progresión de la lesión cardíaca inducida por la infección. Se encontró una correlación significativa ( $p < 0,0001$ ) entre el grado de lesión cardíaca, el uso de fármacos convencionales y el título anti-P20 en sueros de 78 pacientes con enfermedad crónica de Chagas, clasificadas por grupos clínicos y procedentes de dos localidades (urbana y rural).

**Conclusión.** En este trabajo de investigación se demuestra el uso de la *calpain-like* recombinante de *T. cruzi* en el reconocimiento serológico de las diferentes formas clínicas de la enfermedad de Chagas. Este marcador podría ser utilizado para seguir el desarrollo y la progresión del daño cardíaco, así como el impacto del tratamiento médico convencional no etiológico.



## Estudio fitoquímico preliminar de las flores y hojas de *Acmella ciliata* (HBK) *cass* y evaluación de la actividad biológica de los extractos y del aceite esencial

Carlos Andrés Rincón  
Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

**Introducción.** *Acmella ciliata* (HBK) *cass* es una arvense, o mal llamada maleza, que presenta propiedades analgésicas, antiflogísticas, antimicrobianas, larvicidas, anestésicas y hepatoprotectoras. En esta investigación se hizo la caracterización fitoquímica preliminar de las flores y hojas de *Acmella ciliata* (HBK) *cass* y se evaluó la actividad biológica de los extractos y del aceite esencial.

**Materiales y métodos.** Los extractos de los diferentes órganos vegetales se obtuvieron por lixiviación, extractor Soxhlet y ultrasonido. Los aceites esenciales de las flores y de las hojas se extrajeron por hidrodestilación asistida por microondas (MWH) e hidrodestilación (HD) y se analizaron por CG/MS. A los diferentes productos extraídos se les evaluó su actividad antimicrobiana con tinción de Gram y para levaduras mediante los métodos de difusión en disco y microtitulación en placa con resazurina y evaluación de la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) en artemia salina.

**Resultados.** Los diferentes extractos de la planta presentaron gran abundancia de metabolitos polares y apolares, destacándose entre ellos los flavonoides y las alcanidas alifáticas. La hidrodestilación asistida por microondas resultó ser la técnica más efectiva para la extracción de los aceites esenciales. La composición química del aceite esencial de las flores y de las hojas se caracterizó por contener una alta proporción de sesquiterpenos tales como el trans- $\alpha$ -cariofileno, su componente mayoritario. Además, se encontró el espilantol en el perfil cromatográfico de las flores de *A. ciliata* (1,309 %).

Los extractos obtenidos presentaron una importante actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; sólo el aceite esencial y la fracción lipídica de las flores, rica en alcanidas, presentaron un efecto inhibitorio en *Candida albicans*. Las  $DL_{50}$  estuvieron por encima de las 100 ppm, lo que demuestra su baja toxicidad.

**Conclusión.** Pese a su eficaz acción antimicrobiana frente organismos Gram positivos, los extractos obtenidos presentaron baja toxicidad, lo cual da campo a nuevas investigaciones en las que se les encuentre un uso en farmacología.

## **Análisis molecular de la estructura genética y aislamiento por distancia del vector primario de malaria *Anopheles darlingi* en Colombia**

Carol Yovanna Rosero-Galindo, Ranulfo González  
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,  
Universidad del Valle, Cali, Colombia

**Introducción.** *Anopheles darlingi* Root, 1926, es un vector primario de malaria en el neotrópico. Es una especie no sólo muy antropofílica, sino muy eficiente en la transmisión de las especies de *Plasmodium*, y se considera como el principal vector en la región amazónica, medio Atrato, bajo Cauca y casi toda la región oriental del territorio nacional. En Colombia esta especie puede encontrarse en la zona de premontana de los Andes hasta los 450 m de altitud, hecho que ha motivado la realización de estudios previos en la zona biogeográfica del Chocó y que demostraron una pequeña estructura genética y una mayor capacidad vectorial en algunas localidades.

Este estudio se hizo con el objetivo de determinar, en Colombia, la existencia de la estructura genética entre las poblaciones del vector primario de malaria, *An. darlingi*, usando para tal fin microsatélites y el gen *timeless* como marcadores genéticos. Su desarrollo está justificado porque los resultados contribuyen al esclarecimiento del estado genético de las poblaciones anofelinas y rechazan la hipótesis de que las diferencias genéticas observadas se explican por el modelo de aislamiento por distancia.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron 300 hembras anofelinas, procedentes de localidades de seis departamentos localizados en la región occidental: Beté (Chocó), Pueblo Nuevo (Córdoba) y Las Margaritas (Santander), y oriental: La Esperanza (Meta), Inírida (Guainía) y Mitú (Vaupés). Las muestras se recolectaron usando cebo humano y se preservaron a -70 °C, previa identificación morfológica.

Los polimorfismos de *loci* microsatélites se obtuvieron por PCR, empleando cebadores reportados por Conn, *et al.* (2001); el tamaño de los alelos se cuantificó en geles desnaturadores de poli-acrilamida, por comparación con una escalera de 25 pb (Promega). Los polimorfismos del gen nuclear *timeless* se obtuvieron por PCR y secuenciación, empleando cebadores aislados para esta especie en el Laboratorio de Biología Molecular de Insectos del Instituto Oswaldo Cruz en Brasil.

**Resultados.** El análisis con siete *loci* microsatélites (STR) evidenció gran diversidad genética, mayor en la población de Mitú ( $N_a=14$ ,  $H_o=0,520$ ), y menor en Pueblo Nuevo ( $N_a=12$ ,  $H_o=0,457$ ). La región oriental y las poblaciones de Mitú y La Esperanza presentaron el número más alto de alelos privados ( $A_p=30$ ;  $A_p=13$  y  $A_p=9$ , respectivamente), con frecuencias que variaron entre 0,010 y 0,097.

Se encontraron desviaciones significativas ( $p<0,0001$ ) del equilibrio Hardy-Weinberg en las seis poblaciones de *An. darlingi*, hecho que puede explicarse por el déficit de heterocigotos, asociado con el desequilibrio de ligamiento observado en los siete *loci* STR empleados ( $p<0,05$ ).

El análisis molecular de varianza (AMOVA) demostró, en la población total, una diferenciación genética moderada ( $F_{ST}=0,063$ ,  $p<0,05$ ). Igual diferenciación se observó ( $0,063 < F_{ST} > 0,060$ ,  $p<0,05$ ) en cinco de las seis poblaciones incluidas en este trabajo y baja diferenciación en Las Margaritas ( $F_{ST}=0,023$ ,  $p<0,05$ ). Además, se encontró una correlación positiva débil y estadísticamente no significativa, entre la distancia geográfica y la genética ( $Z=0,3939$ ,  $r=0,3648$ ,  $p=0,8963$ ) lo que, probablemente, sugiere que la moderada diferenciación genética entre las parejas de poblaciones no puede explicarse por la hipótesis de aislamiento por distancia.

El análisis con el gen nuclear *timeless* reveló una gran diversidad haplotípica ( $h=0,922$ ) y nucleotídica ( $\pi=0,005$ ). Los valores de  $\pi$  variaron entre 0,003 y 0,006, y fueron mayores en las localidades de Las Margaritas, Mitú e Inírida, y menores en Pueblo Nuevo y Esperanza. La AMOVA mostró una estructura genética grande y equivalente a 31,9 % ( $p<0,05$ ); en el análisis por pares de poblaciones, se encontraron valores iguales o superiores a lo observado para la población total. Además, se reporta la existencia de dos haplotipos ancestrales I y II, y cinco niveles de agrupamiento en 48 haplotipos, de los cuales, 28 se identificaron en el muestreo y 20 se consideraron extintos. El agrupamiento exhibió restricción del flujo génico en tres "clados", lo que se explica por dos posibles mecanismos: 1) restricción del flujo génico con dispersión de los individuos, pero con algunos individuos que tienen una larga dispersión de distancia en las zonas intermedias no ocupadas por la especie, o 2) flujo de genes seguido de extinción de las poblaciones intermedias.

**Conclusión.** Los resultados obtenidos en esta investigación permiten concluir que los modelos de distribución neotropical podrían sustentar

mejor la variación genética observada en los datos microsatélites y gen *timeless*, y atribuible a las diferencias biogeográficas de cada localidad, según la clasificación de Monrone, (2006). Por otro lado, la baja tasa de migración observada, además de las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg, no permiten concluir que las poblaciones de *An. darlingi* estén en panmixia, razón por la cual se sugiere que los planes de control se programen diferencialmente según la distribución biogeográfica.

Finalmente, se recomienda analizar las poblaciones consideradas en este estudio, usando genes mitocondriales y el marcador nuclear *white*, para corroborar la hipótesis de refugios, planteada previamente por Conn y Mirabello (2007) y discutida en esta investigación.

• • •

### Caracterização biológica e molecular de cepas de *Trypanosoma cruzi* procedentes de áreas endêmicas do México

César Gómez Hernández, Eliane Lages Silva, Luis Eduardo Ramírez  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil

**Introdução.** Durante muito tempo foi questionada a magnitude da doença de Chagas no México onde á consideravam um padecimento exótico. Tendo em conta a grande diversidade genética existente entre isolados de *Trypanosoma cruzi*, a importância da caracterização biológica destes e o escasso número de informações sobre os aspectos clínicos e biológicos da doença de Chagas no México, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização biológica e molecular de isolados de *T. cruzi* procedentes de diferentes áreas endêmicas do México.

**Métodos.** Oito cepas mexicanas de *T. cruzi* foram caracterizadas biologicamente *in vitro* (células VERO, MK2 e macrófago peritoneal de camundongo) e *in vivo* (camundongos não isogênicos) e geneticamente PCR específica para *T. cruzi*, *T. rangeli*, e para classificação dos grupos ou subgrupos de *T. cruzi* e RAPD para observação de variabilidade genética entre as cepas.

**Resultados.** Foram detectados dois tipos de parasitemia: patente com picos máximos de parasitemia entre  $4,6 \times 10^6$  e  $10^7$  parasitos/ml e subpatente. Observou-se tropismo predominante pelo músculo estriado (cardíaco e esquelético) e uma infectividade (de 25 a 80%) nas células

estudadas. As técnicas de PCR do gene do minióxon classificaram as oito cepas como TcI, a PCR dos haplótipos caracterizaram as mostras como la e Id, porém, a banda relacionada ao haplótipo la foi de tamanho diferente à descrita por Herrera, *et al.* (2009). A técnica de RAPD mostrou variação intraespecífica entre as cepas, separando as cepas isoladas de humanos daquelas de triatomíneos e por origem geográfica.

**Conclusão.** Esses resultados demonstram que as cepas de *T. cruzi* que circulam no México têm um tropismo tecidual predominante pelo músculo estriado, são altamente infectantes *in vitro* e *in vivo* e correspondem ao perfil *T. cruzi* I, haplótipos la e Id, ressaltando-se pela primeira vez a presença de haplótipos mistos de *T. cruzi*.

