

Presentaciones libres

VIRUS RESPIRATORIOS

PL-02. Genotipos de virus sincitial respiratorio circulantes en Colombia del 2000 al 2009

Viviana Ávila¹, Eliana Calvo², Paola Pulido³, Juliana Barbosa³, Jairo Méndez³, Gloria Rey-Benito³, Andrés Páez³, Juan David Ramírez², Myriam Velandia-Romero², Jaime E. Castellanos^{1,2}

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

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

³ Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Dada su alta prevalencia, las infecciones respiratorias representan una gran carga para los sistemas de salud en todo el mundo. Los brotes anuales de infecciones por el virus sincitial respiratorio afectan principalmente a la población infantil. En Colombia se han hecho estudios relacionados con el comportamiento clínico y epidemiológico de este virus, pero no hay datos sobre su epidemiología molecular.

El objetivo de este estudio fue establecer los genotipos circulantes del virus sincitial respiratorio en Colombia en el periodo comprendido entre los años 2000 y 2009 en muestras recolectadas en el marco de la vigilancia centinela en el país.

En dicho periodo se recolectaron más de 7.000 muestras que fueron analizadas por inmunofluorescencia para evaluar la presencia de siete virus respiratorios. En 198 de las 448 muestras estudiadas se detectó ARN del virus y, posteriormente, un fragmento del gen de la glucoproteína G del virus se amplificó y se secuenció en 35 muestras seleccionadas al azar (20 del subtipo A y 15 del subtipo B), para identificar el genotipo.

Los virus estudiados se agruparon con secuencias reportadas previamente en diferentes países: los genotipos del subtipo A fueron el GA2 (n=12) y el GA5 (n=8), mientras que los del subtipo B fueron el BA (n=13) y el URU1 (n=2).

La diversidad genética de las secuencias obtenidas fue evidente, ya que las muestras de un mismo genotipo recolectadas en el mismo año se agruparon en diferentes ramas de los árboles filogenéticos. Además, no se observaron relaciones específicas de las muestras evaluadas ni en espacio ni en tiempo. Este es el primer estudio en que se evalúan los genotipos del virus sincitial respiratorio en nuestro país.

..... ✕

PL-03. Optimización e introducción de nuevos ensayos de PCR en tiempo real para el diagnóstico y la vigilancia de 15 virus respiratorios humanos

María Karla Martínez¹, Alexander Piñón², Belsy Acosta², Odalys Valdés², Mayra Muné², Clara Savón², Amely Arencibia², Grehete González², Suset Oropesa², Angel Goyenechea², Guelsys González², Bárbara Hernández², Rosmery Roque²

¹ Laboratorio de Antivirales Naturales, Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba

² Laboratorio Nacional de Referencia de Virus de la Influenza y Otros Virus Respiratorios, Departamento de Virología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba

Las infecciones respiratorias agudas constituyen la causa fundamental de mortalidad y morbilidad a nivel mundial, siendo sus principales agentes causales los virus respiratorios. La detección rápida y precisa de estos patógenos mediante los métodos moleculares de diagnóstico es determinante en el tratamiento y la prevención de las enfermedades que ocasionan.

El objetivo del presente trabajo fue optimizar un sistema de transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa múltiple en tiempo real para el diagnóstico de 15 virus respiratorios causantes de infección respiratoria aguda. Se analizaron 352 exudados nasofaríngeos entre julio y agosto de 2013. Se les realizó el diagnóstico por

un sistema múltiple en tiempo real y se comparó con un sistema múltiple a punto final como técnica de referencia. Se determinó la sensibilidad, la especificidad, el valor diagnóstico positivo y el negativo y el índice kappa del sistema en tiempo real. Se emplearon muestras de control positivas de cada virus y se comparó su detección con un sistema simple y uno múltiple en tiempo real para determinar la eficiencia del sistema bajo evaluación. El sistema optimizado se introdujo en el diagnóstico del laboratorio entre septiembre del 2013 y mayo del 2014.

Se obtuvieron 162 muestras positivas mediante el diagnóstico por el método en tiempo real, y 112 por el método a punto final. La sensibilidad fue de 100 %, la especificidad de 98,4 %, el valor diagnóstico positivo de 67 %, el valor diagnóstico negativo de 100 % y el índice kappa promedio de la técnica en evaluación fue de 0,8. Los valores de eficiencia para el sistema múltiple estuvieron dentro del rango: 90,30 a 103,09 %, muy similares a los obtenidos con el sistema simple. Al introducir el ensayo optimizado, se obtuvieron 1.290 muestras clínicas positivas para alguno de los virus respiratorios, correspondiendo el mayor número de positivos al virus sincitial respiratorio humano.

El sistema múltiple en tiempo real resultó ser más sensible que el sistema múltiple a punto final y se comportó con valores de eficiencia similares al sistema simple en tiempo real. Estos ensayos optimizados permitieron actualizar el algoritmo para el diagnóstico y la vigilancia de los virus respiratorios en Cuba.

..... ✕

PL-04. Impacto de la circulación del virus de la influenza y otros virus respiratorios en Colombia, 2013 - 2015

Juliana Barbosa-Ramírez¹, Erika Ospitia¹, Diana Carolina Malo², Paola Andrea Pulido²

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

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

Las infecciones respiratorias son las principales causas de morbilidad y mortalidad y se consideran un problema de salud pública; los virus son responsables de 80 a 90 % de dichas infecciones.

La circulación viral varía de año a año, con predominio de un virus en especial. La vigilancia por el laboratorio del virus de la influenza y de otros virus respiratorios apunta a conocer su circulación, con el fin de contribuir a la adopción de acciones en salud pública.

En este estudio se determinó la circulación del virus de la influenza y de otros virus respiratorios en el marco de la vigilancia de la infección respiratoria aguda en Colombia entre el 2013 y el 2015.

Se revisaron las bases de datos del Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud del 2013 al 2015, y se estudiaron las muestras con resultados positivos que se habían procesado mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real (protocolo CDC) para la identificación del virus de la influenza y de otros 19 virus respiratorios.

En el 2013, las muestras positivas representaron el 27,3 %; en el 2014, el 21,9 %, y en el 2015, el 52,4 %. Los virus más frecuentes fueron el virus sincitial respiratorio (53 %), el de la influenza A (24 %), el virus de la enfermedad aleutiana (12 %), el metapneumovirus humano (7 %) y otros virus como el bocavirus, el enterovirus y el coronavirus (4 %); el promedio de edad de los pacientes fue de 27 años (rango de 2 meses a 85 años). El 43,4 % de las muestras positivas correspondía a infecciones concomitantes.

Las últimas temporadas de infección respiratoria de origen viral en el país han estado asociadas al virus sincitial respiratorio y al de la influenza A, y los grupos de población más afectados fueron los situados en los extremos de la vida, principalmente los menores de 2 años y los mayores de 60 años. Se destaca el papel del laboratorio en la detección de virus nuevos o emergentes como el metapneumovirus humano y el enterovirus D68, los cuales empiezan a jugar un papel importante en las infecciones respiratorias agudas en Colombia.

..... ✕

PL-50. Impacto económico de la introducción de una nueva técnica diagnóstica en la estrategia de vigilancia centinela de la enfermedad respiratoria aguda en el Distrito Capital

Liliana Díaz¹, Sandra Gómez¹, Patricia Arce¹, Juan David Rueda², Hernán Vargas¹

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

² Escuela de Farmacia, Universidad de Maryland, Maryland, USA

La enfermedad respiratoria aguda es una de las enfermedades sujetas a la vigilancia epidemiológica en el Distrito Capital por medio de la estrategia de vigilancia centinela, la cual permite establecer el perfil viral circulante mediante pruebas moleculares y de inmunofluorescencia para el diagnóstico de siete virus. Con las nuevas técnicas dicho perfil se ha ampliado a 19 virus respiratorios, pero estas aún no han sido incluidas en el programa de enfermedades respiratorias agudas, ni se ha determinado su impacto en término de costos. Este estudio se propuso evaluar el impacto de la introducción de una nueva prueba diagnóstica para la vigilancia de estas enfermedades en un laboratorio de referencia de Bogotá, Colombia.

Desde la perspectiva de la Secretaría Distrital de Salud se hizo un análisis del impacto que significaría para el presupuesto dedicado a la

infección respiratoria aguda grave la introducción de una nueva técnica en la estrategia de vigilancia centinela con un horizonte temporal de cinco años (2013-2017), para lo cual se determinaron los costos directos de las pruebas y su impacto en el programa de vigilancia de la enfermedad respiratoria aguda.

La nueva técnica se introdujo en forma progresiva hasta llegar al 75 % de su aplicación en todas las pruebas que se llevan a cabo en el Laboratorio de Salud Pública para la detección viral con proyección a cinco años; el incremento en el presupuesto fue de \$203'463.717 (27 %) adicionales al monto utilizado en las pruebas actuales.

La ampliación del perfil viral, lo que refleja de manera más fiel la realidad, permite reformular las políticas públicas en cuanto al diagnóstico, el tratamiento y el pronóstico de la enfermedad respiratoria aguda en la población de Bogotá desde la óptica del laboratorio de referencia.

..... ✕

VIRUS DE TRANSMISIÓN SEXUAL

PL-09. Caracterización molecular y genómica de la transmisión de madre a hijo del virus linfotrópico humano de tipo 1 en el suroccidente colombiano

Felipe García-Vallejo

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

El actual enfoque sistémico de la transmisión vertical del virus linfotrópico humano de tipo 1 involucra nuevas variables relacionadas con su biología molecular y con su proceso de integración en el genoma huésped, las cuales permiten caracterizar la dinámica de la transmisión de madre a hijo. Con esta aproximación se ha estudiado la infección por el virus en familias de Tumaco.

Se incluyeron distintas variables para evaluar en las madres y en su progenie el estado de inmunidad humoral en plasma y en fluidos orales, así como la cuantificación de la carga proviral, la variación de las secuencias de nucleótidos de los genes virales y el comportamiento de algunas variables genómicas estructurales y funcionales de aquellas zonas del genoma donde ocurre integración de

ADN complementario. Se registraron correlaciones estadísticamente significativas entre los anticuerpos IgG y la carga proviral y entre los anticuerpos IgM y la IgA1 en plasma.

Se demostró en todos los casos de transmisión de madre a hijo un porcentaje de homología secuencial de los provirus mayor al 98 %, lo que indica la constancia del genoma proviral durante la transmisión de madre a hijo. Por primera vez se estudió el proceso de integración del ADN complementario retroviral diferencial entre madres e hijos en familias de Tumaco, y se evaluó estadísticamente una serie de variables genómicas que permitieron definir el ambiente genómico diferencial cambiante durante el proceso de transmisión.

Vistos de manera integral, los resultados permitieron evaluar un modelo sistémico de la transmisión familiar del virus linfotrópico humano de tipo 1 en Tumaco. Estos resultados se convierten en referencia para la reproducción del estudio en otras zonas del continente que tengan características epidemiológicas y sociodemográficas semejantes.

El logro alcanzado abre una nueva frontera de la epidemiología que incorpora el componente serológico, la variación molecular de provirus y el

aspecto genómico en los perfiles de integración para así abordar sistémicamente la transmisión familiar del virus. Se recomienda a las autoridades de salud pública adoptar esta aproximación para lograr una vigilancia epidemiológica moderna y efectiva.

..... ✕

PL-10. Comparación de las técnicas de electrotransferencia disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por HIV-1: *Western blot* e inmunoensayos en línea

Esther Cristina Barros¹, Mauricio Beltrán²

¹ Subdirección de Laboratorio Nacional de Referencia, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

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

Las pruebas de electrotransferencia son las más utilizadas para el diagnóstico de la infección por HIV y en Colombia constituyen la prueba confirmatoria de elección. Dichas pruebas incluyen los ensayos de *Western blot*, los cuales utilizan las proteínas nativas del virus como antígenos, y los inmunoensayos en línea, que emplean péptidos sintéticos y proteínas recombinantes como antígenos.

En este estudio se evaluó el desempeño analítico de los resultados del diagnóstico de HIV obtenidos por *Western blot* e inmunoensayos en línea.

Se utilizaron 255 muestras de suero caracterizadas así: 58 muestras con anticuerpos detectables contra HIV y 197 muestras sin estos. Las muestras se procesaron con dos estuches comerciales de *Western blot* y uno de inmunoensayo en línea según las recomendaciones de los fabricantes. El análisis de los parámetros de desempeño se hizo con los programas estadísticos Epidat 3.1 y Stata 9.2.