• • •

### Modelo de un sistema de vigilancia, prevención y control de rabia transmitida por murciélagos en las áreas urbanas del departamento del Valle del Cauca

Constanza Núñez Mejía, Lyda Osorio  
Universidad del Valle, Cali, Colombia

**Introducción.** El virus de la rabia transmitido por murciélagos urbanos afecta la salud pública. Actualmente, no hay vigilancia de la rabia transmitida por murciélagos urbanos en Colombia. El objetivo fue desarrollar un modelo de vigilancia, prevención y control de la rabia transmitida por murciélagos urbanos en el departamento del Valle del Cauca.

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio descriptivo y retrospectivo que recopilaba y analizaba información relevante para proponer un modelo de vigilancia y control de la rabia transmitida por murciélagos urbanos, teniendo presente los aspectos legales y técnicos apropiados.

**Resultados.** En los departamentos de Casanare, Vichada, Cauca y Valle del Cauca, aumentó la tasa de accidente rábico en humanos por murciélagos en comparación con los años anteriores. Los municipios del Valle del Cauca con aumento de los accidentes rábicos están ubicados en la zona norte y centro del departamento.

Los murciélagos predominantes son *Artibeus lituratus* en las zonas verdes y *Molossus molossus*, invadiendo edificaciones. Se analizaron 1.321 murciélagos, de los cuales, cuatro resultaron positivos para rabia con variantes V3/Vampiro *Desmodus rotundus* y V4/insectívoro *Tadarida brasiliensis*.

Se propuso un modelo de vigilancia epidemiológica para la rabia transmitida por murciélagos urbanos, que integre acciones de los ministerios de Ambiente, Salud y Agricultura. El modelo definió parámetros para clasificar el riesgo de rabia transmitida por murciélagos urbanos en el Valle, siguiendo las recomendaciones previas del Ministerio de Protección Social y el Instituto Colombiano Agropecuario.

El nivel de riesgo se asignó según: 1) la calidad del sistema de información y vigilancia epidemiológica de rabia urbana, 2) las poblaciones de murciélagos urbanos invasores/edificaciones, 3) la calidad y oportunidad de atención a personas agredidas, y 4) los planes de capacitación.

El modelo propone hacer vigilancia pasiva y activa para rabia silvestre, en puestos centinelas principales y satélites. Se propone que el marco normativo incluya aspectos específicos para la rabia silvestre en murciélagos en áreas urbanas. Aplicando este modelo en el departamento del Valle, se determinó el riesgo medio para transmisión de la rabia por murciélagos urbanos.

**Conclusión.** La aplicación de este modelo puede ayudar a categorizar el riesgo para la rabia transmitida por murciélagos urbanos del país para priorizar las acciones de vigilancia.

• • •

### **Efecto de promastigotes muertos, BCG y glucantime en el tratamiento de las lesiones causadas por *Leishmania peruviana* en *Mesocricetus auratus***

Diógenes Llanos-Rodríguez, Judith Roldán-Rodríguez, Julissa Domínguez-Olivera  
Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú

**Introducción.** La leishmaniasis es una histoparasitosis de importancia en salud pública a causa de su difícil prevención. Su tratamiento se fundamenta, principalmente, en el uso de antimoniales pentavalentes, compuestos de alta toxicidad para el organismo y que tienen uso limitado en pacientes con cardiopatía o nefropatía, y en mujeres embarazadas. Por esta razón, el desarrollo de la inmunoterapia con la evaluación de sustancias con actividad adyuvante o inmunopotenciadora, constituye una de las tendencias más importantes en la investigación inmunológica actual.

**Objetivo.** Evaluar el efecto de la aplicación de promastigotes muertos, BCG y glucantime en el tratamiento de las lesiones causadas por *Leishmania peruviana* en *Mesocricetus auratus* cepa "sirio dorado", inoculados experimentalmente.

**Materiales y métodos.** Se establecieron cinco grupos, A, B, C, D y E, cada uno conformado por cuatro *M. auratus*, a los cuales se les aplicaron  $1 \times 10^6$  amastigotes/ml de *L. peruviana*. Cuando la lesión era evidente (30 días), se les administró: al grupo A, 0,1 ml de promastigotes muertos por calor, al B, 0,2 ml de promastigotes muertos por calor más BCG, al C, 0,1 ml de promastigotes muertos por calor más 0,1 ml de glucantime (8,5 mg/kg), al D, sólo 0,1 ml de glucantime (8,5 mg/kg) y al E, 0,1 ml de SSF; los promastigotes muertos por calor se administraron por vía intraperitoneal y el glucantime por vía intramuscular. La dosis fue una diaria, durante 10 días consecutivos, suspendiéndose por un periodo de 10 días y luego se reanudó el tratamiento por 10 días más; se evaluó el tamaño de la lesión, el diagnóstico parasitológico (cultivos, cortes histológicos e inoculación) y las alteraciones histopatológicas.

**Resultados.** Los hámsters del grupo C lograron la cura de la lesión y el diagnóstico parasitológico e histológico negativo, en comparación con los otros grupos; se encontraron diferencias estadísticas entre ellos.

**Conclusión.** Los promastigotes muertos por calor más glucantime (8,5 mg/kg) tienen efectos terapéuticos sobre las lesiones causadas por *L. peruviana* en *M. auratus*.

• • •

### **Estudio del complejo ribonucleoproteico involucrado en la síntesis y mantenimiento del telómero en el parásito *Plasmodium falciparum***

Eliana Calvo, Moisés Wasserman  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** En células eucariontes, por cada división celular se presenta una pérdida de ADN telomérico, fenómeno conocido como "el problema de la replicación final". En ausencia de mecanismos que compensen la pérdida, luego de un número determinado de divisiones celulares, los telómeros alcanzan una longitud crítica, lo cual causa interrupción en el crecimiento, senescencia y muerte. La solución al problema es la adición de secuencias teloméricas, llevada a cabo por un complejo ribonucleoproteico denominado telomerasa. En presencia de telomerasa, los telómeros se mantienen y la célula puede seguir replicándose indefinidamente.

Dado que la actividad telomerasa podría ser el mecanismo que le confiere la capacidad

de proliferación casi ilimitada a *Plasmodium falciparum*, agente causante de la forma más grave de malaria humana, el presente trabajo se enfocó en el análisis de los componentes del complejo y en establecer si la inhibición de la actividad afecta la proliferación celular.

**Materiales y métodos.** Se generó un anticuerpo policlonal contra la subunidad catalítica TERT, utilizando una proteína recombinante como inmunógeno.

Para establecer si la inhibición de la actividad de la telomerasa afectaba la tasa de proliferación, se hizo un silenciamiento parcial y transitorio de los genes que codifican para el núcleo catalítico, *PfTert* y *PfTER*, mediante ARN interferente.

**Resultados.** El núcleo catalítico del complejo telomerasa, la subunidad proteica (*PfTERT*) y la subunidad ARN (*PfTER*), se detectaron en los estadios de desarrollo intraeritrocítico, pero de manera aumentada en el estadio de trofozoito y esquizonte, etapas de desarrollo en las que ocurren múltiples rondas de replicación de ADN.

El silenciamiento parcial de los dos genes ocasionó una significativa disminución en el crecimiento del parásito, lo que permitió sugerir que ambos genes son esenciales para la proliferación celular. Además, el parásito es sensible a inhibidores de la actividad telomerasa, pues con sólo tres días de tratamiento con telomestatin, el crecimiento del parásito disminuyó en 90 %.

• • •

## Epidemiología molecular del virus del dengue circulante en el departamento de Sucre

Erwin Yesid Camacho, Pedro José Blanco, Anais Castellar

Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

**Introducción.** El dengue es una de las enfermedades de mayor importancia en salud pública en las áreas tropicales y subtropicales del mundo; sin embargo, existe una ausencia en cuanto a vigilancia virológica en el departamento de Sucre.

El objetivo principal de esta investigación fue estudiar la epidemiología molecular del virus en el departamento de Sucre.

**Materiales y métodos.** Se recolectó suero y plasma sanguíneo de pacientes con diagnóstico indicativo de dengue durante 2009 y 2010. Se sometieron a tipificación molecular con cebadores específicos de serotipo. Además, se amplificó un segmento de 511 bp (C/prM), el cual se sometió a secuenciación

para posterior análisis filogenético con *neighbor-joining* y máxima verosimilitud, para determinar los genotipos del virus, e inferencias bayesianas, para establecer tiempos de divergencia y tasa de sustitución. Se hizo el modelado molecular comparativo de la proteína C, para visualizar los cambios de los aminoácidos de las cepas del departamento de Sucre en comparación con otros genotipos.

**Resultados.** El 54,6 % (41) de las muestras resultaron positivas para detección molecular del genoma viral: en la población de menores de 10 años de edad fue en la que se detectó la infección con mayor frecuencia (48,78 %).

Se detectó la presencia de los cuatro serotipos del virus con diferencias en el patrón de distribución espacio-temporal. El serotipo más frecuente fue DENV1 (43,9 %), seguido de DENV2 (39,02 %), DENV3 (12,2 %) y DENV4 (4,87 %). En Sincelejo se presentaron la mayoría de muestras positivas (58,53 %) y los cuatro serotipos. La cepa de DENV1 detectada pertenecía al linaje americano/africano, relacionada con cepas de Venezuela, y las sustituciones de aminoácidos no conferían cambios estructurales significativos en la proteína C de la cepa de Sucre.

**Conclusión.** Este es el primer estudio en el departamento de Sucre que permite definir los serotipos circulantes y las relaciones filogenéticas del genotipo de DENV1 aislados en el departamento.

• • •

## Uso de método de biología molecular cuantitativo (PCR *real-time*) na investigação de reservatórios para leishmaniose visceral

Fred Da Silva Julião, Cristiane Souza Nascimento, Edson Duarte Moreira Jr.

Núcleo de Pesquisa, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano, Santa Inês, Bahia, Brasil

**Introdução.** A leishmaniose visceral é uma zoonose sistêmica de importância reconhecida em saúde pública, 90% dos casos no novo mundo são oriundos do Brasil. Os cães domésticos e as raposas são considerados como os principais reservatórios. A persistência da *Leishmania* em áreas endêmicas e o insucesso das medidas de prevenção, dirigidas exclusivamente ao reservatório canino, sugerem que outros animais podem ter importância na manutenção do ciclo de transmissão da leishmaniose visceral.

**Materiais e métodos.** Foram estudados animais

domésticos (bovinos, equídeos, caprinos e ovinos) e animais silvestres (gambá), no município de Salinas da Margarida, Bahia, de 2007 a 2009. Todos os animais domésticos de produção mantidos e/ou pernoitando nas áreas urbanas do município foram incluídos. Os gambás foram capturados com armadilha animal modelo Tomahawk colocadas no peridomicílio das residências onde ocorreram casos de leishmaniose visceral humana e/ou canina na localidade de Encarnação. Nos animais domésticos de produção foi coletado apenas amostra de sangue periférico e nos gambás, além de sangue, foi obtida uma amostra de pele através de biópsia da orelha.