La sensibilidad obtenida experimentalmente por los tres estuches concordó con la reportada por el fabricante: 93,1 % para el inmunoensayo en línea, y 93,1 y 89,7 % para los dos ensayos de *Western blot*. En cuanto a la especificidad, los valores obtenidos (65,5 y 27,4 %) para los estuches de *Western blot* evaluados difirieron de los reportados por los fabricantes; en el inmunoensayo en línea la especificidad estuvo por encima de lo reportado por el fabricante para este parámetro (99 %). El análisis de la concordancia entre los métodos

mostró una concordancia moderada y leve entre el inmunoensayo en línea y los dos ensayos de *Western blot*.

El inmunoensayo en línea tuvo un buen desempeño analítico en comparación con los ensayos de *Western blot*, pero la concordancia observada entre los métodos evaluados estuvo por debajo de lo esperado de la comparación. Estos resultados muestran que los inmunoensayos en línea pueden considerarse ensayos alternativos a los de *Western blot*, y resaltan la necesidad de incluir otras pruebas de laboratorio diferentes a estas para el diagnóstico de la infección por HIV en el algoritmo que se emplea en el país.

..... ✕

PL-11. Eventos fractales relacionados con fenómenos epigenéticos del genoma humano en la integración de los lentivirus humanos

Lina Andrea Alzate¹, Martha C. Domínguez¹, Adalberto Sánchez¹, Patricia Vélez², Pedro Antonio Moreno³, Felipe García-Vallejo¹

¹ Laboratorio de Biología Molecular y Patogénesis, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Grupo BIMAC, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

³ Grupo de Bioinformática, Escuela de Ingeniería de Sistemas y Computación, Facultad de Ingenierías, Universidad del Valle, Cali, Colombia

La integración del ADN complementario de los lentivirus en el genoma humano es uno de los procesos más complejos en la dinámica y la función del virus durante el desarrollo de la enfermedad. La evidencia actual demuestra que la integración del ADN complementario de estos virus no se da al azar, pues algunas condiciones topológicas de la cromatina interfásica son importantes para determinar el "nicho" genómico de integración.

Este estudio se propuso caracterizar la multifractalidad como variable epigenética en la integración de los lentivirus.

En la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), se seleccionaron 2.184 secuencias (2.098 secuencias de HIV-1 y 191 de HIV-2) de 100.000 pb de longitud alrededor de sitios de integración, las cuales correspondían a regiones que flanqueaban los extremos

de repeticiones terminales largas de provirus en macrófagos y de células mononucleares de sangre periférica depositadas en el NCBI. Estas se analizaron empleando un algoritmo de análisis multifractal y se correlacionaron con diferentes variables genómicas como los contenidos de secuencias Alu, las islas CpG y los genes, entre otras.

Se determinó que el HIV-1 se integraba en regiones de multifractalidad baja y media, mientras que el HIV-2 lo hacía en aquellas de multifractalidad media. Además, se obtuvieron correlaciones estadísticamente significativas entre la multifractalidad de las secuencias y los contenidos de secuencias repetidas del tipo Alu e islas CpG para ambos tipos de virus.

Con base en los resultados obtenidos, se propone un modelo no lineal descriptivo para el proceso de integración de los lentivirus más importantes en salud humana, el cual tiene algunas implicaciones biológicas. Esta organización no lineal de la integración, que se apoya en el modelo de predicción propuesto, es relevante para comprender el papel de la interacción entre el virus y el huésped humano. Igualmente, se demostró que las regiones del genoma humano donde ocurrieron las integraciones estaban relacionadas con genes localizados en zonas de multifractalidad baja y media y bajo contenido de secuencias Alu.

..... ✕

PL-12. Integración preferencial del ADN complementario de los lentivirus humanos en cromosomas con alto nivel de multifractalidad

Felipe García-Vallejo¹, Martha C. Domínguez¹, Adalberto Sánchez¹, Patricia Vélez², Pedro Moreno³

¹ Laboratorio de Biología Molecular y Patogénesis, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Grupo BIMAC, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

³ Grupo de Bioinformática, Escuela de Ingeniería de Sistemas y Computación, Universidad del Valle, Cali, Colombia

En estudios previos hemos reportado que la fractalidad del genoma humano se correlaciona con el contenido de secuencias Alu, islas CpG y pares G-C por cromosoma. La evidencia actual muestra que la integración de los lentivirus no se da al azar sino que ciertas condiciones topológicas que

constituyen procesos no lineales y complejos de la dinámica de la cromatina son importantes para definir el estilo de integración de los lentivirus.

En este estudio el objetivo era correlacionar la multifractalidad diferencial de los cromosomas humanos con los perfiles de integración de los lentivirus que flanquean regiones del genoma.

Se analizaron 2.409 secuencias del genoma humano, versión hg18, que flanquean las integraciones de los lentivirus, así como el promedio de los valores de multifractalidad por cromosoma ($Av\Delta Dq$), con relación a la distribución cromosómica de algunas variables genómicas de la cromatina. Además, se hizo un análisis de componentes principales y otro de agrupamiento jerárquico.

El 54,21 % (1.306/2.409) de las integraciones de los lentivirus ocurrieron en los cromosomas con valores altos y medios de multifractalidad. El 18,14 % (437/2.409) se localizó en los cromosomas 16, 17, 19 y 22, los cuales tuvieron los valores más altos de $Av\Delta Dq$. Se obtuvieron valores de correlación estadísticamente significativos para el $Av\Delta Dq$ por cromosoma comparados con el contenido de elementos Alu ($r=0,97$), genes por megabase ($r=0,873$) y el número de integraciones de lentivirus por cromosoma e islas CpG ($r=0,888$). En el análisis de componentes principales se agruparon las variables de estudio en dos componentes con un 84,50 % de la varianza total. Uno de ellos incluyó el $Av\Delta Dq$, el contenido de Alu, los genes por megabase y las integraciones de lentivirus por cromosoma.

Los resultados obtenidos se añaden al conocimiento ya existente sobre la complejidad de los procesos de integración de los lentivirus en un nuevo escenario en el que algunas regiones de la cromatina están lejos del equilibrio como resultado de 'atractores' fractales que condicionan la topología del remodelado de la cromatina durante el proceso de integración del ADN complementario de los lentivirus en los diferentes territorios cromosómicos.

..... ✕

PL-29. Estado físico del ADN del virus del papiloma humano de tipo 16 en mujeres con lesiones cervicales intraepiteliales

Esperanza Trujillo, María Mercedes Bravo, Alba Lucía Cómbita

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

La integración del ADN de los virus del papiloma humano en el genoma de la célula anfitriona es un evento frecuente en la carcinogénesis cervical, aunque se ha sugerido que no se presenta obligatoriamente en el desarrollo del cáncer.

En este estudio se analizó el estado físico del ADN del virus del papiloma humano de tipo 16 en citologías cervicales provenientes de mujeres positivas para este virus con diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado, de lesiones intraepiteliales escamocelulares de bajo grado y de alto grado.

Se empleó la PCR en tiempo real para cuantificar los genes virales E2 y E6, calcular la relación entre ellos y evaluar la integración viral. Se consideró un valor de 0 como ADN viral integrado; un valor mayor a 0 como formas mixtas del episoma; un valor mayor a 0 y menor a 0,8 como formas integradas, y un valor mayor a 0,8 como formas del episoma. Se aplicó este método a 128 muestras cervicales positivas para el virus, 30 con diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado (grupo 1), 58 con diagnóstico de lesiones intraepiteliales escamocelulares de bajo grado (grupo 2) y 40 con diagnóstico de lesiones intraepiteliales escamocelulares de alto grado (grupo 3).

En los tres grupos analizados predominó una mezcla de ADN viral integrado y del episoma, con 63,3 %, 74,1 % y 70 % para los grupos 1, 2 y 3, respectivamente; el porcentaje de ADN del episoma fue de 30 % en el grupo 1, y disminuyó en los grupos 2 y 3 con 20,7 y 22,5 %, respectivamente. El ADN integrado se encontró en un 7,5 % en el grupo 3 y fue menor en el 1 y el 2, con 6,7 y 5,2 %, respectivamente.

La integración del ADN viral en el genoma de la célula huésped es un fenómeno temprano en la carcinogénesis, lo que quedó corroborado por los altos porcentajes de formas mixtas registrados en los tres grupos de lesiones analizadas; el porcentaje de lesiones con ADN viral en estado exclusivamente integrado fue bajo y no se observaron diferencias significativas entre los tres tipos de lesiones analizadas. La integración no constituyó un marcador de progresión de las lesiones cervicales.

..... ✕

PL-30. El riesgo de desarrollar lesiones precancerosas de cuello uterino en mujeres positivas para el virus del papiloma humano con alto riesgo oncogénico

L. Mendoza, P. Mongelós, A. Castro, M. I. Rodríguez, M. Páez, E. Kasamatsu

Departamento de Salud Pública, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

Está demostrado que la prueba de detección del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico mediante el ADN es más sensible y posee un mayor valor diagnóstico negativo que la citología y la inspección visual con ácido acético para la detección de lesiones precancerosas de cuello uterino.

Por ello, en Estados Unidos, México y Argentina, entre otros países, se ha introducido la prueba como método complementario de la citología o como método primario (seguido de la clasificación mediante citología) en mujeres mayores de 30 años. En otros países se está evaluando la posibilidad de reemplazar la citología por esta prueba de detección del virus en la tamización primaria.

Sin embargo, debido a su menor especificidad, su uso podría resultar en una sobrecarga de mujeres positivas para el virus, las cuales tendrían que ser remitidas para otros estudios, con la consecuente carga para los sistemas de salud en países en vías de desarrollo.

En varios países hoy se analizan biomarcadores que aumenten la especificidad de las pruebas de detección del virus y permitan seleccionar a las mujeres con mayor riesgo de desarrollar lesiones precancerosas entre el grupo de aquellas positivas para el virus. Son varias las propuestas de biomarcadores: genotipificación del virus para la detección de los tipos 16 y 18, los cuales son responsables de cerca del 70 % de los casos de cáncer de cuello uterino; detección del ARN mensajero de las oncoproteínas E6 y E7, o detección de las oncoproteínas E6 y E7 virales, con el fin de observar si su expresión excesiva indica un mayor riesgo.

También se está analizando la expresión excesiva inducida por el virus en algunas proteínas que participan en el ciclo celular como la p16ink4a (p16) y la Ki67. A pesar de que algunas de estas pruebas están dando resultados muy promisorios, aún no existe evidencia suficiente para seleccionar una

alternativa que pueda identificar el riesgo de que una infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico pueda progresar a lesión precancerosa.

..... ✕

PL-31. Caracterización molecular del virus del papiloma humano y de los factores de riesgo concomitantes para cáncer de cuello uterino en poblaciones de riesgo

L. Mendoza¹, A. Valenzuela¹, P. Mongelós¹, G. Giménez¹, M. I. Rodríguez¹, G. Medina⁴, A. Castro¹, W. Castro¹, M. Páez¹, E. Kasamatsu¹, J. González², J. Baseletti², G. Aguilar³, Z. Suárez³, R. Valdez³, G. Deluca⁵, F. Laspina¹, M.A. Picconi²

¹ Departamento de Salud Pública, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

² Servicio de Virus Oncogénico, Administración Nacional de Laboratorios e Instituto de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina

³ Programa Nacional de Control del Sida (Pronasida), Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción, Paraguay

⁴ Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

⁵ Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

Paraguay es uno de los países con mayor incidencia (34,2 por 100.000 mujeres) y mortalidad (15,7 por 100.000 mujeres) por cáncer de cuello uterino, cuyo agente causal es el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico. Sin embargo, el país cuenta con pocos datos sobre el virus.

El objetivo del estudio fue detectar el virus y los factores concomitantes de riesgo para el desarrollo de lesiones y cáncer de cuello uterino en poblaciones de riesgo.

La tipificación del virus se hizo mediante PCR seguida de hibridación inversa en muestras cervicales de mujeres de dos grupos de población: un primer grupo de 181 mujeres indígenas con citología normal (G1) y un segundo grupo (G2) de 144 trabajadoras sexuales, de las cuales 142 tenían citología normal, una presentaba células escamosas atípicas de resultado indeterminado y otra, una lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

Se detectó una alta frecuencia del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico en mujeres indígenas y trabajadoras sexuales: 16 y 40,9 %,

respectivamente. Los tipos más frecuentes en el G1 fueron los siguientes: HPV16 (4,4 %), HPV58 (3,3 %), HPV45 (3,3 %), en tanto que en el G2 fueron los siguientes: HPV16 (14,6 %), HPV52 (11,1 %), HPV26 (5,5 %), HPV31 y HPV45 (4,9 % cada uno). En relación con los factores concomitantes de riesgo, se observó una asociación entre la presencia del virus y *Chlamydia trachomatis* (G1: $p < 0,00001$ y G2: $p = 0,004$).

El grupo 2 presentó una frecuencia del virus y del tipo 16 casi tres veces mayor a la del grupo 1, siendo ambas mayores a la observada en la población de Asunción (14 % para el virus), lo que sugiere la necesidad de aplicar en dichas poblaciones una tamización del virus para identificar el grupo con mayor riesgo de presentar infección persistente, lo que con los años podría transformarse en cáncer de cuello uterino. Además, considerando que las mujeres positivas para el virus y para *C. trachomatis* tienen aproximadamente dos veces más riesgo de desarrollar cáncer, es preciso fortalecer la tamización conjunta de estas infecciones.

..... ✕

PL-32. Validación de la detección y la tipificación del virus del papiloma humano en muestras de orina como técnica para evaluar la vacuna en Colombia

Alba Lucía Combata^{1,2}, Tarik Gheit³, Devi Puerto⁴, Alex Vorsters⁵, Luisa María Montoya⁶, Lida Salazar⁴, Massimo Tommasino⁴, Carolina Wiesner⁴

¹ Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

² Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

³ Infections and Cancer Biology Group, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France

⁴ Grupo de Investigación en Salud Pública y Vigilancia Epidemiológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Centre for the Evaluation of Vaccination, Vaccine and Infectious Disease Institute, University of Antwerp, Antwerp, Belgium

⁶ Unidad de Análisis, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

En los estudios clínicos, la vacuna contra el virus del papiloma humano (VPH) ha demostrado ser segura y tener capacidad de generar inmunidad y eficacia, pero es indispensable contar con mecanismos que permitan evaluar su impacto. Debido a que la

toma de muestras cervicales en jóvenes presenta limitaciones, el muestreo en orina puede ser un método eficaz.

En este estudio se buscó validar la medición del virus del papiloma humano en orina como técnica para evaluar la vacuna. Se evaluó la prueba diagnóstica en orina en comparación con la prueba de referencia, es decir, la detección del virus en muestras cervicales. Se tomaron 530 muestras cervicales y de orina para la identificación y genotipificación del virus mediante PCR-Multiplex/Luminex. Se determinó la prevalencia para los diferentes tipos y lesiones preneoplásicas. La proporción de concordancias, el índice kappa y las características operativas de la prueba (sensibilidad, especificidad, valor diagnóstico positivo y negativo) se calcularon usando el programa Stata 11.2.

La tasa de concordancia para los tipos de virus incluidos en la vacuna (tipos 6,11,16,18) y otros tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo fue superior a 93 %. La tasa de concordancia entre los dos tipos de muestras fue sustancial: VPH6: $\kappa=0,815$ ($IC_{95\%}:0,787-0,843$); VPH11: $\kappa=0,767$

($IC_{95\%}:0,734-0,799$); VPH16: $\kappa=0,736$ ($IC_{95\%}:0,697-0,775$) y VPH18: $\kappa=0,546$ ($IC_{95\%}:0,486-0,605$).

Igualmente, la especificidad fue superior a 96 % para los cuatro tipos de virus, mientras que la sensibilidad fue la siguiente: para el VPH6, 0,95 (0,87-1,00), para el VPH11, 1,00 (1,00-1,00), para el VPH16, 0,79 (0,70-0,89) y para el VPH18, 0,62 (0,41-0,83). El valor diagnóstico positivo fue superior a 97 % para todos los tipos, mientras que el valor diagnóstico negativo tuvo los siguientes valores: VPH6: 0,72 (0,56-0,89); VPH11: 0,63 (0,26-0,96); VPH16: 0,75 (0,66-0,85) y VPH18: 0,52 (0,32-0,72).

Con relación a la detección de lesiones preneoplásicas, el VPH16, las células escamosas atípicas de significado indeterminado y las lesiones intraepiteliales de bajo grado registraron una tasa de acuerdo de 93,3 % y 94,1 %, con una concordancia de $\kappa=0,783$ (0,667-0,898) y $\kappa=0,881$ (0,769-0,994), respectivamente. Se observaron resultados similares para el VPH18.

Se validó la prueba de detección molecular del virus del papiloma humano en muestras de orina como forma de evaluar la vacuna.



VIRUS DEL DENGUE

PL-17. Vigilancia del dengue por el laboratorio en Colombia, 2010-2014

Lisette Carolina Pardo-Herrera¹, Angélica María Rico-Turca¹, Juan Camilo Martínez-Puentes¹, Andrés Páez-Martínez¹, Mauricio Beltrán-Duran²

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

² Subdirección de Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

En Colombia, la transmisión del virus del dengue está relacionada con los altos índices de desplazamiento del área rural a la ciudad debido a problemas de orden público, lo que incrementa la densidad de la población. La infección se ha comportado como una enfermedad endémica con brotes epidémicos cíclicos en casi todas las poblaciones por debajo de los 1.800 metros sobre el nivel del mar, es decir, un área equivalente a 900.000 km², donde viven aproximadamente 20 millones de personas. Desde 1970, tras la infestación de nuestro territorio por *Aedes aegypti*, han ocurrido varias epidemias de dengue

en todo el territorio, principalmente causadas por los serotipos 1, 2 y 3, mientras que el serotipo 4 ha presentado una menor circulación.

El objetivo de este estudio fue describir la vigilancia por laboratorio del virus del dengue entre el 2010 y el 2014.

Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo de la información registrada en el marco de la vigilancia por el laboratorio entre el 2010 y el 2014.

En los últimos cinco años, en Colombia han circulado de manera simultánea los cuatro serotipos del virus del dengue. En este contexto, se ha tipificado el virus en los diferentes departamentos y se ha podido determinar el predominio del serotipo 1 (47 %), seguido del 2 (29 %) y, en menor proporción, los serotipos 3 (20 %) y 4 (4 %); los casos de dengue grave y de muerte por dengue reportados se concentraron en los pacientes menores de 19 años, aunque hubo circulación viral en todos los grupos etarios, con una mayor proporción en el rango de edad de los 5 a los 19 años.

La vigilancia por laboratorio del virus del dengue en una herramienta fundamental en la vigilancia de la enfermedad, ya que de ella proviene la principal información sobre la diversidad viral en el país, por lo que constituye un medio para detectar el aumento de los casos y predecir posibles epidemias.

..... ✕

PL-18. ¿Pueden las definiciones establecidas por la Organización Mundial de la Salud para la gravedad del dengue predecir los desenlaces adversos en pacientes pediátricos? Una evaluación del desempeño de dos definiciones

Hernando Pinzón-Redondo^{1,2}, Ángel Paternina-Caicedo^{1,2,3}, Fredi Alexander Díaz-Quijano⁴, Andrea Zárate-Vergara¹, Katherine Barrios-Redondo¹, Dorys Bula-Anichiarico¹; Nelson Álvis-Guzmán^{1,2}, Fernando De la Hoz-Restrepo³

¹ Grupo de Investigación en Infectología Pediátrica, Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia

² Grupo de Investigación en Economía de la Salud, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

³ Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Departamento de Epidemiología, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

El dengue es una enfermedad endémica en países tropicales. En el 2009, la Organización Mundial de la Salud (OMS) actualizó la definición establecida en 1997, la cual se basaba en la distinción entre fiebre clásica del dengue y dengue hemorrágico, e introdujo el concepto de dengue grave. En el presente estudio se evaluaron estas dos clasificaciones para predecir la gravedad en una población pediátrica de Cartagena, Colombia.

Se hizo un estudio retrospectivo de cohortes, que comprendió el periodo entre el 1º de enero del 2013 y el 17 de agosto del 2014, en pacientes pediátricos (<18 años de edad) de la Fundación Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja–Casa del Niño. Se incluyeron pacientes con diagnóstico confirmado mediante la detección de las proteínas NS1 o IgM, atendidos en el servicio de urgencias con síntomas sugestivos de dengue. La clasificación de dengue hemorrágico o dengue grave se hizo con base en el protocolo de la OMS, y el indicador de gravedad fue la admisión en la unidad de cuidados intensivos. Para el manejo de los datos perdidos se recurrió a la imputación múltiple.

Se incluyeron 947 pacientes con diagnóstico confirmado de dengue, de los cuales 59 requirieron admisión en la unidad de cuidados intensivos. Once de los pacientes incluidos en el estudio (n=11, 1,2 %) cumplían con los criterios de dengue hemorrágico. Esta definición tuvo una sensibilidad de 8,6 % (5/59) y una especificidad de 99,3 % (6/888) para predecir el ingreso en la unidad de cuidados intensivos. Setenta y un niños (n=71, 11,6%) cumplían con los criterios de clasificación del dengue grave según la definición de 2009, la cual mostró una sensibilidad de 32,5 % (19/59) y una especificidad de 94,2% (836/888) para predecir el ingreso en la unidad de cuidados intensivos.

Comparada con la definición de dengue hemorrágico (OMS, 1997), la definición de dengue grave (OMS, 2009) fue más sensible para predecir el ingreso en la unidad de cuidados intensivos, pero sigue teniendo una sensibilidad insuficiente para predecir dicho ingreso en esta población pediátrica.

..... ✕

PL-19. Contribución del serotipo viral y el tipo de infección al desenlace clínico del dengue en Colombia

M. Gélvez^{1,5}, V. Herrera^{1,5}, B. Parra^{2,5}, R. Ocazonez^{3,5}, D. Salgado^{4,5}, L. Villar^{1,5}

¹ Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

² Grupo de Virus Emergentes y Enfermedad, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

⁴ Grupo de Parasitología y Medicina Tropical, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia

⁵ Red AEDES, Colombia

El virus del dengue y el tipo de infección se consideran factores determinantes de su gravedad.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la asociación del serotipo y el tipo de infección con el desenlace clínico de la enfermedad.

Se incluyeron pacientes con infección confirmada por virus del dengue entre el 2003 y el 2010 en ciudades endémicas de Colombia. El serotipo se determinó por PCR convencional y en tiempo real, y el tipo de infección, por la presencia de IgG en suero agudo. Se evaluaron los signos clínicos de alarma y la presión arterial media para establecer la línea de base y el desenlace compuesto

(hemorragia mayor o hipotensión, según la edad). Las asociaciones se evaluaron mediante regresión múltiple ajustada por edad, sexo y horas de fiebre en el momento del ingreso. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Industrial de Santander.

Se evaluaron 124 pacientes (edad media: 24,4 años; 55 % hombres). La infección primaria alcanzó el 65 % y la secundaria el 35 %; la distribución de serotipos fue la siguiente: DENV-1, 33 %; DENV-2, 12 %; DENV-3, 33 %, y DENV-4, 22 %. En la línea de base, el promedio ajustado de la presión arterial media fue menor en pacientes con infección secundaria comparada con la primaria (81,9 Vs. 86,1 mm Hg, $p=0,028$), sin diferencias asociadas al serotipo. La proporción de pacientes con dolor abdominal, vómito persistente, derrame, sangrado de mucosas, alteración de la conciencia o hepatomegalia fue de 58,1 %, 11,3 %, 4,0 %, 13,7 %, 87,1 % y 2,4%, respectivamente. No se observaron diferencias en cuanto a la presencia de signos clínicos de alarma según el serotipo, pero sí una menor probabilidad de sangrado en pacientes con infección secundaria (OR=0,11, IC_{95%} 0,02, 0,76). En el seguimiento, la infección secundaria, no el serotipo, se asoció más al riesgo de desarrollar el desenlace compuesto que la infección primaria: OR=10,7 (IC_{95%} 1,90, 59,8).

La infección secundaria aumentó el riesgo de desarrollar dengue grave.

..... ✕

PL-20. Variantes en los genes *TNFA*, *IL6* e *IFNG* relacionadas con la gravedad del dengue en una muestra de población colombiana

Efrén Avendaño-Tamayo¹, Omer Campo¹, Juan Camilo Chacón-Duque¹, Ruth Ramírez², Winston Rojas¹, Piedad Agudelo-Flórez³, Gabriel Bedoya¹, Berta Nelly Restrepo²

¹ Grupo GENMOL, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Antioquia, Colombia

³ Facultad de Medicina, Universidad CES, Medellín, Colombia

La composición y la diversidad genéticas del huésped contribuyen al perfil clínico del dengue, lo que puede deberse al efecto de las variantes en los

genes que codifican citocinas (factor de necrosis tumoral α , interleucina-6 e interferón γ) sobre la susceptibilidad.