Em todas as amostras foi realizado PCR *real-time* para investigar a presença de ADN do parasito e estimar a carga parasitária. Os *primers* e sondas utilizados foram selecionados em gene SSU rRNA, que aparece 160 vezes no genoma de *Leishmania* spp. e é altamente conservado entre as espécies de *Leishmania*.

**Resultados.** No total, foram avaliados 80 animais domésticos (20 bovinos, 33 equídeos, 20 caprinos e 7 ovinos) e 103 gambás, todos da espécie *Didelphis albiventris*. Cinco bovinos foram positivos no teste de PCR *real-time* com carga parasitária variando de 12,7 a 183,5 parasitos/ml. Apenas um gambá apresentou amostra de sangue positiva (6,0 parasitos/ml). Todos os demais animais testaram negativo.

**Conclusão.** A técnica de PCR *real-time* pode ser uma ferramenta útil para avaliar o papel de potenciais reservatórios domésticos e silvestres para leishmaniose visceral. A execução do PCR *real-time* é menos trabalhosa e mais prática do que a realização do teste de xenodiagnóstico, além disso, ela poder ser automatizada, permitindo a análise de grande número de amostras em estudos epidemiológicos. A detecção de carga parasitária de *Leishmania* em sangue de bovinos, em quantidade comparável à encontrada em cães, sugere que eles podem ser reservatórios para leishmaniose visceral. A relativa abundância de bovinos nas áreas endêmicas para leishmaniose visceral, assim como as evidências da preferência alimentar do vetor por estes animais, ressalta a importância do papel que os bovinos podem ter na transmissão da leishmaniose visceral. Mais trabalhos são necessários para elucidar estas questões.

## Producción de anticuerpos IgY contra ocho serovares de *Leptospira interrogans* prevalentes en el Valle del Cauca

I. C. Naranjo  
Universidad del Valle, Cali, Colombia

**Introducción.** La producción de anticuerpos IgY ha tomado fuerza en tratamientos profilácticos y curativos de diversas enfermedades.

El objetivo de esta investigación fue producir anticuerpos IgY contra *Leptospira interrogans*, que pueden reemplazar a los IgG en las pruebas de diagnóstico rápido con una mayor sensibilidad, que servirían para desarrollar pruebas que detecten el microorganismo en las vías urinarias de los portadores, y que pueden utilizarse en la producción de vacunas contra una variedad más amplia de serovares, o con especificidad para los serovares de *L. interrogans* circulantes en el departamento del Valle del Cauca.

**Materiales y métodos.** Se inocularon gallinas con un antígeno de lipopolisacárido compuesto por una mezcla de los ocho serovares circulantes en el Valle del Cauca y con una vacuna comercial como control de antígeno, para luego extraer del huevo la inmunoglobulina Y por medio de deslipidación con cloroformo y precipitación con sulfato de amonio. La presencia de IgY se verificó por medio de electroforesis en poliacrilamida y en acetato de celulosa. Finalmente, se comprobó con la prueba de microaglutinación que los anticuerpos de gallina habían reaccionado contra los serovares inoculados.

**Resultados.** Al comparar los títulos en sangre con los de dializado de huevo, se encontró que en sangre fueron más altos y constantes para todos los serovares evaluados, y tanto en sangre como en huevo, la vacuna de lipopolisacáridos produjo mayores títulos que la vacuna comercial, llegando a títulos máximos de 1:1.280 para los serovares *autumnalis* y *bratislava*.

**Conclusión.** Se produjeron anticuerpos IgY que son de gran utilidad para el desarrollo de pruebas de detección indirecta, midiendo la respuesta inmunitaria del organismo infectado e, incluso, podrían llegar a reemplazar el uso de antibióticos para tratamientos de la leptospirosis.



## Evaluación del potencial de ligandos de TLR2, TLR3, TLR4, TLR7/8 y TLR9 como adyuvantes de una vacuna contra leishmaniasis cutánea por *Leishmania (Viannia) panamensis*

Juan Camilo Álvarez, José Robinson Ramírez  
Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia

**Introducción.** La leishmaniasis es una enfermedad causada por protozoarios del género *Leishmania*, la cual presenta dificultades de tratamiento, y la vacunación es la mayor esperanza para controlarla. En la actualidad, no existe una vacuna y los candidatos seguros son poco inmunógenos, requiriéndose de adyuvantes que potencien la inmunidad. Recientemente, se han propuesto los ligandos de Toll como candidatos de adyuvantes, por lo cual nos propusimos evaluar cinco ligandos en una vacuna contra *Leishmania (Viannia) panamensis*.

**Materiales y métodos.** Se vacunaron ratones BALB/c con: antígeno de *L. (V.) panamensis*, antígeno más oligonucleótidos sintéticos CpG, antígeno más lipopolisacárido de *Escherichia coli*, antígeno más ácido lipoteicoico de *Staphylococcus aureus*, antígeno más resiquimod, antígeno más ácido poliinosínico-policitidílico y PBS como control. Uno o tres meses después de la vacunación, se hizo un reto con *L. (V.) panamensis*, se midieron las citocinas (IL-4, IL-10, IL-13 e  $INF\gamma$ ) en ganglios linfáticos y los anticuerpos (IgG1 e IgG2a) en el suero sanguíneo, antes de la infección y después de ella, y se determinó la carga parasitaria.

**Resultados.** La evaluación clínica demostró que los CpG más antígeno protegieron ratones infectados. Esto se correlacionó con disminución en la carga parasitaria y la medición de citocinas señala que la protección conferida por los CpG se produce mediante una respuesta inmunitaria predominantemente Th1 con producción de  $INF\gamma$ . Los demás ligandos indujeron una respuesta Th2 con producción de IL-4, IL-10 e IL-13, lo cual explica por qué sólo los CpG protegen. La inducción de la respuesta Th1 por parte de los CpG también se demostró con los anticuerpos mediante una mayor razón IgG2a/IgG1, en comparación con los demás.

**Conclusión.** Los CpG ODN mostraron ser efectivos como adyuvantes de una vacuna contra la leishmaniasis cutánea en un modelo de ratón, mientras que los demás ligandos no pudieron conferir protección a las concentraciones probadas. Además, la protección conferida por los CpG se

produce mediante una respuesta inmunitaria predominantemente Th1, antes de la infección y después de ella.

• • •

## Epidemiología de la malaria durante el embarazo en Urabá, Colombia, 2005-2009: una construcción biosocial

Juan Gabriel Piñeros  
Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

**Introducción.** La malaria es una enfermedad con gran impacto sobre la morbilidad materna y neonatal. En Colombia y Latinoamérica, donde su transmisión es inestable y predominan los casos por *Plasmodium vivax*, se desconocen su magnitud, características clínicas, impactos y los aspectos que la explican.

**Objetivo.** Estudiar la epidemiología de malaria durante el embarazo en tres municipios del Urabá antioqueño.

**Materiales y métodos.** Se usó un diseño longitudinal prospectivo con mujeres gestantes asistentes a los servicios de salud; en cada control prenatal se evaluaron clínica y parasitológicamente. En el parto se evaluaron la madre y el neonato. Se usó un diseño de casos y controles, para establecer el mejor modelo epidemiológico explicativo de la enfermedad.

**Resultados.** Se incluyeron 2.117 mujeres; se identificó infección materna en 10,4 %, infección placentaria en 6,4 % e infección congénita en 4,3 %. El 10,2 % fueron afebriles y 13,3 % fueron casos graves.

El haber tenido malaria el último año (OR=10,8; IC<sub>95 %</sub>: 7,3-16,0), el residir en la zona menos de 10 años (OR=1,7; IC<sub>95 %</sub>: 1,1-2,4) y la gravidez mayor de cero (OR=1,5; IC<sub>95 %</sub>: 1,0-2,2), fueron identificados como factores de riesgo biomédicos.

El vivir en la serranía (OR=3,1; IC<sub>95 %</sub>: 1,5-6,8), tener algún familiar agricultor (OR=2,6; IC<sub>95 %</sub>: 1,3-5,3), la presencia de cuerpos de agua en el peridomicilio (OR=4,6; IC<sub>95 %</sub>: 2,3-8,9), el tener vegetación en el peridomicilio (OR=2,9; IC<sub>95 %</sub>: 1,5-5,7), la agua de río para consumo (OR=7,7; IC<sub>95 %</sub>: 1,8-33,9), el cocinar con leña (OR=3,7; IC<sub>95 %</sub>: 1,9-7,1) y el alumbrarse con vela (OR=2,7; IC<sub>95 %</sub>: 1,1-6,7), fueron las características socioeconómicas asociadas con la infección.

Las mujeres gestantes palúdicas tuvieron mayor riesgo de aborto (OR=4,45; IC<sub>95 %</sub>: 1,54-12,83), mortinatos (OR=4,50; IC<sub>95 %</sub>: 1,54-12,83), retardo del crecimiento intrauterino (OR=2,01; IC<sub>95 %</sub>: 1,24-3,26) y baja longitud al nacimiento (OR=2,54; IC<sub>95 %</sub>: 1,08-5,97). Un modelo multivariado biosocial fue el

mejor modelo explicativo de la infección materna.

**Conclusiones.** La malaria es frecuente en mujeres embarazadas de Urabá y se presenta como infección afebril o malaria grave. Sus factores de riesgo se asocian a una mayor exposición de la mujer gestante a la enfermedad, e impacta significativamente el curso del embarazo y el peso y la longitud del feto.

• • •

### **Obtención y caracterización molecular de clones de *Trypanosoma cruzi* seleccionados mediante “plaqueo” directo en medio sólido del contenido de la ampolla rectal de *Rhodnius colombiensis*, *R. pallescens* y *R. prolixus* procedentes de diferentes regiones de Colombia**

Lina Marcela Villa, Yurany Eresbey Granada, Daniel Zabala, Daniel Alfonso Urrea, Julio César Carranza, Néstor Pinto, Omar Cantillo, Felipe Guhl, Gustavo Adolfo Vallejo  
Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

**Introducción.** *Trypanosoma cruzi* I puede clasificarse en cinco genotipos (Tcla-le) y su circulación relacionarse con el ciclo epidemiológico de transmisión. En previas caracterizaciones moleculares del parásito se han empleado métodos de aislamiento que identifican finalmente al genotipo predominante, lo cual disminuye la posibilidad de identificar los verdaderos clones circulantes en la naturaleza. Por lo tanto, para lograr una aproximación real de los genotipos que pueden estar presentes en el contenido de la ampolla rectal de los vectores silvestres, se empleó la técnica de “plaqueo” en medio sólido y su posterior identificación.

**Materiales y métodos.** Los parásitos del contenido de la ampolla rectal de los vectores silvestres *Rhodnius colombiensis* (Tolima), *R. prolixus* (Casanare) y *R. pallescens* (Magdalena), se sembraron en placas de medio sólido (medio BLAB) y se incubaron a 28°C durante un mes. Los clones se aislaron individualmente para identificar los genotipos de *T. cruzi* I, empleando iniciadores específicos para SL-IR del gen miniexón y la técnica de RAPD. También, se emplearon cepas de *T. cruzi* I de humanos.