El objetivo del estudio fue evaluar la relación entre las variantes de tres polimorfismos en tres genes de citocinas y la gravedad del dengue en una muestra de población colombiana.

Se analizaron 226 casos de dengue (122 en afrocolombianos y 104 en mestizos). El dengue hemorrágico se presentó en 22 pacientes. El diagnóstico se confirmó mediante detección de IgM en el 97 % de los casos y por PCR con transcripción inversa en 2,2 % de estos. Se identificaron los virus del dengue 1, 2 y 3. Los pacientes se captaron en instituciones de salud de los departamentos de Antioquia y Chocó entre agosto del 2008 y noviembre del 2009. Los genotipos se determinaron mediante PCR y los polimorfismos por la longitud de los fragmentos de restricción. Para determinar el riesgo, las frecuencias alélicas se compararon con la prueba de ji al cuadrado y los genotipos y los haplotipos se evaluaron con regresión logística. Por último, se ajustó por ancestro.

Se observaron las siguientes asociaciones con dengue hemorrágico: el alelo A del SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) 2069843 (OR=5,39 IC_{95%} ,57-11,34, $p<0,0001$) en afrocolombianos; posteriormente, se demostró el efecto del mismo polimorfismo en toda la población y se ajustó por ancestro africano, pues el genotipo "G/A" arrojó un OR=3,99, IC_{95%} 1,45-11,00 y $p=0,03$, y se reiteró al ajustarlo por ancestro europeo y amerindio, con un buen nivel de confianza. Además, las combinaciones alélicas GGT y GAC fueron estadísticamente consistentes con la progresión a formas graves. La asociación de la combinación alélica AGC, OR=8,11, IC_{95%} 1,09-60,49 y $p=0,042$, ajustada por ancestro amerindio, aparentemente fue espuria.

Los polimorfismos estudiados se asociaron con la gravedad del dengue en esta población colombiana. Además, la composición genética ancestral permitió depurar su predicción.

..... ✕

PL-33. Expresión diferencial de los micro-ARN en células endoteliales infectadas con virus del dengue

Diego Álvarez, Natalia Campillo-Pedroza, Juan Carlos Gallego-Gómez

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

La patogénesis del virus del dengue es producto de la interacción de factores virales, genéticos y del sistema inmune del huésped. Existe una seria disfunción en la microvasculatura en el dengue grave, que constituye el signo patognomónico del cuadro clínico. Sería de gran utilidad identificar los biomarcadores solubles provenientes de la microvasculatura infectada con el virus del dengue tanto para el diagnóstico y el pronóstico como para entender los mecanismos celulares asociados con la gravedad.

El objetivo del estudio fue determinar, cuantificar y explicar la expresión diferencial de los micro-ARN provenientes del genoma de las células endoteliales infectadas con el virus del dengue.

Se infectaron de manera sincronizada células endoteliales de microvasculatura humana cultivadas en condiciones basales usando una multiplicidad de infecciones de 5 unidades formadoras de placa por célula. Se construyeron librerías de micro-ARN para la secuenciación de última generación (NGS) usando ARN total de células recolectadas a las 3, 12, 24 y 48 horas después de la infección. Las lecturas de los micro-ARN se analizaron mediante herramientas computacionales para la identificación de los micro-ARN anotados y putativos expresados diferencialmente. Se recurrió a bases de datos en línea para dilucidar los posibles mecanismos celulares alterados durante la infección a partir de los blancos putativos de los micro-ARN expresados diferencialmente.

En comparación con el control, se encontraron cuatro micro-ARN distintos expresados diferencialmente a las 3 y 24 horas después de la infección. Además, se hallaron 67 micro-ARN putativos mediante herramientas de predicción computacional específicas. El análisis de las redes con genes blanco de micro-ARN con mayor expresión diferencial sugiere alteraciones en procesos celulares como la angiogénesis, la proliferación celular, la supervivencia, la migración y el mantenimiento de uniones adherentes.

Las células endoteliales infectadas con virus del dengue 2 presentaron alteraciones en la expresión de los micro-ARN que pueden regular genes implicados en el mantenimiento de la función de la barrera endotelial, como son las proteínas tirosina fosfatasas, las fosfatasas y los factores de crecimiento.

..... X

PL-34. El papel del inmunomodulador ST2 soluble durante la infección *in vitro* con virus del dengue al regular negativamente la producción de la IL-8 en macrófagos humanos infectados

Nadia Castañeda-García, Félix G. Delgado, Jaime E. Castellanos

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

Los niveles de ST2 soluble registran aumentos significativos en los pacientes con dengue grave. La ST2 soluble controla la expresión de citocinas en eventos inflamatorios tales como los que ocurren en la sepsis y el asma alérgica.

El objetivo del estudio fue determinar el papel de la molécula ST2 soluble como reguladora de la respuesta inflamatoria en la infección *in vitro* con virus del dengue.

Se infectaron macrófagos humanos U937 con virus del dengue 2 en diferentes multiplicidades de infección y tiempos, y los sobrenadantes del cultivo se sometieron a la prueba ELISA para cuantificar los niveles de ST2 soluble. Los niveles del ARN mensajero de la ST2 soluble se cuantificaron usando PCR cuantitativa. Se estimularon células endoteliales con sobrenadantes de macrófagos humanos infectados con el virus del dengue 2 y los niveles de proteína y de ARN mensajero de la ST2 soluble se cuantificaron mediante ELISA y PCR cuantitativa, respectivamente. Por último, los macrófagos U937 infectados con el virus se trataron con ST2 soluble recombinante humana y los niveles de citocinas proinflamatorias se cuantificaron por citometría de flujo y PCR cuantitativa después del tratamiento.

Se detectó el antígeno viral en más del 85 % de las células U937; la mayor producción de virus se registró a las 72 horas de la infección (log 4,5 ufp/ml). El ARN mensajero y la proteína de la ST2 soluble no fueron inducidos por la infección con

el virus del dengue, pero el estímulo de células endoteliales con sobrenadantes de U937 infectadas aumentó más de 10 veces el ARN mensajero de la ST2 soluble.

Se sugiere que la ST2 soluble no es producida por el macrófago infectado sino por el endotelio activado con moléculas inflamatorias producidas durante la infección. La infección de macrófagos U937 con el virus del dengue 2 indujo la expresión

de IL-8 (hasta 1.800 pg/ml), y el tratamiento con 0,5 µg/ml de ST2 soluble recombinante causó la disminución del 35 % de esta citocina, así como una reducción de 10 veces en los niveles de su ARN mensajero.

Estos resultados establecieron una relación entre la IL-8 y la ST2 soluble, lo que sugiere que esta última podría estar involucrada en la modulación de la respuesta inmune al dengue.

..... ✕

VIRUS DEL CHIKUNGUÑA

PL-35. Estrategias de vigilancia en salud pública frente a la introducción del virus del chikunguña

Marcela María Mercado-Reyes¹, Sara Gómez-Romero¹, Óscar Eduardo Pacheco², Alfonso Campo-Carey³

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

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

³ Subdirección de Prevención y Análisis de Riesgo, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

La fiebre del chikunguña es una enfermedad ocasionada por la infección con el virus del mismo nombre, un alfavirus de la familia *Togaviridae* transmitido por la picadura del mosquito hembra infectado de *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*.

La enfermedad cursa en tres fases: aguda, subaguda y crónica; el periodo de incubación oscila entre tres y siete días y el pico de la viremia se produce entre el quinto y el sexto días. La enfermedad típica se presenta con un cuadro agudo de resolución espontánea de fiebre, artralgia grave o artritis de comienzo agudo; el chikunguña atípico cursa con complicaciones que requieren hospitalización debido a las manifestaciones neurológicas, dérmicas, cardiovasculares, hepáticas y renales.

Para establecer la circulación autóctona del virus en Colombia, se plantearon diferentes estrategias: 1) la vigilancia epidemiológica, 2) la vigilancia entomológica, y 3) la vigilancia por laboratorio. Como parte de la vigilancia epidemiológica, la búsqueda activa comunitaria se planteó ante la presencia de un caso sospechoso o confirmado, importado o autóctono, en fase aguda en una persona que

residiera en un área endémica para dengue antes de la confirmación de un caso por laboratorio.

La implementación de la búsqueda activa de casos en los municipios donde no se había establecido la circulación viral permitió la declaración de brote en diferentes áreas del país.

..... ✕

PL-36. Vigilancia por laboratorio del virus del chikunguña en Colombia, 2014-2015

Angélica María Rico-Turca¹, Lissethe Carolina Pardo-Herrera¹, Juan Camilo Martínez-Puentes¹, Katherine Laiton¹, José Usme¹, Andrés Páez-Martínez¹, Mauricio Beltrán-Durán²

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

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

El virus del chikunguña es un alfavirus perteneciente a la familia *Togaviridae*, transmitido por mosquitos del género *Aedes*, que produce enfermedad febril aguda acompañada principalmente de artralgias y erupción cutánea. El diagnóstico diferencial se hace fundamentalmente con el virus del dengue, teniendo en cuenta que comparten el mismo vector y tiene una amplia distribución en el territorio nacional. Colombia es uno de los países de la región en donde más se han confirmado casos por laboratorio, además de registrar manifestaciones atípicas, mortalidad asociada al virus y caracterización del genotipo circulante.

Este estudio se propuso describir la introducción del virus y su vigilancia por laboratorio en Colombia en el periodo 2014-2015.

Se hizo un estudio descriptivo y retrospectivo basado en la vigilancia por el laboratorio en busca de casos agudos que permitieran detectar la introducción del virus en el país. Para ello se procesaron muestras de diferentes municipios provenientes de la vigilancia rutinaria de sarampión, rubéola y dengue.

Las muestras se procesaron mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa y serología para la confirmación viral y serológica. Para la genotipificación del virus, se seleccionaron muestras positivas representativas de las diferentes regiones del país y se amplificó el gen *E1* mediante PCR, secuenciación y análisis filogenético con *neighbor joining* e inferencia bayesiana.

Desde la introducción del virus del chikunguña en Colombia en la semana epidemiológica 37 del 2014 hasta la semana epidemiológica 8 del 2015, se han notificado 236.768 casos, de los cuales 1.956 se confirmaron por laboratorio; se han presentado 42 casos fatales, así como manifestaciones atípicas en población de riesgo para la enfermedad en dos municipios del país. Además, el análisis filogenético indica que en Colombia ha circulado únicamente el genotipo asiático.

La vigilancia por laboratorio del virus del chikunguña desde su aparición ha permitido obtener información relevante y conocer la situación del país en cuanto a su introducción y distribución, aportando datos relevantes para la región de las Américas.

..... ✕

OTROS ARBOVIRUS

PL-45. Priorización de áreas geográficas para la vigilancia de la fiebre amarilla en primates no humanos en Colombia

Juan Piedrahita-Cortés¹, Diego Soler-Tovar²

¹ Semillero de Investigación Una Salud, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

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

Colombia es un país de gran diversidad en especies de primates no humanos, entre las que se destaca el género *Alouatta* spp. por su papel en la historia natural de la fiebre amarilla, enfermedad viral aguda, zoonótica, endémica y con riesgo de ser reemergente, por lo que se considera un evento de interés en salud pública.

El objetivo de este estudio fue priorizar las áreas geográficas de posible ocurrencia de la fiebre amarilla como propuesta para la vigilancia en los reservorios silvestres de primates no humanos, especialmente del género *Alouatta* spp., distribuidos en Colombia.

La búsqueda de la literatura científica se hizo en las siguientes bases de datos y sistemas de índices y resúmenes: Bireme, Doaj, Lilacs, Pubmed, Redalyc, Scielo, Science Direct y Scopus. Posteriormente, mediante georreferenciación con el programa Diva-Gis, se ubicó la presencia de

dos géneros importantes de primates no humanos con relación al evento a partir de los datos disponibles en el *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF), identificando *Alouatta seniculus* (410) y *Alouatta palliata* (380). Se construyó el modelo de nicho ecológico para ambas especies con el programa de modelación de máxima entropía (Maxent), utilizando 19 capas bioclimáticas, y se superpuso dicha información con la ocurrencia del evento en humanos.

Se propuso priorizar los siguientes departamentos para la vigilancia del virus de la fiebre amarilla en los primates no humanos del género *Alouatta* spp.: Atlántico, Antioquia, Caquetá, Casanare, Cesar, La Guajira, Magdalena, Meta, Norte de Santander y Vichada.

Con base en la presencia de *A. seniculus* y *A. palliata*, en los modelos de nicho ecológico bajo las condiciones actuales y la distribución de la notificación, los casos confirmados, la incidencia, la mortalidad y la letalidad, se concluyó que la fiebre amarilla en primates no humanos es relevante en salud pública y se propusieron áreas para su vigilancia con las estrategias de puntos centinela y alerta temprana.

..... ✕

PL-46. La ecología de los arbovirus emergentes y la ecología de la enfermedad: un caso de estudio en San Bernardo del Viento, Córdoba

Richard Hoyos-López, Juan Carlos Gallego-Gómez

Grupo de Investigación en Medicina Molecular y Traslacional, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

La ecología estudia la abundancia y la distribución de las especies y cómo sus interacciones con otras especies y el ecosistema (elementos bióticos y abióticos) explican los cambios en su distribución y abundancia. En el caso de la ecología de los arbovirus, se estudia la interacción de las comunidades de artrópodos hematófagos y los reservorios de vertebrados en ecosistemas naturales, teniendo en cuenta, sin embargo, que las intervenciones antrópicas generan cambios en la estructura y la composición de estas comunidades, facilitando la adaptación de los mamíferos, los vectores resistentes y las poblaciones de arbovirus que son transportadas hacia los ecosistemas humanos con el consecuente incremento en la frecuencia de contacto entre los humanos, el vector y el virus.

El objetivo de este estudio fue caracterizar los factores ecológicos implicados en la posible emergencia de arbovirus en mangles de San Bernardo del Viento, Córdoba, y predecir las interacciones con elementos de la ecología humana en la zona.

Entre septiembre de 2011 y octubre de 2013, se hicieron siete salidas al corregimiento “La Balsa” del municipio de San Bernardo del Viento para recolectar mosquitos en el río Mangle y en los ecosistemas aledaños, detectar los arbovirus mediante PCR con transcripción inversa (alfavirus/ flavivirus) y secuenciar los amplicones positivos. La metodología “código de barras de ADN” (*DNA Barcode*) se empleó para la identificación de especies infectadas con arbovirus, así como de la ingestión sanguínea en hembras alimentadas y el citocroma B.

Se evaluaron 21.953 mosquitos de 1.547 grupos (*pools*) y se detectaron el virus del Nilo occidental, el virus de la encefalitis de St. Louis, el virus del dengue, el virus de la fiebre amarilla y el virus de la encefalitis equina venezolana, con bajas tasas de infección; 443 mosquitos alimentados se evaluaron, lo que permitió identificar la fuente alimentaria de 356 especímenes, determinándose un alto porcentaje de aves, mamíferos y animales

domésticos. Las interacciones, la abundancia y la diversidad de los mosquitos infectados, así como los arbovirus identificados, presentaron una segregación espacial acorde con los ecosistemas muestreados.

La ecología arboviral identificada en el Mangle y en los ecosistemas asociados en San Bernardo del Viento presentó elementos que permiten la emergencia de arbovirus dada la presencia de huéspedes o reservorios en los ecosistemas humanos, lo que puede favorecer la ocurrencia de brotes epidémicos.

..... x

PL-47. Primer reporte en Colombia de *Culex flavivirus* en mosquitos *Culex coronator*

Ader Alemán, José Aponte, Héctor Contreras, Marco González, Alfonso Calderón, Salim Máttar

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

Culex flavivirus se encuentra en mosquitos del género *Culex* y fue aislado de *Culex pipiens* en Japón en el 2007. Posteriormente, fue detectado en Guatemala en el 2008, en Trinidad en el 2009, en México en el 2009, en Brasil en el 2012 y en Argentina en el 2013. Desde el punto de vista de la salud pública, se cree que la exposición anterior de los mosquitos a este virus podría reducir su susceptibilidad a otros flavivirus. En este sentido, en Colombia son importantes el virus del dengue, el virus de la encefalitis de San Louis y el virus del Nilo occidental, estos dos últimos determinados mediante seroconversión en équidos en el Caribe. El principal grupo de flavivirus específicos de insectos incluye el virus denominado “agente de fusión celular”, el Kamiti River virus, el Quang Binh virus, el *Aedes flavivirus*, el Nakiwogo virus, el Chaoyang virus y *Culex flavivirus*.

El objetivo de este estudio fue detectar flavivirus en poblaciones de mosquitos del departamento de Córdoba.

Entre agosto y diciembre de 2012 se capturaron 9.898 mosquitos en tres municipios de Córdoba. Se utilizaron trampas de luz del CDC y de BG-Sentinel™. Los mosquitos se clasificaron taxonómicamente y se agruparon (2 a 50 mosquitos). Para la detección de los flavivirus se usó la técnica de PCR con transcripción inversa con los iniciadores universales FG1 y FG2, y se secuenciaron los grupos (*pools*) positivos.

Se procesaron 334 grupos mediante PCR con transcripción inversa, y se secuenciaron dos de mosquitos pertenecientes a *Culex coronator*; la secuencia demostró que desde el punto de vista filogenético correspondían a *Culex flavivirus*.

Esta es la primera evidencia de la circulación de *Culex flavivirus* en Colombia.

La cepa CxFv COL PM_149, detectada en el departamento de Córdoba (código de identificación en Bank®: 1801678), está estrechamente relacionada con la cepa de Brasil, BR-SJPR-2007-56C (número de acceso a GenBank®: HQ605703.1). A diferencia de Argentina, Guatemala y Brasil, países en los que *Culex flavivirus* se halló en *Culex quinquefasciatus*, en este caso se encontró en *Culex coronator*. Según la literatura científica, el hallazgo puede ser útil para futuros estudios de competición viral entre los flavivirus autóctonos para su uso en vacunas o en el control biológico.

..... ✕

PL-48. Detección molecular de *Culex flavivirus* en el norte de Córdoba: primer registro en Colombia

Richard Hoyos-López, Juan-Carlos Gallego-Gómez

Grupo de Investigación en Medicina Molecular y Traslacional, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Culex flavivirus es un miembro del grupo de virus específicos de insectos pertenecientes al género *Flavivirus*, el cual puede dividirse en dos subtipos de acuerdo con la presencia o ausencia del efecto citopático: el Asia/Estados Unidos y el África/

Caribe/Latinoamérica. Se ha sugerido la existencia de posibles asociaciones ecológicas con el virus del Nilo occidental en Estados Unidos y México, y recientemente se ha encontrado en colonias de mosquitos con un posible efecto sobre la competencia vectorial.

El objetivo de este estudio fue registrar la detección molecular de *Culex flavivirus* en el departamento de Córdoba, Colombia, así como las relaciones evolutivas con los subtipos detectados en otras áreas geográficas.

Entre septiembre de 2011 y octubre de 2013 se hicieron siete salidas al corregimiento La Balsa del municipio de San Bernardo del Viento para recolectar mosquitos en el río Mangle y en los ecosistemas aledaños, detectar arbovirus mediante PCR con transcripción inversa (alfavirus) y secuenciar los amplicones positivos.

Se evaluaron 21.953 mosquitos en 1.547 grupos (*pools*) y se detectó *Culex flavivirus* en seis grupos pertenecientes a las especies *Culex quinquefasciatus* (n=4) y *Culex erraticus* (n=2), identificadas mediante la metodología "código de barras de ADN" (*DNA Barcode*). La caracterización del gen de la envoltura, el alineamiento con secuencias de cepas detectadas en diferentes regiones geográficas y el posterior análisis filogenético con métodos bayesianos, permitió agrupar las cepas detectadas como pertenecientes al subtipo África/Caribe/Latinoamérica.

La presencia de este subtipo de *Culex flavivirus* puede estar influenciando la competencia vectorial de los mosquitos de la zona, así como la circulación de flavivirus como el virus del Nilo occidental y el virus de la encefalitis de St. Louis.

..... ✕

VIRUS ENTÉRICOS Y ENTEROVIRUS

PL-41. Emergencia del coxsackievirus A6 y del enterovirus 71 como agentes etiológicos del síndrome de manos, pies y boca en Cuba, 2011-2013

Magilé C. Fonseca, Sonia Resik, Yenisleidys Martínez

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba

Las epidemias del síndrome de manos, pies y boca son causadas fundamentalmente por el coxsackie-

virus A16 o el enterovirus 71. Desde el 2008, una nueva variante genética del coxsackievirus A6 se ha asociado con casos esporádicos y epidemias en Europa, el sudeste asiático y Estados Unidos. En Cuba, el virus asociado con este síndrome ha sido el coxsackievirus A16.

El objetivo del presente estudio fue determinar los agentes etiológicos de los brotes del síndrome de manos, pies y boca ocurridos en Cuba entre el 2011 y el 2013.

Se obtuvieron 42 muestras clínicas (18 de heces, 5 de fluidos vesiculares, 17 hisopados nasofaríngeos y 2 hisopos rectales) de 23 casos sospechosos. La detección, la identificación y el análisis filogenético de los enterovirus asociados se hicieron mediante aislamiento viral, PCR con transcripción inversa específica para los enterovirus y secuenciación parcial del gen estructural VP1.

Se obtuvieron 11 aislamientos virales. Nueve se identificaron como coxsackievirus A16 y dos como enterovirus 71. Se detectaron dos grupos genéticos entre las cepas cubanas del coxsackievirus A16. Los aislamientos del virus en el 2011 se relacionaron con cepas identificadas en Europa y Asia entre el 2007 y el 2011. Sin embargo, otras cepas del virus genéticamente distintas predominaron entre los años 2012 y 2013, y se relacionaron con cepas emergentes identificadas en los brotes internacionales recientes. El análisis filogenético de las cepas cubanas del enterovirus 71 demostró que pertenecían al genotipo C2 y estaban relacionados con aislamientos de diferentes orígenes geográficos.

El estudio constituye el primer reporte en Cuba y el segundo en la región de las Américas sobre la circulación de la variante genotípica epidémica emergente del coxsackievirus A16. Constituye, además, la primera identificación del enterovirus 71 en Cuba. La emergencia en nuestro país de estos dos virus es de interés global, pues constituye una alerta para la comunidad científica internacional sobre la posibilidad de la ocurrencia de epidemias de este síndrome en la región.

..... ✕

PL-42. Virus entéricos en el agua para el consumo humano, Colombia, 2008-2014

Johanna Rodríguez, Mario Ardila, Luis Felipe Acero, Dioselina Peláez-Carvajal

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

El agua potable es un componente vital para la salud y el acceso a ella, un derecho humano fundamental. En diversos estudios se ha encontrado que, a pesar del tratamiento, en el agua se encuentra una gran cantidad de virus entéricos que pueden causar enfermedad diarreica aguda, hepatitis entérica, meningitis o enfermedad respiratoria aguda. En Colombia, los datos de circulación y transmisión de virus entéricos en el agua para el

consumo humano son escasos, pese al elevado número de casos de estas infecciones notificado anualmente al Sivigila.

El estudio se propuso complementar el estudio de brotes de enfermedad diarreica aguda y de hepatitis A mediante la búsqueda de virus entéricos (adenovirus, enterovirus, rotavirus del grupo A y hepatitis A) en muestras de agua utilizadas para el consumo humano.

Las muestras de agua son recolectadas por los entes territoriales encargados de la notificación de los brotes y enviados al Grupo de Virología del Instituto Nacional de Salud. La determinación de la concentración viral se hace mediante filtración y ultrafiltración tangencial y la detección de virus mediante PCR con transcripción inversa.

Entre el 2008 y el 2014 se procesaron 406 muestras, 65 % de las cuales correspondía a agua no tratada procedente de pozos, aljibes, estanques o ríos. Entre el 2011 y el 2014 se obtuvieron los porcentajes más altos de detección viral (65 %), y en el 2009 dicho porcentaje fue menor (16 %). El virus de la hepatitis A fue el agente más frecuentemente detectado, seguido por enterovirus, rotavirus y adenovirus con mayor o menor circulación dependiendo del año.

La detección de virus entéricos en el agua de consumo humano no solo complementa el estudio de brotes de enfermedad diarreica aguda y de hepatitis A, sino que es una herramienta útil para el seguimiento de las acciones de control que llevan a cabo los entes territoriales.

..... ✕

PL-43. La proteína disulfuro isomerasa participa en los mecanismos redox durante la entrada de los rotavirus a la célula.

H. M. Rivera, C. A. Guerrero, O. Acosta

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

La proteína disulfuro isomerasa es una enzima tiol-disulfuro oxidoreductasa que cataliza la formación y el clivaje de puentes disulfuro entre los residuos de cisteínas de las proteínas. Esta proteína participa en el intercambio tiol-disulfuro durante la entrada de diversos virus (el HIV-1, el virus del simio 40, y el virus de la enfermedad de Newcastle, entre otros) a la célula.