**Resultados.** Se demostró el perfil Tcla/Tclb/Tcld en aislamientos humanos y algunos clones, igualmente, el predominio del perfil Tcbl/Tcld en los clones silvestres. El iniciador 1A fue modificado

para identificar específicamente el genotipo Tcla, para aislamientos de origen doméstico o silvestre. Los RAPD mostraron la presencia de dos nodos: uno correspondiente a clones de *R. colombiensis* y *R. pallescens*, y otro con aislamientos humanos. El genotipo de Tcle se reportó en este trabajo.

**Conclusión.** El empleo del iniciador 1Am y los RAPD plantean la posible existencia de dos grandes grupos de *T. cruzi* I, uno relacionado con el ciclo doméstico (Tcla) y otro con el ciclo silvestre (Tcbl/Tcld). Posiblemente, en SL-IR existen copias múltiples en tándem de secuencias repetidas y variables, que privilegian en algunos casos la detección del genotipo con mayor número de copias.

• • •

### **Variabilidad morfológica entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) procedentes de cuatro departamentos de Colombia**

Lyda Esteban  
Universidad Industrial de Santander, Piedecuesta, Colombia

**Introducción.** Después de la descripción de Latreille (1811) y del estudio de Lent y Wygodzinsky (1979), éste es el primer trabajo que incluye el estudio de la variabilidad morfológica y la *genitalia* externa de cuatro poblaciones de *Triatoma dimidiata* de diferentes regiones geográficas en Colombia, que permitirá caracterizar sus poblaciones morfológicas en el país y contribuirá con la taxonomía de la especie; además, orientará futuras investigaciones sobre el comportamiento epidemiológico y estudios moleculares.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron poblaciones de *T. dimidiata* del oriente (Santander-Boyacá/Zona Andina) y noroccidente de la Cordillera Oriental (Cesar y Magdalena/Sierra Nevada de Santa Marta), mediante descripción morfológica de los caracteres cualitativos y cuantitativos, morfología de la *genitalia* externa y patrones de coloración.

**Variación morfológica de la *genitalia* del macho.** Se hicieron descripciones morfológicas de las siguientes estructuras genitales: *vesica*, proceso del endosoma, falosoma, soporte del falosoma y pigóforo. Los dibujos de la *genitalia* fueron escaneados y digitalizados utilizando el programa *Adobe Illustrator CS4*® y se realizaron mediciones con el analizador de imágenes *Sigma Scan Pro*, versión 5.

Para la descripción de la morfología externa se seleccionó un grupo de caracteres cuantitativos y

cuantitativos, según los trabajos de Latreille (1811), Usinger (1941, 1944), Lent y Wygodzinsky (1979) y Zeledón (1981).

Las variables métricas se analizaron mediante un ANAVA y una prueba de comparación múltiple de Tukey-HSD, utilizando SPSS®, versión 13. La coloración se estudió mediante presencia/ausencia.

**Resultados. Morfología externa de la genitalia.** Se observó gran variabilidad dentro de la población en las estructuras estudiadas; la de la Sierra Nevada de Santa Marta posee un mayor número de dentículos en el proceso del endosoma. El análisis estadístico agrupó las poblaciones por procedencia geográfica.

**Patrones de coloración.** La descripción de los caracteres cualitativos mostró variaciones individuales; solamente la coloración del pronoto mostró un patrón que fue acorde con la ubicación geográfica; Sierra Nevada de Santa Marta, negro 1+1 manchas amarillas laterales y, en la zona andina, negro-píceo.

**Tamaño corporal y proporciones.** Se observó similitud en los valores promedios del hábito para las poblaciones de los cuatro departamentos (31,02-32-14 mm), aunque se presentaron variaciones individuales.

Las poblaciones del oriente (Santander y Boyacá) se caracterizaron por tener cabezas más largas y delgadas (LTC/ACD) con ojos más pequeños (DOD/SY y ACL/LO) y ocelos más grandes (OC/OC1), contrario a lo que se encontró en el occidente (Cesar y Magdalena). Esto se debió a las diferencias significativas en la longitud de los siguientes caracteres: LTC, DOD, LO, OC y OC1.

**Conclusión.** En este estudio, las proporciones métricas de la cabeza, la coloración del pronoto y la *genitalia* externa revelaron un patrón de distribución geográfica y, quizá, también ecológica, como se ha visto en otros triatomíneos, lo que sugiere la existencia de dos poblaciones: al oriente, originarias de cuevas, y al occidente, originarias de palmas; los factores ecológicos o geográficos, probablemente, participan en dicha diferenciación. Las características morfológicas presentadas aquí evocan las diferencias características morfológicas para *T. dimidiata* por Usinger (1944), que podrían estar relacionadas con las características epidemiológicas y que deberán ser abordadas en nuevos estudios.

• • •

## Caracterización de las proteínas de excreción y secreción del nematodo parásito *Mammomonogamus laryngeus*

María Isabel Giraldo, Jhon Carlos Castaño  
Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

**Introducción.** *Mammomonogamus laryngeus*, nematodo parásito hematófago, afecta las vías respiratorias de mamíferos domésticos. Se han reportado más de 100 casos de infección en humanos en la literatura científica. En Colombia, reportamos en el 2006 el primer caso de infección en humanos en el departamento del Quindío y, en 2010, una prevalencia en bovinos de 14,5 %.

**Materiales y métodos.** El perfil de proteínas de excreción y secreción se determinó por SDS-PAGE y se caracterizó mediante zimograma, usando caseína y gelatina. Para evaluar el tipo de proteasa, se hizo un zimograma con inhibidores de proteasas (leupeptin, EDTA, pepstatin A, AEBSF y TPCK) y sin ellos. Se llevaron a cabo ensayos a diferentes pH y temperaturas. Posteriormente, se hizo la inmunolocalización de cada una de las proteínas en el tejido del parásito.

**Resultados y discusión.** Los productos de excreción y secreción mostraron actividad proteasa, cuyas bandas presentan masas moleculares de 94,4 kDa, la más abundante, y una serie difusa de bandas de 122 kDa, 108 kDa y 72 kDa. Se observó actividad de metaloproteasa por inhibición con EDTA. Su actividad óptima se produjo a pH 7,4. Las proteasas permanecieron activas a temperaturas entre 4 y 42 °C y fueron indetectables a 55 °C. La inmunolocalización confirmó que cada metaloproteasa se localiza en diferentes partes del parásito.

Estos hallazgos sugieren que las proteínas de excreción y secreción están involucradas en el proceso de degradación de nutrientes, penetración de tejidos o evasión del sistema inmunitario. Por lo tanto, es necesario obtener más información sobre este parásito, para el entendimiento de sus procesos infecciosos.

• • •

## Distribución espacial de poblaciones de *Triatoma dimidiata* y *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en Santander, Colombia

Mónica Flórez  
Universidad Industrial de Santander, Piedecuesta,  
Colombia

**Introducción.** Se pretendió establecer la distribución espacial de *Triatoma dimidiata* y *Panstrongylus*

*geniculatus* en el departamento de Santander, y su correlación con variables ambientales obtenidas de sensores remotos para la construcción de un modelo bioclimático pronóstico.

**Materiales y métodos.** Se construyó un sistema de información geográfica a nivel de veredas, con información obtenida de los programas de vigilancia de la enfermedad de Chagas (1996-2008) de Santander y con datos obtenidos de trabajo de campo (vigilancia comunitaria, búsqueda activa hora/hombre, trampa de luz y búsqueda pasiva con cebo animal).

Las veredas se digitalizaron y referenciaron geográficamente partir de mapas análogos y digitales. Se utilizaron 60 variables ambientales: mínimos, máximos, promedios y varianzas de seis bandas espectrales y dos productos operativos (NDVI, EVI) del sensor remoto MODIS terra (lpdaac.usgs.gov), un modelo de elevación digital, y se calcularon mínimos, máximos y promedios de nueve índices de vegetación, en el análisis multivariado discriminante por pasos, utilizando 18 matrices con diferentes criterios para escoger el mejor modelo bioclimático.

**Resultados.** Se ha reportado *T. dimidiata* en 120 veredas y 13 cascos urbanos de 32 municipios de Santander. Su modelo bioclimático discriminó la temperatura diurna máxima de la superficie y el NDVI máximo, clasificando correctamente 73 % de las presencias y 99 % de las ausencias. Se ha registrado *P. geniculatus* en 125 veredas y 12 cascos urbanos distribuidos en 40 municipios. El modelo obtenido para esta especie mostró como factores, que explican 92 % de las presencias y 95 % de las ausencias, a la temperatura nocturna máxima de la superficie y diurna promedio y al mínimo del índice de vegetación EVI.

**Conclusión.** Se establecieron áreas con registros reales y potenciales de presencia de estos vectores, mediante la construcción de mapas temáticos de distribución espacial y modelos bioclimáticos predictivos, cuyos resultados pueden orientar las acciones de prevención y control de la enfermedad de Chagas en el departamento de Santander.



### **Polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism) en secuencias de ADN de trans-sialidasa y proteasa de cisteína de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi***

Mónica L. Cruz, Nelson A. Salazar  
Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C.,  
Colombia

**Introducción.** La enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, transmitido al huésped vertebrado por vectores insectos de la familia Reduviidae.

Esta enfermedad presenta tres etapas: la aguda, la indeterminada y la crónica, que se caracteriza por lesiones en el miocardio o en el sistema digestivo pasados algunos años. Se considera una enfermedad desatendida por el poco interés que presentan la industria farmacéutica y los gobiernos, en su investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, y porque afecta a la población más pobre de América; esto último es consecuencia del hábitat del vector, el cual coincide con los techos de paja y grietas de las paredes de las viviendas precarias.

Posee un DALY (*Disability-Adjusted Life Year*) (años de vida ajustados por discapacidad) de 649.000 y, según la Organización Mundial de la Salud, cada año se registran 13.000 muertes.

Por lo anterior, el desarrollo de nuevos medicamentos, seguros, poco costosos, que tengan pocos efectos secundarios y que sean efectivos durante la etapa indeterminada y crónica de la enfermedad, es una necesidad actual. Una de las estrategias más atractivas es el desarrollo de medicamentos dirigidos hacia los factores de virulencia y a las moléculas involucradas en los procesos de invasión del parásito, a partir de lo cual se reducen los efectos secundarios.

En este trabajo se busca estudiar la variabilidad genética de *T. cruzi* a nivel molecular de dos de los más importantes factores de virulencia: la enzima trans-sialidasa y la proteasa de cisteína (cruzipaina) debido al papel que cumplen durante la infección y la supervivencia del parásito dentro del huésped, respectivamente. Esto se hizo mediante la búsqueda de polimorfismos de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) que pueden determinar el comportamiento de dichas moléculas.