En trabajos previos del grupo se encontró que en varios modelos celulares la infectividad de los rotavirus se veía reducida por la acción de moléculas que alteraban el intercambio tiol-disulfuro y por anticuerpos contra la proteína disulfuro isomerasa. Actualmente, se intenta aclarar si la proteína participa directa o indirectamente en los eventos reductores que requiere el rotavirus durante su proceso de entrada a la célula.

El estudio se propuso evaluar la interacción y la asociación funcional entre la proteína disulfuro isomerasa y las partículas de triple capa de los rotavirus humanos wt, Ecwt y RRV durante las etapas tempranas de la entrada del virus en un modelo de vellosidades intestinales de ratón adulto ICR.

La proteína disulfuro isomerasa soluble, así como células íntegras o fracciones enriquecidas de membrana citoplásmica se incubaron con rotavirus en presencia o ausencia de agentes que bloquean el ambiente redox (ácido 5,5-ditiobis-nitrobenzoico, bacitracina, N-acetilcisteína y N-etilmaleimida) y se evaluaron la interacción de la proteína disulfuro isomerasa de rotavirus, las proteínas disulfuro isomerasa virales aisladas o recombinantes y los cambios redox de las proteínas virales.

Se evidenció la interacción de la proteína soluble y la de membrana con las partículas de triple capa de rotavirus (RRV, Ecwt y wt humano) y con proteínas virales solubles (rVP5, rVP6 y VP7). La interacción disminuyó al aplicar el tratamiento con agentes que bloquean el intercambio tiol-disulfuro o alteran el estado redox celular (ácido 5,5-ditiobis-nitrobenzoico, bacitracina, N-etilmaleimida y N-acetilcisteína). La incubación de los rotavirus con membranas celulares generó cambios en la distribución de tioles en las proteínas estructurales de los virus VP7, VP6 y VP4.

La proteína disulfuro isomerasa interactuó con los rotavirus y participó en los mecanismos redox que estos requieren para entrar en la célula.

..... ✕

PL-44. Los linfocitos T CD4 específicos de rotavirus circulantes están enriquecidos en células efectoras terminales

Miguel Parra, Daniel Herrera, Luz Stella Rodríguez, Juana Ángel, Manuel Franco

Inmunidad de Mucosas, Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

La infección por rotavirus es la principal causa de gastroenteritis en niños menores de cinco años. Las vacunas, al igual que la infección natural, producen una inmunidad no esterilizante que sugiere que la inmunidad a largo plazo contra los rotavirus es incompleta. Las células T CD4 de memoria de los compartimientos de memoria central y efectora están relacionadas con células multifuncionales protectoras, mientras que las células del compartimiento terminal son monofuncionales.

El objetivo de este estudio fue identificar el perfil de diferenciación de las células T CD4 de adultos sanos estimuladas con el antígeno del rotavirus y contrastarlo con el de las células estimuladas con los antígenos del toxoide tetánico y el virus de la influenza.

Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica de adultos sanos previamente identificados como positivos para rotavirus. Un millón de estas células se resuspendieron en medio AIM-V y se estimularon durante 10 horas con los antígenos de rotavirus, toxoide tetánico y virus de la influenza; en las últimas cinco horas de incubación se añadió brefeldín-A. Posteriormente, las células estimuladas se lavaron y tiñeron con anticuerpos contra CD3, CD4 y CD8, y los marcadores de diferenciación CCR7 y CD45RA, y se evaluó la producción intracelular de las citocinas IL-2, TNF- α e IFN- γ . Por último, las células se analizaron mediante citometría de flujo.

Las células T CD4 estimuladas con el antígeno de rotavirus estaban enriquecidas en células de memoria efectora terminal y solamente producían IFN- γ , mientras que las células T CD4 estimuladas con los antígenos de toxoide tetánico y virus de la influenza eran multifuncionales y estaban enriquecidas en células de memoria central y memoria efectora.

Los resultados sugieren que las células T CD4 específicas de rotavirus están enriquecidas en células de memoria terminal, lo que puede ayudar a explicar por qué los individuos tienen protección parcial después de la vacunación o de la infección natural.

..... ✕

VIRUS DE LA HEPATITIS

PL-27. Prevalencia de hepatitis B y C en adictos a la heroína sometidos a tratamiento con metadona y no sometidos a dicho tratamiento en Pereira

Juan Carlos Sepúlveda-Arias¹, Carlos Alberto Isaza², Juan Pablo Vélez³

¹ Grupo Infección e Inmunidad, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

² Grupo de Farmacogenética, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

³ Programa de Mantenimiento con Metadona, Hospital Mental de Risaralda, Pereira, Colombia

La infección con el virus de la hepatitis C (HCV) es un problema de salud pública a nivel mundial, y las hepatitis virales crónicas son el principal factor etiológico de las enfermedades hepáticas terminales. El abuso de drogas psicoactivas inyectables es un importante factor asociado con una alta prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C y el virus de la hepatitis B (HBV).

El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de la infección por estos dos virus en pacientes adictos a la heroína en la ciudad de Pereira. Se analizaron 91 individuos distribuidos en tres grupos: el grupo A, conformado por 42 pacientes adictos que no recibían terapia de mantenimiento con metadona, denominado No-TMM; el grupo B, constituido por 29 pacientes adictos en terapia de mantenimiento con metadona, denominado TMM, y el grupo C, integrado por 20 controles sanos sin historia de abuso de drogas. Se determinó la presencia de anticuerpos anti-VHC, VHB y HIV empleando pruebas rápidas. Todos los sujetos de los grupos A y B se reclutaron en el Hospital Mental de Risaralda, HOMERIS, entre septiembre de 2012 y enero de 2013.

La mayoría de los sujetos estudiados eran hombres (91,3 %). La duración promedio del consumo de heroína fue de $5,3 \pm 2,9$ años, sin diferencias significativas entre los individuos de los grupos A y B ($p=0,3$). La prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis B y por el HIV en adictos a la heroína fue baja (1,1 %), mientras que la prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C entre los adictos (grupos A y B) fue de 22,5 %. Se encontró una alta prevalencia de la infección por este virus en los pacientes usuarios de drogas psicoactivas inyectables, lo cual concuerda con los reportes de otros países.

Se deben mejorar las estrategias de tamización para VHB, VHC y HIV en pacientes usuarios de drogas inyectables, con el fin de reducir su transmisión en dicha población.

..... X

PL-28. Prevalencia y riesgo de infección por el virus de la hepatitis B en la población indígena de la cuenca del Cataniapo, municipio de Atures, estado Amazonas, Venezuela

Nathalia Cardona¹, María Duarte¹, Fresia Poblete², Kenia González³, Daicy García¹, Milian Pacheco¹

¹ Unidad de Virus, Servicio Autónomo Centro Amazónico para la Investigación y Control de Enfermedades Tropicales Simón Bolívar, SACAICET, Puerto Ayacucho, Venezuela

² Unidad de Antropología, Servicio Autónomo Centro Amazónico para la Investigación y Control de Enfermedades Tropicales Simón Bolívar, SACAICET, Puerto Ayacucho, Venezuela

³ Laboratorio de Salud Pública del estado Amazonas, Puerto Ayacucho, Venezuela

Venezuela presenta un nivel de prevalencia intermedia de hepatitis B, con focos de alta endemia entre la población indígena. Algunos hábitos y prácticas culturales de dicha población se han descrito como factores de riesgo.

El presente estudio se propuso estimar la prevalencia del virus de la hepatitis B (VHB) en la población indígena de la cuenca del Cataniapo, e identificar variables relacionadas con un posible riesgo de infección.

En 593 individuos de cinco comunidades se determinó serológicamente la presencia de AgsHB y anti-HBc. Se analizaron 12 muestras de suero positivas para AgsHB mediante PCR con el fin de establecer su filogenia y se diligenció una ficha clínico-epidemiológica.

La prevalencia de anti-HBc fue de 24,45 % y la de AgsHB, de 5,40 %. Se obtuvieron seis secuencias, todas del genotipo F. El anti-HBc varió entre 4,49 % y 89,06 %, siendo proporcional a la edad. El AgsHB fluctuó entre 1,1 % en menores de 4 años y fue de 11,76 % en individuos de 40 a 49 años de edad.

Con respecto al sexo, 24,57 % de quienes presentaban anti-HBc y 5,46 % de aquellos con AgsHB

eran hombres, en tanto que 24,33 % de quienes presentaban anti-HBc y 5,33 % de las personas con AgsHb eran mujeres.

En la población piaroa se encontró el AgsHB en el 7,44 % de ellos y el anti-HBc en el 29,03 %. Entre los jiwi, 15,48 % presentaron anti-HBc y 0,65 %, AgsHB. No se encontró el virus en otras etnias. La proporción de resultados positivos se elevó en el área urbana y disminuyó en las zonas más alejadas.

En cuanto a las variables asociadas con el riesgo de infección (extracciones dentales, intervenciones quirúrgicas, lactancia compartida, premasticación de alimentos, tatuaje, perforación del cuerpo y transfusión sanguínea), las prevalencias más elevadas se dieron asociadas a las extracciones dentales (76,55 %, anti-HBc y 68,75 %, AgsHB), y a las intervenciones quirúrgicas (11,70 %, anti-HBc y 15,63 %, AgsHB).

La prevalencia de AgsHB, por encima del 5 %, indica la hiperendemia de la transmisión, sin embargo, estuvo por debajo de la encontrada en otros estudios. El genotipo F hallado guarda relación con aislamientos previos en población indígena venezolana. La exposición al virus presentó una dependencia significativa con respecto a la edad, la etnia, la distancia geográfica del centro urbano más cercano y las variables relativas a extracciones dentales e intervenciones quirúrgicas.

..... ✕

PL- 49. Epidemiología de la infección por el virus de la hepatitis C en Colombia

María Cristina Navas

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

La infección por el virus de la hepatitis C es un problema de salud pública a nivel global. En el 2014 se notificaron 210 casos en el territorio nacional,

con una incidencia de 0,44/100.000); sin embargo, este dato debe analizarse con precaución, pues se presume que debe existir un gran subregistro.

Según reportes publicados entre 1992 y 2012, la frecuencia de infección por el virus de la hepatitis C en donantes de sangre varía de 1,0 a 0,49 %, mientras que en poblaciones con factores de riesgo como la hemodiálisis, la infección por el HIV, el cáncer y el trasplante de órganos, la frecuencia es de 0 a 49 %.

En dos estudios realizados en pacientes sometidos a transfusiones múltiples y en individuos que recibieron transfusiones antes de 1994, se demostró una prevalencia de la infección de 9 % (45/500) y 6,6 % (11/166), respectivamente. La caracterización de 12 muestras permitió identificar el subgenotipo 1b en el 66,6 % de los pacientes con transfusiones múltiples. El predominio de este subgenotipo coincide con lo descrito en donantes de sangre y en pacientes con enfermedades hepáticas terminales en Colombia.

Un análisis retrospectivo en una clínica de Bogotá demostró que la transfusión de sangre había sido el principal factor de riesgo en 163 pacientes atendidos (62 %, 101/163), mientras que el uso de drogas por vía intravenosa solo se identificó en el 1,8 % de los casos.

Aunque la información disponible de este factor de riesgo es escasa, los resultados del último informe del Instituto Nacional de Salud y de un estudio reciente en usuarios de heroína atendidos en un hospital de Pereira demuestra la importancia de este factor de riesgo en la población colombiana.

Es posible que el peso de la transfusión de sangre como factor de riesgo de la infección por el virus de la hepatitis C en la población colombiana se modifique en las próximas décadas, y que la transmisión debido al uso de drogas por vía intravenosa emerja se convierta en el principal factor de riesgo igual como sucede en Europa y Norte América.

..... ✕

VIRUS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS Y DE CONTROL BIOLÓGICO

PL-37. Genes de virulencia relacionados con la potenciación de la actividad insecticida en un aislamiento colombiano del género *Betabaculovirus* de *Spodoptera frugiperda*

Paola Cuartas-Otálora¹, Emiliano Barreto-Hernández², Gloria Barrera-Cubillos¹, Laura Villamizar-Rivero¹

¹ Laboratorio de Control Biológico, Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica, Mosquera, Colombia

² Centro de Bioinformática, Instituto de Biotecnología, IBUN, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga de gran importancia económica en los cultivos de maíz en Colombia. Como alternativa de manejo, el control biológico con virus de la familia Baculoviridae, principalmente los pertenecientes al género *Alphabaculovirus*, ha logrado porcentajes de control de hasta el 90 %. Sin embargo, los costos y los tiempos de acción son grandes en comparación con otras herramientas de control. En este sentido, algunos virus de esta familia, principalmente del género *Betabaculovirus*, producen proteínas de virulencia, como las enhancinas y las quitinasas, relacionadas con la potenciación de la actividad insecticida en procesos de infecciones virales concomitantes.