**Materiales y métodos.** Se cultivaron 17 aislamientos colombianos de *T. cruzi*, que se obtuvieron de pacientes con enfermedad de Chagas provenientes de diferentes regiones geográficas del país. En el caso de la proteasa de cisteína, solamente se usaron cinco de estos aislamientos.

Se hicieron ensayos de metaciclógenesis, de infección a células Vero, de extracción de ADN y de amplificación de un fragmento de secuencia, que contenían motivos importantes de cada enzima. Después de purificar y secuenciar estos fragmentos,

se usaron herramientas bioinformáticas para sus análisis.

Se hizo el análisis de sustitución con el programa *Bioedit* 7.0 para el cálculo del punto isoeléctrico. Se utilizó el programa *Expasy* para determinar las relaciones filogenéticas y alineamientos múltiples a partir de secuencias reportadas en la base de datos GenBank. Para las dos enzimas, se utilizó el programa *MAFFT* 6. Para los análisis de RFLP *in silico*, se utilizó *pDRAW32* 1.0 y, para los análisis estadísticos, *G-Stat-Student* 2.0 y *SPSS Statistics*®, 17.0.

**Resultados.** A partir de las secuencias obtenidas para cada fragmento estudiado de trans-sialidasa y proteasa de cisteína, se hicieron análisis de sustitución, en el que se encontró que la proporción de transición/transversión de 2:1 correspondía a lo reportado en la literatura científica.

En lo que respecta al punto isoeléctrico, su cálculo demostró variación en todos los aislamientos para la trans-sialidasa, debido a que la mayoría de los cambios no eran conservativos, mientras que para la proteasa de cisteína la variación no fue relevante.

Para las relaciones filogenéticas y RFLP *in silico*, en las que se calculó el coeficiente de semejanza con la fórmula utilizada por Nei y Li (1979)  $F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ , se encontró que los grupos formados en el árbol filogenético mediante el método *neighbour joining*, compartían los valores más altos de semejanza.

Mediante la prueba exacta de Fisher se relacionaron los polimorfismos con el sitio de origen del aislamiento, infección en células Vero y procesos de metaciclogeñesis desarrollados en este trabajo. Asimismo, se relacionaron los ensayos de infección en ratones ICR y los análisis histopatológicos reportados en otros estudios, y se encontró que la mayoría de los polimorfismos no presentan ninguna relación con los resultados obtenidos en estos ensayos.

En cuanto a la función catalítica de las enzimas, no se encontraron cambios de aminoácidos involucrados directamente en el sitio activo o cambios en los diferentes motivos característicos de la trans-sialidasa, como la tirosina en la posición 342, el motivo VTVXNVFLNR importante para la unión del parásito a células mamíferas, las cajas de Asp con función estructural y el epítipo IYNVGQVSI para células T CD8+ que se mantienen conservados en todos los aislamientos. Igualmente, se identificaron 16 epítipos CD8+ conservados para todos los aislamientos de proteasa de cisteína.

**Conclusiones.** *Trypanosoma cruzi* presenta una gran variabilidad genética, pero algunos de sus genes que codifican para factores de virulencia (trans-sialidasa y proteasa de cisteína), todavía conservan secuencias que son relevantes para funciones como la adherencia, la penetración y la supervivencia en las células mamíferas.

La mayoría de las sustituciones encontradas para el fragmento estudiado de trans-sialidasa, corresponden a la región C-terminal, por lo que la actividad catalítica de la enzima no está afectada, al estar localizada en la región N-terminal. Asimismo, la región más conservada para proteasa de cisteína corresponde al sitio catalítico.

No se encontró ninguna correlación entre las cepas y sus lugares de origen en la organización del árbol obtenido a partir de las secuencias de los fragmentos estudiados de trans-sialidasa y cisteína proteasa.

Aunque a partir de la prueba exacta de Fisher se lograron relacionar algunos cambios de aminoácido con los resultados obtenidos en los ensayos de infección, metaciclogeñesis y análisis histopatológicos, estos resultados no son concluyentes debido al bajo número de aislamientos analizados.

La trans-sialidasa y la proteasa de cisteína conservan epítipos para células T CD8+ en los aislamientos estudiados y las secuencias reportadas en la base de datos GenBank, por lo que podrían ser secuencias que deben incluirse en el diseño de nuevas vacunas contra la enfermedad de Chagas.

• • •

### **Detección de mutaciones en los genes *gyrA* y *rrs* de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a los medicamentos de primera línea y su relación con la resistencia fenotípica a aminoglucósidos y fluoroquinolonas en aislamientos de Medellín, 2004-2009**

N. Álvarez<sup>1,2</sup>, E. Zapata<sup>1</sup>, G. I. Mejía<sup>1,2</sup>, T. Realpe<sup>1,2</sup>, J. Robledo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

**Introducción.** Las fluoroquinolonas y aminoglucósidos son la base del tratamiento de la tuberculosis resistente a los medicamentos de primera línea. El blanco de las fluoroquinolonas es la girasa de ADN codificada por los genes *gyrA* y

*gyrB* y, para los aminoglucósidos, es el rARN 16 codificado por el gen *rrs*. Las mutaciones en estos genes son el principal mecanismo de resistencia. La detección molecular de resistencia a estos medicamentos facilitaría el tratamiento oportuno de la tuberculosis resistente a los medicamentos de primera línea..

**Objetivos.** Evaluar la sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a los medicamentos de primera línea a fluoroquinolonas y aminoglicósidos, y buscar las mutaciones responsables de la resistencia.

Establecer la relación molecular entre las fluoroquinolonas con la girasa de ADN de aislamientos con mutaciones en *gyrA*, mediante análisis bioinformático de la relación entre estructura y actividad.

**Metodología.** Se evaluaron aislamientos de *M. tuberculosis* resistente a los medicamentos de primera línea por el método de proporciones múltiples. Se amplificaron y secuenciaron los genes *gyrA* y *rrs*. Se usaron *softwares* especializados para el análisis de interacciones moleculares.

**Resultados.** De los aislamientos, 13 % (4/31) fue resistente a fluoroquinolonas, dos con mutación en el gen *gyrA*. Se encontraron polimorfismos no asociados con resistencia en los codones 21 (100 %) y 95 (97 %) de *gyrA*. El 15 % (3/20) de los aislamientos fue resistente a aminoglucósidos, todos con mutación en la posición 1401 del gen *rrs*. No se encontraron mutaciones en los aislamientos sensibles. A partir del modelo computacional, se planteó la hipótesis de que la levofloxacina actúa como un competidor del ADN por el sitio catalítico de la girasa de ADN.

**Conclusiones.** La correlación entre la resistencia fenotípica y la presencia de mutaciones en los genes *gyrA* y *rrs* nos permite contribuir con investigaciones mundiales sobre la interacción entre las micobacterias y los antibióticos, para el desarrollo de nuevos compuestos antimicobacterianos. Deben buscarse mutaciones en otros genes.

Se debe buscar otras mutaciones en aislamientos fenotípicamente resistentes y sin mutaciones en *gyrA* y *rrs*. La relación entre estructura y actividad es una buena herramienta para evaluar las interacciones entre los medicamentos y su blanco de acción.

• • •

## Funcionalidad de linfocitos T CD4+/CD8+ doblemente positivos en pacientes con enfermedad de Chagas

Nicolás A. Giraldo<sup>1</sup>, Natalia I. Bolaños<sup>1</sup>, Adriana Cuéllar<sup>2</sup>, Fanny Guzmán<sup>3</sup>, Ana María Uribe<sup>4</sup>, Astrid Bedoya<sup>5</sup>, Natalia Olaya<sup>6</sup>, Zulma M. Cucunubá<sup>7</sup>, Nubia Roa<sup>4</sup>, Fernando Rosas<sup>8</sup>, Víctor Velasco<sup>8</sup>, Concepción J. Puerta<sup>9</sup>, John M. González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Núcleo Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

<sup>4</sup> Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Grupo de Infección y Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>6</sup> Instituto de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>7</sup> Grupo de Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>8</sup> Clínica Abood Shaio, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>9</sup> Laboratorio de Parasitología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Los linfocitos T CD4+/CD8+ doblemente positivos se han descrito en individuos sanos y en pacientes con enfermedades autoinmunitarias o infecciones crónicas. Esta subpoblación ha demostrado funcionar como células de memoria efectora específicas de antígeno. En este trabajo se evalúa la funcionalidad de esta subpoblación en pacientes con enfermedad de Chagas.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 17 pacientes con enfermedad crónica de Chagas (7 asintomáticos y 10 sintomáticos), 12 donantes no infectados y 12 pacientes con cardiopatía que no era debida a la enfermedad de Chagas. Las células de sangre periférica se marcaron con anticuerpos contra CD3, CD4, CD8, HLA-DR, CD38 y perforina intracelular. La especificidad antigénica se determinó usando el tetrámero HLA\*A0201 con el epítipo K1 de *T. cruzi* o MP-Flu del virus de la influenza. Las células doblemente positivas de 11 pacientes con enfermedad de Chagas se estimularon con el péptido K1 o con enterotoxina B para medir la expresión de CD107 de superficie e IFN- $\gamma$  intracelular. Finalmente, el tejido cardiaco de un paciente con enfermedad crónica de Chagas se tiñó para CD4 y CD8 por inmunohistoquímica.

**Resultados.** El porcentaje de linfocitos doblemente positivos en los pacientes con enfermedad crónica de Chagas ( $2,1 \pm 0,9$  %) fue superior que en individuos sanos ( $1,1 \pm 0,5$  %) y pacientes con cardiopatía no chagásica ( $1,2 \pm 0,4$  %,  $p=0,0017$ ). Los pacientes con enfermedad de Chagas presentaron frecuencias mayores de linfocitos doblemente positivos expresando HLA-DR, CD38 y perforina, y especificidad por K1. La producción de IFN- $\gamma$  en las células K1-específicas fue superior en los pacientes asintomáticos, mientras que la “degranulación” fue mayor en el grupo sintomático. Estos linfocitos infiltraron el tejido cardiaco de un paciente con enfermedad crónica de Chagas.

**Conclusiones.** Los pacientes con enfermedad crónica de Chagas tienen un mayor porcentaje de linfocitos T doblemente positivos, que expresan marcadores de activación y moléculas con potencial efector, al igual que presentan mayor especificidad de clase I contra *T. cruzi*. Estos linfocitos específicos contra K1 producen pocas cantidades de IFN- $\gamma$ , pero muestran una gran capacidad citotóxica en los pacientes sintomáticos. Finalmente, esta subpoblación puede migrar al tejido cardiaco.



### Estudio molecular y bioinformático de un canal iónico en *Leishmania braziliensis*

Óscar Parada-Parra, Martha Posada, Marcela Camacho

Centro Internacional de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La supervivencia de *Leishmania* durante su ciclo de vida depende de su capacidad para adquirir nutrientes y regular su pH<sub>i</sub> y su osmolaridad. Para hacerlo, el parásito utiliza bombas de protones dependientes de ATP acopladas funcionalmente al transporte de cloruro a través de su membrana plasmática. Mediante microinyección de ARNm de promastigotes de *Leishmania* spp. en ovocitos de *Xenopus laevis* y registros de *voltage clamp*, se detectaron corrientes de cloruro dependientes del voltaje. Por lo tanto, en este trabajo se buscaron secuencias putativas para canales de cloruro dependientes del voltaje en el genoma de *Leishmania braziliensis* que dieran origen a las corrientes descritas.

**Materiales y métodos.** Se diseñaron oligonucleótidos cebadores para amplificar el gen *LbrM33\_V2.1260* por PCR convencional, lo que codificaría un canal de cloruro putativo. Se extrajo ARN total

de *L. braziliensis* y se sintetizó ADNc mediante RT-PCR. Los amplificados se comprobaron por electroforesis en geles de agarosa. El análisis funcional pronóstico de la secuencia de aminoácidos putativa codificada por este gen, se hizo mediante herramientas bioinformáticas.

**Resultados.** Se obtuvo un producto amplificado de 2.736 pb, peso esperado, correspondiente al gen *LbrM33\_V2.1260*. La secuencia putativa de aminoácidos codificada por este gen predice un canal de cloruro dependiente del voltaje. Filogenéticamente, se agrupa con canales de cloruro en especies cercanas evolutivamente y canales de tipo CLC-6, que en los mamíferos están ubicados en lisosomas y cotransportan H<sup>+</sup>. Tiene dominios que podrían estar asociados con la regulación o la ubicación celular. La predicción y el modelado de estructura terciaria son confiables en ~87 % y muestran que la proteína putativa tendría dominios transmembrana compatibles con el transporte de cloruro.

**Conclusión.** Este es el primer reporte de la expresión del gen *LbrM33\_V2.1260* en *L. braziliensis*, cuya secuencia parcial tiene ~97 % de identidad con la reportada en las bases de datos. El análisis pronóstico muestra que la proteína que codifica este gen se comportaría como un cotransportador Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> dependiente del voltaje, función que sería determinante y necesaria para la supervivencia de *Leishmania* spp.



### Cytotoxic and pro-apoptotic activities of *Ancylostoma ceylanicum* antigens: implications into the modulation of immune response of hookworm infection

Pedro Henrique Gazzinelli-Guimarães, Elaine Souza-Fagundes, Guilherme Cançado, Virgillio Martins, Lucas Dhom-Lemos, Natasha Ricci, Jacqueline Fiúza, Silvia Regina Costa Dias, Lilian Lacerda Bueno, Rodrigo Rodrigues de Cambraia Miranda, Silvia Guatimosim, Andréa Gazzinelli, Rodrigo Correa-Oliveira, Daniella Castanheira Bartholomeu, Ricardo Toshio Fujiwara Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil

**Introduction.** Hookworm infection is one of the most prevalent parasitic diseases, infecting an estimated 740 million people in tropical and subtropical regions of the world. A robust but largely ineffective immune response, characterized by the ablation of parasite-specific T cell proliferative response (hyporesponsiveness), is often observed in the hookworm infection, resulting in long-term

parasite survival in host intestinal lumen. While several mechanisms of modulation have been demonstrated for hookworm and other neglected tropical infections, the influence of apoptosis in the immunomodulation of hookworm infection is still poorly understood.

**Methodology.** We demonstrated the cytotoxic and pro-apoptotic activity of hookworm excretory/secretory products and adult crude extract in Jurkat T cells, mesenteric lymph nodes lymphocytes of healthy and hookworm-infected hamsters and during human natural infection by MTT assay and flow cytometry, respectively.

**Results.** Our results showed that *in vitro* stimulation of Jurkat T cells with hookworm antigens induces a significant dose-dependent decrease of cell viability leading to a relevant increase of DNA fragmented apoptotic cells. Similar results were also observed in experimental conditions for both healthy and hookworm-infected hamsters' lymphocytes, with significant levels of apoptotic cells in mesenteric lymph nodes of the later group after antigenic stimulation.

Flow cytometric analysis demonstrated that hookworm-infected patients presented a significant increase of CD4+, CD8+, and CD19+ lymphocytes in early and/or late apoptotic stage when compared with non-infected individuals.

Finally, the down-modulation of TNF receptor family members (death receptors), as well as the up-regulation of the pro-apoptotic genes belonging to the BCL-2 and P53 families, observed by qPCR analysis, suggest that hookworm antigens induced apoptosis by an intrinsic mitochondrial pathway.

**Conclusion.** Taken together, our results suggest that apoptosis induced by hookworms may contribute to down-modulate host's immunity and act as a sophisticated strategy to safeguard parasite long-term survival in their hosts.

• • •

### **Caracterización de criaderos naturales del género *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) recuperados en áreas de transmisión de leishmaniasis en Colombia**

Rafael J. Vivero, Horacio Cadena, Eduar E. Bejarano, Sandra I. Uribe, Carolina Torres, Carlos E. Muskus  
Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** Los criaderos naturales donde se desarrollan los ejemplares inmaduros de

las especies del género *Lutzomyia*, son poco conocidos debido al pequeño tamaño de las larvas y su preferencia por lugares con materia orgánica en descomposición de difícil percepción. Para suplir este vacío de información, es necesario abordar y determinar las características de los microhábitats que favorecen y regulan la reproducción, abundancia y distribución de los flebotómíneos, para tratar de controlarlos posteriormente.

**Materiales y métodos.** Se examinaron 160 sitios potenciales de cría en áreas con transmisión de leishmaniasis en los departamentos de Antioquia, Sucre y Chocó, mediante búsqueda directa, incubación y trampas de emergencia. Los ejemplares inmaduros se identificaron por medio de la obtención de adultos en laboratorio y con el análisis molecular del gen *COI*. La evaluación de los parámetros fisicoquímicos de los sustratos y la identificación de las especies arbóreas asociadas, se llevaron a cabo en los sitios positivos con ejemplares inmaduros.

**Resultados.** En 38 sitios de cría se recuperaron 142 individuos, entre larvas, pupas, exuvias y adultos emergidos. Los ejemplares inmaduros se encontraron principalmente en raíces tabloides (n=51), bases (n=35) y huecos de árboles (n=20). Se identificaron 16 especies de flebotómíneos, la mayoría luego de emerger a estado adulto, resaltando la identificación de 18 ejemplares inmaduros que no completaron su ciclo de vida con el gen *COI*.

Algunos factores, como el número de raíces tabloides (Rt 7–11<sup>n</sup>=44 inm), el tipo de corteza (lisa<sup>n</sup>=51 inm; fisurada<sup>n</sup>=15 inm; laminar<sup>n</sup>=31 inm) y las especies arbóreas ornamentales/alimenticias, resultaron determinantes en la agregación de flebotómíneos.

El análisis fisicoquímico sugiere que los criaderos corresponden a suelos húmedos, francos con aireación, con pH neutro con tendencia alcalina y con alto grado de nutrientes disponibles para la alimentación de las larvas.

**Conclusión.** Es factible recuperar los ejemplares inmaduros de flebotómíneos en sus sitios de cría, mantenerlos hasta adultos en laboratorio e identificarlos con el gen *COI*. La información obtenida permitirá evaluar medidas de intervención sobre los criaderos para el control vectorial y para realizar inventarios completos de la fauna de flebotómíneos en los focos de transmisión de leishmaniasis.

• • •

## Evaluación de las técnicas PCR en tiempo real, *Speed-Oligo*® y *Western blot* para el diagnóstico confirmatorio de toxoplasmosis congénita en recién nacidos remitidos al Centro de Investigaciones Biomédicas entre 2009 y 2011, Armenia, Colombia

Raúl Eduardo Rivera, Jorge Enrique Gómez, Néstor Iván Cardona, Fabiana María Lora  
Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

**Introducción.** La infección primaria con *Toxoplasma gondii* durante el embarazo puede resultar en una infección congénita del recién nacido. Cerca de 90 % de los recién nacidos infectados no desarrollan síntomas y entre 30 y 40 % no desarrollan anticuerpos IgM ni IgA en el nacimiento.

El reporte de las técnicas, que generalmente son pruebas serológicas, muestran que en 20 a 30 % de los niños no se hace el diagnóstico, pero tienen un gran riesgo de desarrollar la enfermedad durante su primer año de vida si no se les brinda un tratamiento inmediato. Por esta razón, nuestro objetivo fue evaluar las técnicas de PCR en tiempo real, el estuche comercial *Speed-Oligo*® (Vircell, España) y el estuche comercial de *Western blot IgG/IgM/IgA*® (LD-Bio, Francia) para el diagnóstico confirmatorio de toxoplasmosis congénita.

**Materiales y métodos.** Se utilizaron muestras de sangre de niños recién nacidos con sospecha de infección congénita por *T. gondii*, en quienes se usaron técnicas convencionales para su diagnóstico (ELISA y PCR-avidez IgG, IgM e ISAGA IgA); su estado de infección se definió según los criterios de la Red Europea de Toxoplasmosis Congénita, que son: el aumento en los títulos de IgG en los primeros 12 meses de vida con signos clínicos de la tríada clásica (coriorretinitis, hidrocefalia y calcificaciones intracraneales) o sin ellos; persistencia de IgG positiva en los primeros 12 meses de vida con signos clínicos de la tríada clásica o sin ellos; IgM positiva en los primeros seis meses de vida, e IgA positiva en los primeros seis meses de vida. A estos niños se les practicaron las pruebas de PCR en tiempo real, *Speed-Oligo*® y *Western blot IgG, IgM, IgA*®, a las que se les determinó sensibilidad, especificidad y valor diagnóstico positivo y negativo.

**Resultados.** De acuerdo con los criterios de la Red Europea de Toxoplasmosis Congénita, de 87 casos estudiados, 19 (21,8 %) se consideraron como verdaderos positivos para toxoplasmosis congénita. De ellos, sólo 68,4 % (13/19) fue

diagnosticado por la combinación de las pruebas convencionales y los datos clínicos en los tres primeros meses de vida y 31,5 % (6/19) sólo pudo ser diagnosticado hasta el año de vida.

Con las pruebas convencionales practicadas y los datos obtenidos para el índice de avidez, se obtuvo un nuevo punto de corte para esta técnica que mejora su sensibilidad en el diagnóstico durante el primer mes de vida (62,5 %; IC<sub>95%</sub>: 58-66). En las pruebas evaluadas se obtuvo una sensibilidad de 37% (IC<sub>95%</sub>: 32-42) para el diagnóstico de toxoplasmosis congénita en el primer mes de vida con la PCR en tiempo real; 66 % (IC<sub>95%</sub>: 63-69) con el *Speed-Oligo*®; con el *Western blot IgG*® 50 % (IC<sub>95%</sub>: 44-55); *IgM*®, 45 % (IC<sub>95%</sub>: 39-51) e *IgA*®, 70 % (IC<sub>95%</sub>: 64-75); y para el uso combinado de *Western blot IgG/IgM IgG e IgM*®, 80 % (IC<sub>95%</sub>: 75-84); y *Western blot IgG/IgA*®, 71 % (IC<sub>95%</sub>: 66-76).