El objetivo de este estudio fue analizar la secuencia de los genes de virulencia del tipo de las enhancinas y las quitinasas presentes en el genoma del aislamiento colombiano de granulovirus de *S. frugiperda* (SfGV008).

Utilizando la información del genoma completo del granulovirus SfGV008 (GenBank: KM371112), se hizo un análisis bioinformático de los marcos abiertos de lectura (*Open Reading Frames*, ORF) 127 y 132, que codifican genes de enhancinas, y de los 010, 071, 072 y 134, que codifican genes de quitinasas. El análisis se hizo con las secuencias de aminoácidos deducidas para cada uno de los genes y se compararon con las secuencias homólogas descritas para otros aislamientos de la familia Baculoviridae.

Las enhancinas de SfGV008 se agruparon en el grupo filogenético correspondiente a los betabaculovirus. La enhancina del ORF-127 se clasificó como de tipo 2 (vef2) y la enhancina del ORF-132 como de tipo 4 (vef4), al igual que las enhancinas

de otros betabaculovirus, presentando un valor de *bootstrap* de 100.

En cuanto a las quitinasas, las proteínas deducidas no presentaron el dominio c-terminal KDEL, característico de las quitinasas de los baculovirus, el cual probablemente tiene un efecto en la acción lítica del tegumento de las larvas al final del ciclo infeccioso; por el contrario, las quitinasas de SfGV008 podrían considerarse como proteínas secretadas, asociadas a los cuerpos de inclusión y con acción proteolítica en la etapa inicial de la infección viral.

El uso de proteínas del tipo de las enhancinas y quitinasas, como las codificadas en el genoma de SfGV008 en un proceso de infección concomitante, podrían tener un efecto importante en la potenciación de la actividad insecticida viral con un aumento de la patogenicidad y la virulencia.

..... ✕

PL-38. Restablecimiento de la expresión del serotipo HLA-B*44 en células tumorales del cuello uterino mediante transferencia génica usando adenovirus recombinantes

J. Ruiz^{1,2}, L. M. Martínez², N. Cruz², J. A. Lineros², J. A. Rodríguez², V. Medina³, A. L. Cómbita⁴

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

² Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Patología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Las alteraciones en la expresión de HLA-I constituyen el mecanismo de evasión inmunitario más utilizado por las células tumorales, pues estas moléculas son indispensables para la presentación de antígenos tumorales a los linfocitos T citotóxicos. En el cáncer de cuello uterino, la pérdida del HLA-B*44 ocurre con frecuencia y tempranamente, lo que podría tener implicaciones en la calidad de la presentación antigénica.

El objetivo de este estudio fue restablecer la capacidad de generar inmunidad de las células tumorales mediante la transferencia del gen *HLA-B*44:01* usando adenovirus recombinantes.

Se caracterizó la expresión de HLA-I en líneas celulares de cáncer para seleccionar una que pudiera utilizarse como control. Se construyó el adenovirus recombinante AdEasy-1-CMV-HLA-B*44:01 para infectar la línea celular tumoral. Se verificó si la infección con el adenovirus lograba el restablecimiento de la expresión de HLA-B*44:01 y, en consecuencia, de la capacidad de generar inmunidad.

Se eligió la línea celular SiHa de cáncer de cuello uterino como control, ya que es homocigota para HLA-A, -B y -C, hecho confirmado mediante la amplificación del microsatélite en 6p21.3; su fenotipo HLA-B es B*40:02/B*40:02, el cual se ha determinado mediante la tipificación de HLA-I utilizando PCR con iniciadores de secuencia específica y Luminex, por lo que puede utilizarse para verificar la transferencia y expresión en superficie del gen *HLA-B*44:01*, así como el restablecimiento de la capacidad de generar inmunidad de las células. El gen *HLA-B*44:01* se clonó con el pShuttle-CMV, se verificó su secuencia y se comprobó la expresión del transgén mediante la transfección de las células SiHa con el pShuttle-CMV-HLA-B*44:01. Se hizo la recombinación homóloga del pShuttle-CMV-HLA-B*44:01 y el esqueleto adenoviral pAdEasy-1 en las células BJ5183, y se verificaron los recombinantes mediante PCR dúplex y digestión con enzimas de restricción.

Se clonó y confirmó la expresión del *HLA-B*44:01* en una línea celular que no expresa este alelo. Se recombinó el pShuttle-CMV-HLA-B*44:01 con el pAdEasy-1 y este constructo se someterá a transfección en células Ad-293 para producir el adenovirus recombinante.

..... ✕

PL-39. Uso del rotavirus Wt1-5 como virus oncolítico en la línea celular REH de leucemia linfoblástica

Rafael Guerrero¹, Carlos Guerrero^{1,2}

¹ Grupo de Biología Molecular de Virus, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Los virus oncolíticos se seleccionan para infectar y replicarse en células tumorales, y disminuir, así, su viabilidad (oncólisis). Algunos de ellos se han adaptado o modificado para darles mayor capacidad de infección y destrucción selectiva en

células tumorales. Hasta el momento no existe ningún reporte internacional relacionado con el uso de rotavirus como virus oncolítico.

Este estudio buscaba establecer los efectos que tiene la infección causada por el aislamiento del rotavirus oncolítico Wt1-5 sobre las señales bioquímicas relacionadas con la muerte celular en la línea celular REH de leucemia linfoblástica.

La línea celular REH se inoculó con el rotavirus oncolítico Wt1-5 y se evaluó el porcentaje de infección mediante inmunocitoquímica y citometría de flujo. Se determinó la viabilidad celular con azul de tripano y resazurina. Se evaluó el porcentaje de citotoxicidad con DiOC6, 7-AAD, PARP, LDH, TUNEL, caspasas y electroforesis de ADN. La asociación entre la infección por rotavirus y la expresión de algunas proteínas se determinó mediante microscopía confocal y citometría de flujo.

Los resultados demostraron la presencia de antígenos virales a partir de la sexta hora de infección, así como la disminución de la viabilidad celular, incluso con niveles bajos de multiplicidad de infección (0,7), a partir de la hora 12 de la infección.

Se demostró que el rotavirus Wt1-5 generaba efectos citotóxicos en la línea tumoral REH, y se observó que el porcentaje de células positivas para DiOC6, 7-AAD, PARP, LDH, TUNEL y caspasas aumentó en las células infectadas. Se demostró, igualmente, la fragmentación del ADN celular a partir de la hora 12 de la infección.

La adición de anticuerpos policlonales antes de la infección viral, dirigidos contra las proteínas celulares Hsp90, Hsp70, Hsc70, integrina $\alpha\beta3$ y PDI, disminuía el porcentaje de células positivas para los antígenos virales.

El rotavirus Wt1-5 infectó y disminuyó la viabilidad de la línea tumoral REH mediante mecanismos que promovieron la apoptosis.

..... ✕

PL-40. Análisis de la unión de rotavirus a los glóbulos rojos y su efecto sobre la capacidad infecciosa en líneas tumorales

Liliana Martín, Carlos Guerrero, Orlando Acosta

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

En estudios llevados a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular de Virus de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia

se aislaron cinco cepas de rotavirus con la capacidad de infectar y lisar líneas tumorales (Sp40 Ag-14, U-937, REH, Kato III, MDA, MCF-7 y PC3), es decir, de actuar como virus oncogénicos.

El objetivo de este estudio fue analizar la unión de las cepas de rotavirus a los glóbulos rojos y el efecto de dicha unión sobre la capacidad infecciosa en líneas tumorales.

Se evaluó la capacidad de hemaglutinación de los aislamientos de rotavirus en un ensayo con glóbulos rojos humanos. Los virus patrón que dieron origen a los aislamientos que infectan las líneas tumorales, así como la proteína hemaglutinante VP8 del rotavirus RRV, sirvieron de referencia. Para evaluar la unión, se incubaron los aislamientos con glóbulos rojos y su unión se evaluó con inmunofluorescencia. Igualmente, los virus unidos a los glóbulos rojos se incubaron con células tumorales y la infección se evaluó

mediante inmunocitoquímica y FAC. Se evaluó posteriormente la infección de los virus incubados con las glucoproteínas solubles presentes en el suero fetal bovino, las membranas citoplasmáticas de los glóbulos rojos o con la glicoforina, la glucoproteína más frecuente en la membrana de los glóbulos rojos.

Se encontró que, en general, los aislamientos de rotavirus no tenían la capacidad de hemaglutinación, aunque dos de ellos presentaron una leve hemaglutinación frente a las mayores concentraciones. Se encontró que los aislamientos se unieron a los glóbulos rojos y que dicha unión no impidió la infección en las células tumorales. La unión del rotavirus a glucoproteínas solubles tampoco impidió la infección.

La afinidad de los rotavirus con los receptores en las células tumorales es mayor que la de los azúcares de los glóbulos rojos.



VIRUS ANIMALES

PL-13. El componente racial influye en la resistencia a la infección por el virus de la leucosis bovina

Cristina Úsuga, Albeiro López, Julián Echeverri

Grupo de Investigación en Biodiversidad y Genética Molecular, BIOGEM, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia

El virus de la leucosis bovina (BLV) es un retrovirus que afecta especialmente al ganado lechero; se caracteriza por su efecto inmunosupresor, el cual compromete la salud de los animales y su nivel de producción, pues facilita la acción de otros agentes patógenos de etiología infecciosa que generan mastitis, metritis o neumonía. La raza bovina blanco-orejinegro se caracteriza por ser resistente *in vivo* e *in vitro* a patógenos como *Dermatobia hominis*, *Brucella abortus* y el virus de la fiebre aftosa.

El objetivo de este estudio fue determinar si el componente racial de estos bóvidos ejerce resistencia a la infección por el virus de la leucosis bovina y si dicha resistencia se transmite al cruzar esta raza con la Holstein.

Se tomaron 124 muestras de sangre (59 de Holstein, 40 de blanco-orejinegro y 25 de su cruce) de ejemplares pertenecientes al hato Paysandú de la Universidad Nacional de Colombia. Se extrajo el ADN y se amplificó una región altamente conservada del gen *env* mediante PCR anidada. Se utilizó una tabla de contingencia y la prueba de ji al cuadrado para determinar la posible asociación entre la raza y la presencia o ausencia del virus.

Se obtuvo un fragmento de 444 pb en los animales positivos; la prevalencia molecular del virus en los ejemplares fue de 33 %. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos de blanco-orejinegro y Holstein y el cruce de las dos razas. La mayor prevalencia se registró en las vacas Holstein (56 %), seguida de las del cruce (24 %), y las de la blanco orejinegro (5 %).

La raza blanco-orejinegro puede usarse en lechería para mejorar la sanidad del hato lechero, pues aporta genes de resistencia al cruzarla con la Holstein.



PL-14. Primera evidencia del virus de la diarrea bovina de genotipo 2 en Colombia

Viviana Villamil, Víctor Vera, Gloria Ramírez, Jairo Jaime

Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

El virus de la diarrea bovina (BVDV) es un agente patógeno que afecta los hatos bovinos con manifestaciones clínicas que a veces son asintomáticas y otras de carácter entérico, reproductivo o respiratorio. Se han clasificado dos biotipos (citopático y no citopático) y tres genotipos (1, 2 y 3) con base en su secuencia de nucleótidos. El genotipo 1 está ampliamente distribuido en Colombia y es el agente causal de problemas en la reproducción, mientras que los genotipos 2 y 3 no han sido detectados en el país y se desconoce su incidencia.

El propósito del presente estudio fue determinar la presencia del genotipo 2 (BVDV-2) en el territorio nacional en animales procedentes de cuatro zonas ganaderas mediante PCR con transcripción inversa en suero y cartílago de oreja.

Se recolectaron 379 muestras de suero antes del parto en las hembras, 274 de suero precalostro de los terneros nacidos de estas hembras, 145 de suero de los terneros a los 25 días del nacimiento y 181 biopsias de cartílago de oreja de estos mismos. En todas las muestras se determinó mediante PCR con transcripción inversa (RT-PCR) la presencia o ausencia del BVDV y en las positivas se hizo una nueva RT-PCR con iniciadores específicos para la detección del BVDV-2.