**Conclusión.** En este trabajo se demuestra la importancia y la necesidad de realizar el seguimiento durante el primer año de vida de los niños con sospecha de infección congénita, dado que las pruebas convencionales utilizadas no presentan una sensibilidad óptima para el diagnóstico precoz de toxoplasmosis congénita. Sin embargo, también se encontró que la prueba de PCR-avidez puede llegar a ser una buena técnica para la confirmación del diagnóstico temprano de esta enfermedad, al igual que la detección combinada de anticuerpos IgG e IgM mediante *Western blot*.

• • •

## Efecto de los inhibidores de anhidrasa carbónica en ejemplares inmaduros y adultos de *Anopheles albimanus*: alternativa de control para la malaria

Raúl Leonardo Rocha, Carolina Torres, Wilmer Soler, Sara María Robledo  
Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** Entre las nuevas aproximaciones para reducir la transmisión de la malaria se encuentran los compuestos bloqueadores de la transmisión, siendo los más promisorios aquellos que inhiben enzimas clave en los procesos involucrados en el desarrollo de *Plasmodium*, como la familia de las anhidrasas carbónicas. En el sistema digestivo del mosquito, las anhidrasas carbónicas están involucradas en el mantenimiento del pH, y su inhibición tiene implicaciones en procesos fisiológicos importantes en el intestino posterior, donde se almacena y se digiere la sangre.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de cuatro inhibidores de anhidrasa carbónica: acetazolamida, metazolamida, etoxzolamida y dorzolamida, sobre larvas y adultos de *Anopheles albimanus*.

**Materiales y métodos.** En larvas de tercer estadio de *Anopheles albimanus* (cepa Cartagena), se evaluó la mortalidad 24, 48 y 72 horas después de la exposición a una concentración de 50 µg/ml de inhibidores de anhidrasa carbónica, siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud. En adultos, se usaron dos ensayos de alimentación artificial con sangre no infectada combinada con acetazolamida, metazolamida, etoxzolamida y dorzolamida a tres concentraciones, para determinar la recuencia de alimentación, fecundidad y supervivencia. Además, se aislaron intestinos obtenidos de adultos para medir la actividad esterasa de la anhidrasa carbónica y su inhibición con tres concentraciones de inhibidores mediante un método espectrofotométrico.

**Resultados.** Los inhibidores de la anhidrasa carbónica mostraron un efecto letal sobre las larvas con rangos que oscilaban entre 30 % y 97 % de mortalidad 72 horas después de la aplicación. En adultos, los inhibidores de la anhidrasa carbónica fueron inocuos, no afectaron la alimentación, la fecundidad ni la supervivencia después de dos ingestiones sanguíneas. La actividad de las anhidrasas carbónicas en el intestino medio fue inhibida por acetazolamida, metazolamida y dorzolamida, a una concentración de 10 mM.

**Conclusión.** Nuestros resultados aportan bases importantes para postular a los inhibidores de la anhidrasa carbónica como una alternativa de bloqueo de la transmisión para el control de la malaria.



### **Determinación de la variabilidad genética entre poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), vector del virus del dengue, en los municipios de Sincelejo y Guaranda, departamento de Sucre**

Sandy Caldera<sup>1</sup>, Cristina Jaramillo<sup>1</sup>, Suljey Cochero<sup>2</sup>, Alveiro Pérez-Doria<sup>1</sup>, Eduar Bejarano<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Departamento Administrativo de Seguridad Social en Salud de Sucre, Sincelejo, Colombia

**Introducción.** El dengue constituye un problema prioritario en salud pública y actualmente la principal alternativa de control es la vigilancia entomológica

de *Aedes aegypti*, pero poco es lo que se conoce sobre la variabilidad genética de este insecto en el país y su adaptación a los ambientes urbanos sobre los cuales se ejercen constantes presiones selectivas.

Entre éstas se incluye el uso de insecticidas y, debido a ello, nuestro principal objetivo fue determinar la variabilidad genética de las poblaciones de *Aedes aegypti* de Sincelejo y Guaranda, usando el gen mitocondrial *ND4*.

**Materiales y métodos.** Se hizo un muestreo aleatorio recolectando larvas de tercer y cuarto estadio de *Ae. aegypti*, que fueron sometidas a condiciones estándares de cría hasta completar su desarrollo. Posteriormente, se observaron bajo estereomicroscopio para su determinación taxonómica. A las hembras se les extrajo ADN y se amplificó un fragmento de 380 pb del gen *ND4* por PCR. Los productos amplificados fueron secuenciados y, mediante la comparación de las secuencias, se hizo el análisis de la variabilidad genética.

**Resultados.** Se obtuvieron 36 secuencias de 281 pb y se detectaron 10 haplotipos. En la población de Guaranda, se observó un mayor número de haplotipos. El haplotipo 1 es el más frecuente. Las pruebas de neutralidad demostraron que el polimorfismo genético sigue la teoría neutral de la evolución molecular. El AMOVA mostró un alto componente de variación equivalente a 85 %, que se atribuye a la variación genética dentro de la población, mientras que, entre poblaciones presentó 15 % de variación. Los valores de estructura genética ( $F_{st}=0,15$ ) y flujo genético ( $Nm=1,40$ ) mostraron una gran diferenciación genética y la existencia de flujo genético limitado entre ambas poblaciones.

**Conclusión.** Este estudio ha reunido un conjunto de hallazgos que demuestran que entre las poblaciones de *Ae. aegypti* de Sincelejo y Guaranda existe variabilidad genética, llegando a estar genéticamente diferenciadas.



### **Clonación, expresión y evaluación de proteínas antigénicas recombinantes de *Leishmania infantum***

Sasha Silva-Barrios, Limari González, Elizabeth Márquez, Ana Cáceres, Juan Luis

Concepción

Laboratorio de Enzimología de Parásitos, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

**Introducción.** La leishmaniasis visceral es una enfermedad parasitaria producida por *Leishmania*

*infantum* y representa un problema de salud pública. El diagnóstico serológico de esta enfermedad se hace mediante diversas pruebas, las cuales, en su mayoría, tienen baja sensibilidad y especificidad debido a la calidad de los antígenos empleados. Con el propósito de identificar nuevos antígenos, se clonó, secuenció, "sobreexpresó" y purificó la región repetida de la cinesina K346 (LinJ16.1750) de *L. infantum*.

**Materiales y métodos.** La capacidad antigénica de la proteína recombinante se evaluó mediante las técnicas ELISA y MABA, frente a sueros de leishmaniasis visceral y enfermedades bacterianas, virales y parasitarias. Además, se usó como patrón de referencia una variante del antígeno recombinante rK39 (rK26).

**Resultados.** Se encontró que ambas proteínas son antigénicas frente a los sueros con leishmaniasis visceral; con las ELISA practicadas en sueros humanos se obtuvo una sensibilidad de 100 %, tanto para la proteína rK26 como para la mezcla de rK26 y rK346, mientras que para rK346 la sensibilidad fue de 59,3 % y la especificidad de 94,4 %. En los sueros caninos se obtuvo una sensibilidad de 91 % para rK346 y de 100 % para rK26 y para la mezcla; la especificidad fue de 100 % para los antígenos por separado y de 88 % para su mezcla. Con la técnica MABA en sueros humanos se obtuvo una sensibilidad de 91 % para rK346, y de 100 % para la mezcla y para rK26, mientras que la especificidad para todos los antígenos fue de 100 %. Frente a los sueros caninos, la sensibilidad y especificidad fueron de 100 % para los diferentes antígenos.

**Conclusión.** Los valores del índice kappa obtenidos indican que existe concordancia entre los diferentes ensayos realizados. Las proteínas recombinantes presentaron un carácter antigénico, y fueron sensibles y específicas para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral de humanos y perros, empleando las técnicas ELISA y MABA.



### **Estudio de la respuesta de anticuerpos específicos de tipo IgE contra *Ascaris lumbricoides* en comunidades rurales del estado Miranda**

Sonia Pestana

Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

**Introducción.** La ascaridiasis es una infección cuyo agente etiológico es el parásito *Ascaris lumbricoides*, el cual es el más grande de los nematodos que parasita el intestino humano. En

Venezuela, la infección por *A. lumbricoides* es la geohelmintiasis de mayor importancia en salud pública debido a su gran frecuencia y morbilidad. Además, la infección induce gran producción de IgE y manifestaciones alérgicas.

La identificación de antígenos derivados del parásito, que sean capaces de estimular la respuesta inmunológica de tipo IgE en poblaciones endémicas, permitiría estudiar la respuesta de anticuerpos, que ha sido reportada por algunos autores como protectora, y diferenciar los individuos resistentes de los sensibles. La investigación en nuestro país sobre este aspecto ha sido poco explorada. Estos resultados permitirían desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico y estudiar más a fondo la relación del parásito, la inducción de alergias y su posible papel protector.

En este trabajo se estudió la respuesta específica de anticuerpos de tipo IgG e IgE contra extractos de vermes adultos de *A. lumbricoides* en el suero de 117 individuos que habitaban en zonas rurales; de ellos, 95 % eran niños de comunidades rurales del estado Miranda y de dos hospitales de Caracas.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron 117 individuos que habitaban en comunidades rurales del estado Miranda, Venezuela, de los cuales 111 eran niños con un rango de edad de 3 a 16 años, 57 individuos del sexo femenino y 54 individuos del sexo masculino.

El perfil proteico se determinó usando extractos solubles de *A. lumbricoides*, mediante una electroforesis en geles de poliacrilamida al 10 % SDS-PAGE. Dichos geles se tiñeron con azul de Coomassie o se transfirieron a membranas de PVDF. Las proteínas inmunógenas reconocidas por los anticuerpos de tipo IgG e IgE, presentes en el suero de individuos infectados, contra los extractos de *A. lumbricoides*, se identificaron por *Western blot*. La medición de la respuesta específica de anticuerpos contra las proteínas de extractos de *A. lumbricoides* se hizo mediante la técnica ELISA.

**Resultados.** De los 117 individuos estudiados, 74 fueron positivos para *A. lumbricoides* y 40 ellos poseían otras parasitosis en las siguientes porcentajes: *Trichuris trichiura*, 28 %; *Blastocystis hominis*, 23 %; *Giardia duodenalis*, 19 %; *Entamoeba histolytica/dispar* y *E. coli*, 13 %, y, finalmente, 2 % parasitados con *Strongyloides stercoralis* y huevos de anquilostomidos.

El perfil proteico mostró al menos 16 bandas con masas moleculares de 148, 101, 95, 75, 67, 60, 56, 53, 51, 41, 39, 34, 32, 31 y 26 kDa. Por *Western Blot* se detectaron proteínas inmunógenas de 41, 30 y

29 kDa para la respuesta IgG, mientras que para IgE se identificaron antígenos de 52, 49, 41, 29 y 26 kDa, respectivamente. La proteína de 41kDa se reportó recientemente como la tropomiosina en el suero de pacientes infectados.

Las pruebas ELISA que medían los niveles de anticuerpos IgE anti-*Ascaris* permitieron diferenciar mejor los grupos seropositivos de los seronegativos.

Sin embargo, algunos individuos positivos en heces mostraron bajos niveles de anticuerpos IgE, tal vez como señal de una infección primaria o reciente.

**Conclusión.** Este trabajo nos permitió identificar, al menos, 16 bandas proteicas entre 148 y 26 kDa, de las cuales fueron identificadas varias proteínas inmunógenas para IgG e IgE. Se destacaron principalmente cinco proteínas (52, 49, 41, 39 y 31 kDa) que podrían asociarse a la presencia del parásito; además, se identificaron componentes antigénicos para el diagnóstico o en el contexto de lo reportado por algunos autores donde la respuesta IgE específica podría ser protectora.

• • •

### **Comparación del comportamiento de anticuerpos específicos frente a antígenos de helmintos en niños de comunidades rurales de Venezuela: influencia de la etnia**

Tatiana Giusti

Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

**Introducción.** Las helmintiasis intestinales continúan siendo unas de las enfermedades más prevalentes y representan un obstáculo para el desarrollo de las poblaciones rurales en países tropicales. En vista de la multiplicidad de etnias de la población venezolana, se plantea la investigación de factores que expliquen la diversidad observada en la respuesta inmunitaria frente a parásitos intestinales, en comunidades de diversos grupos étnicos.

**Materiales y métodos.** Se hizo una evaluación clínica integral a todos los niños (n=193) que acudieron a la convocatoria en cada comunidad, acompañada de una evaluación de los factores socioeconómicos, socioambientales, biomédicos, inmunológicos y culturales de cuatro grupos étnicos venezolanos (mestizos, afroamericanos e indígenas panare y warao), en busca de explicaciones para las diferencias observadas en el patrón de su infección parasitaria y su respuesta inmunitaria.

**Resultados.** Los cuatro grupos presentaron altas prevalencias de helmintos, pero bajas cargas parasitarias. En todos los grupos las condiciones

socioeconómicas, socioambientales y biomédicas distan de ser las ideales. Sin embargo, el grupo afroamericano, que fue el de menor riesgo global, presentó las mayores prevalencias e intensidad de infección de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*. El grupo panare, que presentó la mayor presencia de factores de riesgo, fue el grupo con menor prevalencia parasitaria; sin embargo, presentó una prevalencia llamativa de anquilostomídeos.

**Conclusión.** Los resultados de este trabajo demuestran que la influencia de la etnia sobre la respuesta inmunitaria frente a helmintos intestinales es multifactorial. Los factores determinantes genéticos, probablemente variables de un grupo étnico a otro, parecen ser modulados por las características de su modo de vida y la exposición a estadios infecciosos de helmintos intestinales, las cuales se agruparon en este trabajo como factores socioeconómicos, socioambientales, biomédicos y culturales. Futuros estudios podrán demostrar las diferencias genéticas entre los grupos que no fueron abordadas en esta investigación.

Sin embargo, por primera vez en nuestra población, se demostró que los factores determinantes exógenos son capaces de modular la expresión de la respuesta inmunitaria frente a helmintos intestinales. Más aún, se demostró que entre poblaciones rurales con nivel similar de pobreza, variables adicionales a las descritas clásicamente en la literatura científica pueden estar modulando la prevalencia e intensidad de infecciones parasitarias.

Estos hallazgos justifican que se incluya en un programa de control la determinación del perfil inmunológico de cada comunidad para predecir el éxito de las intervenciones que se programen en cuanto a tratamiento antihelmíntico.

Por otro lado, la evaluación de los factores sociales y culturales, particulares de cada comunidad, permitiría el diseño adecuado de intervenciones de promoción y educación para la salud. De esta forma, se lograría la incorporación profunda de la información y la participación comunitaria en el diseño de soluciones, para que sean sentidas como propias y se incorporen paulatinamente en la cultura de las poblaciones afectadas, sin menosprecio de la cultura autóctona.

Por último, es necesario destacar que los organismos no son perfectos y que han sido seleccionados para responder, en forma óptima, a los desafíos y las condiciones encontradas por sus ancestros.

• • •

## Tratamiento fotodinámico con nuevos derivados porfirínicos en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea

Viviana Milena Taylor<sup>1</sup>, David Leonardo Cedeño<sup>2</sup>, Iván Darío Vélez<sup>1</sup>, Sara María Robledo<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Chemistry Department, Illinois State University, Normal, IL, USA

**Introducción.** El tratamiento fotodinámico surge como una alternativa prometedora, con menor toxicidad y resultados cosméticos favorables, en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea.

**Materiales y métodos.** La citotoxicidad de cetales, benzodiazoloporfirinas, acenaftoporfirinas y formulaciones liposómicas de los mismos, se evaluó *in vitro* en células U937 y macrófagos peritoneales de hámster por MTT.

La efectividad se evaluó en amastigotes de *Leishmania* por MTT, citometría de flujo o  $\beta$ -lactamasa, según la especie evaluada. La eficacia *in vivo* se evaluó en hámsters dorados infectados con *Leishmania amazonensis* y tratados con los nuevos compuestos, con y sin exposición a luz visible.

La toxicidad *in vivo* se evaluó según química sanguínea, cuadro hemático e histopatología. La toxicidad dérmica aguda se evaluó siguiendo el protocolo OECD 402.

El mecanismo de acción de los compuestos se determinó según el aumento en la producción de ROS en promastigotes de *Leishmania panamensis* por citometría de flujo. La actividad antiinflamatoria se evaluó según los niveles de MCP-1, COX-2, TGF- $\beta$ 1 e IFN- $\gamma$  en fibrocitos humanos y el potencial cicatrizante se evaluó en células BHK-21 por Cytoselect™.

**Resultados.** Los derivados porfirínicos fueron activos *in vitro* contra amastigotes, demostrándose el efecto fotodinámico. Aunque se observó toxicidad, tanto en presencia como en ausencia de liposomas, la toxicidad fue menor para macrófagos peritoneales de hámster que para U937. *In vivo*, los compuestos mostraron eficacias entre 50 y 100 % y poca toxicidad. Se observó inducción de estrés por oxidación, por aumento en la producción de superóxido y peróxidos mitocondriales, con daño y muerte del parásito. El aumento en valores de MCP-1, COX-2, TGF- $\beta$ 1, la disminución de IFN- $\gamma$  y la rápida migración de las células en respuesta al estímulo de los compuestos, sugieren un papel antiinflamatorio y cicatrizante de los compuestos.

**Conclusión.** Los nuevos derivados porfirínicos poseen potencial para su uso en el tratamiento fotodinámico de la leishmaniasis cutánea. Es necesario trabajar en estudios de bioequivalencia que permitan su posterior evaluación en estudios clínicos en la población afectada.

• • •

## Evaluación de la rifampicina de la infección por *Trichinella spiralis* en la fase intestinal en el modelo experimental de ratón

Zuleika Quiroz, Claudia Maldonado, José Jesús Muñoz, María Alejandra Moreno

Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México

**Introducción.** La triquinelosis es una enfermedad parasitaria de distribución mundial que, infortunadamente, sigue vigente y no se ha establecido un tratamiento eficiente y sin complicaciones para el huésped. Actualmente, el tratamiento utilizado para la triquinelosis es la administración de mebendazol y albendazol, los cuales son efectivos contra el parásito sólo si se administran por periodos prolongados, lo que causa reacciones secundarias en el huésped.

**Objetivo.** Evaluar la utilidad de la rifampicina en la infección por *Trichinella spiralis* en la fase intestinal en el modelo experimental de ratón,

**Material y métodos.** Se infectaron 50 ratas Long Evans de dos meses y medio de edad, con 500 larvas, y se dividieron en cinco grupos: grupo uno (control de infección), con 10 ratas sin tratamiento de rifampicina; grupo dos, con 10 ratas con tratamiento de rifampicina con dosis ajustada de humanos para ratas (5 mg/kg de peso para todos los grupos por diez días), el cual se inició el primer día de la infección; grupo tres, con 10 ratas con tratamiento de rifampicina el cual se inició al séptimo día después de la infección; grupo cuatro, con 10 ratas con tratamiento de rifampicina, el cual se inició al día quince después de la infección, y grupo cinco, con 10 ratas con tratamiento de rifampicina treinta días después de la infección. Todos los grupos se sacrificaron veinte días después de terminar el tratamiento.

Los parámetros evaluados fueron: peso corporal y talla (al inicio del experimento y al sacrificio de los animales en todos los grupos en estudio), toma de muestra sanguínea antes de la infección con *T. spiralis* y al momento del sacrificio, carga parasitaria mediante la técnica directa de digestión artificial, características de la célula nodriza

mediante la técnica de compresión de tejido, digestión artificial y tinción de hematoxilina-eosina y la respuesta inmunológica mediante las técnicas de microinmunodifusión doble (MIDD) y *Western blot*.

**Resultados.** En la compresión en placa, en el grupo control se observó la célula nodriza bien definida y dentro de ella la larva infecciosa con sus características propias en espiral. En los grupos tratados se destacó la ausencia de la célula nodriza con alteraciones y modificación morfológica de la larva infecciosa. En la digestión artificial, en el grupo control se observaron las larvas infecciosas con su morfología en espiral, su esticosoma y su parte posterior y anterior bien definidas. En los cuatro grupos tratados se observaron fragmentos del parásito, salida de su contenido interior y pérdida de su morfología característica en espiral. En la tinción de hematoxilina y eosina, en el grupo control infectado se observó *T. spiralis* dentro de la célula nodriza, así como presencia de células polimorfonucleares. En los cuatro grupos tratados, se observaron modificaciones de la célula nodriza

y de la larva infecciosa, incluso ausencia de ésta y regeneración del tejido muscular. En la microinmunodifusión doble en el grupo control se observaron dobles bandas de precipitación de la interacción antígeno-anticuerpo en los grupos uno y tres se observaron dobles bandas de precipitación, y los grupos dos y cuatro tuvieron un escaso doble bandeo de precipitación. En el *Western blot* se observó el triplete característico de la parasitosis de *T. spiralis*, 42, 45 y 48 kDa.

El presente estudio se analizó con el programa Strargraphics®, versión 5.1, en el cual se obtuvo el resultado del análisis de varianza para determinar un resultado estadísticamente significativo sobre viabilidad. El valor de p fue de 0,001, lo que demuestra que este factor es estadísticamente significativo sobre el efecto de viabilidad con un nivel de confianza de 95 %.

**Conclusión.** La rifampicina fue efectiva contra *T. spiralis* en los diferentes estadios de su desarrollo, fue estadísticamente significativa sobre la viabilidad y no presentó efectos colaterales visibles.