Se encontró que 11 (2,9 %) de las muestras del suero de las hembras resultaron positivas para el BVDV-1 y seis para el BVDV-2 (1,58 %). En cuanto a las muestras de suero precalostro, seis (2,12 %) fueron positivas para el BVDV-1. De las muestras de suero tomadas a los 25 días del nacimiento, dos (1,38 %) fueron positivas para el BVDV-1. Ninguna de las muestras del suero de los terneros resultó positiva para el BVDV-2. Por último, tres (1,65 %) biopsias de cartílago de oreja fueron positivas para el BVDV-1 y 14 (7,73 %) para el BVDV-2.

Este estudio representa el primer reporte documentado de la presencia del genotipo 2 del BVDV en animales bovinos de Colombia.

..... ✕

PL-15. Estado actual del conocimiento sobre enfermedades de origen viral en fauna silvestre de Colombia

Juliana Pérez^{1,5}, Diego Soler-Tovar², Milena Peñuela^{3,5}, Néstor Varela^{4,5}

¹ Maestría en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

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

³ Parques Nacionales Naturales de Colombia, Medellín, Colombia

⁴ Zoológico de Matecaña, Pereira, Colombia

⁵ Asociación de Veterinarios de Vida Silvestre, Colombia

Cada vez son más las investigaciones sobre las enfermedades de los animales silvestres en condiciones *ex situ* e *in situ* y sobre su posible impacto en la conservación de especies, la salud animal y la salud humana en Colombia.

El propósito de este estudio fue determinar el estado actual del conocimiento sobre las enfermedades de origen viral en la fauna silvestre en Colombia.

Se analizaron más de 319 documentos en medio físico y digital (artículos científicos, capítulos de libro y trabajos de grado) sobre el tema, publicados entre 1965 y 2014. Se organizó una base de datos con la información sobre los documentos de investigación y los avances en el conocimiento de enfermedades de la fauna silvestre en Colombia. La información se analizó mediante técnicas estadísticas no paramétricas con los programas MS Excel[™] y Epi-Info7[™].

Se encontraron estudios sobre el 70 % de los departamentos del país, principalmente Cundinamarca, Valle del Cauca, Antioquia, Caldas, Córdoba y Meta, y sobre la ciudad de Bogotá; además, se halló que más del 60 % de los documentos se generaron en los últimos 10 años. El 13 % (n=41) de las investigaciones se refería a enfermedades de origen viral (nueve familias de virus), y se habían adelantado *in situ* (n=23), principalmente en especies de los órdenes taxonómicos Chiroptera (n=9) y Rodentia (n=6). Las enfermedades zoonóticas más frecuentemente estudiadas (n=21) han sido la rabia y la infección por hantavirus.

El estudio permitió evidenciar que las enfermedades de tipo zoonótico son las de mayor interés en la investigación. Por ello, es necesario promover

el conocimiento sobre enfermedades virales que representen una amenaza para las poblaciones animales silvestres y su conservación, así como para los animales domésticos y los seres humanos.

..... ✕

PL-16. Estudio de seroprevalencia del coronavirus felino en gatos callejeros, de albergue y caseros en Medellín durante el 2013

Iván Darío Ramírez, Carlos Andrés Hernández, René Ramírez, María Antonia Velásquez

Grupo de Investigación en Ciencias Animales, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad CES, Medellín, Colombia

El coronavirus felino se distribuye en todo el mundo. Se han diferenciado dos biotipos: el coronavirus entérico felino (FECV), de baja virulencia, el cual causa infección en el tracto digestivo que cursa con manifestaciones clínicas leves o sin síntomas, y el virus de la peritonitis infecciosa felina (FIPV), que causa una infección sistémica grave con lesiones en varios órganos y tejidos, especialmente en el peritoneo, y lleva a la muerte. A diferencia del coronavirus entérico felino, el virus de la peritonitis infecciosa felina no se transmite entre los gatos, pues se origina por mutación espontánea del FECV en individuos específicos que a menudo presentan inmunosupresión. Entre los gatos portadores del coronavirus felino, menos del 10 % desarrolla la peritonitis.

El propósito de este estudio fue determinar la seroprevalencia del coronavirus felino en gatos ferales, semicallejeros y caseros en Medellín mediante la detección de anticuerpos en plasma sanguíneo con el método de ELISA.

Se dividieron los felinos en tres grupos: el grupo A (felinos caseros), con 64 individuos; el grupo B (felinos de albergue), con 57 individuos, y el grupo C (felinos callejeros), con 29 individuos. Se hizo la prueba para medir los niveles séricos de anticuerpos contra el coronavirus felino. Los datos se procesaron en el programa Statgraphics®.

La seroprevalencia en el grupo A fue de 62,5 %, en el grupo B, de 75,43 %, y en el grupo C, de 34,48 %. Hubo diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) entre los grupos. Se encontró relación entre el sexo, la edad, el ambiente y la presencia de anticuerpos contra el virus.

La seroprevalencia del coronavirus felino encontrada en Medellín significa que el reto antigénico para los felinos es grande. Fueron más susceptibles los animales de los albergues, donde la gran cantidad de individuos favorece la exposición al virión. Es importante señalar que los animales callejeros no parecen ser una fuente significativa de diseminación de la enfermedad, pues presentaron una prevalencia más baja.

..... ✕

PL-21. Análisis filogenético del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino en granjas porcinas intensivas de Colombia

Jennifer Castro-Vargas¹, Claudia Patricia Calderón¹, Andrea Castillo¹, María Antonia Rincón-Monroy¹, José Fernando Naranjo², Diego Rodríguez²

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

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

El síndrome respiratorio y reproductivo porcino es una enfermedad viral que limita el comercio internacional de porcinos y productos de este origen. Los primeros hallazgos serológicos en Colombia se registraron en 1996. Posteriormente, se realizaron estudios de aislamiento y de caracterización filogenética en cepas aisladas entre 1998 y 2002. Dada la aparición de brotes reemergentes en algunas zonas del país, es necesario actualizar la información de la epidemiología molecular de este virus en Colombia.

El objetivo de este estudio fue hacer el análisis filogenético de las secuencias correspondientes a la región ORF5 del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino obtenidas a partir de muestras de campo recolectadas entre el 2012 y el 2014 en granjas porcinas intensivas de diferentes regiones de Colombia.

Se detectó el fragmento ORF7 mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa para determinar la presencia del virus y cuantificar el número de copias virales en muestras de suero, tejidos y fluidos orales recolectadas en granjas ubicadas en los departamentos de Quindío, Caldas, Cundinamarca, Norte de Santander, Santander, Sucre, Antioquia y Valle del Cauca. Posteriormente se hizo la secuenciación en el fragmento ORF5 para la clasificación filogenética de las cepas.

Las secuencias analizadas se clasificaron dentro del genotipo americano (genotipo 2) y estuvieron próximas a las secuencias de los grupos virales VR2332 y PrimePac. Al comparar las secuencias actuales con las secuencias reportadas por el Instituto Colombiano Agropecuario en años anteriores, se encontraron variaciones de los nucleótidos en el ORF5 relacionadas con regiones antigénicas del virus en las cepas de una misma granja y región geográfica.

Los casos de síndrome respiratorio y reproductivo porcino ocurridos recientemente en Colombia se relacionaron con la presencia de cepas americanas del virus. No se detectó el genotipo europeo.

..... ✕

PL-22. Circovirus porcino en Colombia: aspectos moleculares y caracterización biológica de cepas de campo

María Antonia Rincón-Monroy¹, José Darío Mogollón-Galvis², Gloria Consuelo Ramírez-Nieto², Víctor Julio Vera², Jairo Jaime Correa²

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

² Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

El circovirus porcino de tipo 2 (PCV-2), es el agente etiológico del síndrome multisistémico de emaciación posdestete, el cual ocasiona graves problemas económicos en la industria porcina mundial.

El propósito de este estudio fue detectar el PCV-2 en animales porcinos de granjas intensivas de Colombia y caracterizar biológicamente cepas de campo.

Se evaluaron muestras de suero y tejidos linfoides recolectadas de animales porcinos sanos mediante PCR, así como los signos clínicos compatibles con el síndrome. Para la caracterización genética se analizaron 23 secuencias del ORF2 viral en muestras recolectadas entre el 2002 y 2010.

Se hizo un estudio de infección experimental en lechones privados de calostro con una cepa de campo y se estudió la dinámica de la infección por el virus en cerdas de reemplazo mediante el análisis serológico y molecular de muestras de sangre e hisopados nasales y vaginales recolectados en el momento del ingreso de los animales, durante la aclimatación, el parto y un día después de este, así como en calostro.

Se detectó el ADN viral en casos asociados con el síndrome en cerdas con infección persistente. Las secuencias analizadas se clasificaron dentro de los genotipos PCV-2a y PCV-2b. No se observaron signos clínicos del síndrome en el estudio de infección experimental, pero se confirmó la infección por el PCV-2 mediante inmunohistoquímica, PCR, secuenciación y seroconversión. Se demostró la introducción de cerdas de reemplazo con infección subclínica por el PCV-2 en granjas de cría comerciales y multiplicadoras, y se registró el nacimiento de lechones sanos con cargas virales moderadas o altas en suero y tejidos en presencia de anticuerpos neutralizantes.

En las granjas porcinas intensivas de Colombia estudiadas se constató la circulación de los genotipos PCV-2a y PCV-2b. La infección subclínica por el PCV-2 en las cerdas primerizas puede ocasionar infección subclínica en su progenie y no necesariamente brotes de enfermedad reproductiva.

..... ✕

PL-23. Determinación de la presencia de virus porcinos de los tipos SWBOV, TTV1 y 2 y PPV relacionados con el síndrome multisistémico de emaciación posdestete en explotaciones porcinas de diferentes regiones de Colombia

Adriana P. Corredor-Figueroa, Gloria Ramírez-Nieto, Darío Mogollón-Galvis, María Antonia Rincón-Monroy, Jairo Jaime Correa, Víctor J. Vera-Alfonso

Línea de Investigación en Microbiología y Epidemiología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Las enfermedades virales en los cerdos constituyen una causa importante de problemas sanitarios asociados con pérdidas económicas a nivel mundial en la industria porcina. Se sabe que el síndrome multisistémico de emaciación posdestete es causado por el circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) y otros agentes. Recientemente se ha sugerido que los virus SwBoV y TTV-1 y 2 pueden estar asociados a este síndrome.

El objetivo de este estudio fue establecer la presencia de dichos agentes virales no convencionales en explotaciones porcinas con antecedentes de presentación del síndrome.

Se seleccionaron 152 muestras de suero de animales sanos y 48 muestras de tejidos de animales

que presentaban sintomatología compatible con el síndrome en granjas ubicadas en las áreas de mayor producción porcina en Colombia. Se determinó la presencia del ADN de cada uno de los cuatro virus mediante PCR. Para establecer la posible relación entre la presencia viral y el estado clínico del animal, se analizaron los resultados obtenidos con la PCR, así como los datos de los signos clínicos y de la necropsia mediante una prueba de ji al cuadrado.

Se demostró la presencia de los cuatro virus en las muestras analizadas. En las muestras de tejido, el porcentaje del SwBov aumentó (58 %) con respecto a las de suero (8 %). La sola presencia del PCV-2 fue condición suficiente para la aparición del síndrome ($p=0,03$). Lo mismo ocurrió con el SwBov ($p=0,06$).

Con respecto a las infecciones concomitantes, en las muestras de tejido hubo un alto porcentaje de PCV-2 y TTV-1 y 2 (16,6 %), y de SwBoV y TTV-1 y 2 (20,8 %), lo que sugiere que dichos virus podrían jugar un papel importante en el desarrollo del síndrome bien sea solos o conjuntamente con el PCV-2. La infección simultánea con PCV-2 y TTV-1 y 2 aumentó el riesgo de presentación del síndrome en 6,25% ($p=0,017$).

Este estudio constituye un primer reporte de la presencia de agentes virales no convencionales del tipo del PPV, SwBov y TTV, que pueden tener relación con este síndrome en Colombia.

..... ✕

PL-24. Diagnóstico molecular de la diarrea epidémica porcina en Colombia

Lina María Pérez-Junco¹, María Antonia Rincón-Monroy¹, Diana Gómez¹, Yolanda Chimbi¹, Andrea Castillo¹, Claudia Calderón¹, María del Pilar Pineda², Diego Rojas², José Fernando Naranjo²

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

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

La diarrea epidémica porcina es una enfermedad ocasionada por un virus de la familia Coronaviridae. La enfermedad fue diagnóstica por el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del Instituto Colombiano Agropecuario en marzo del 2014 asociada a cuadros clínicos de diarrea, vómito e inapetencia en cerdas adultas y lechones, y con tasas altas de mortalidad en neonatos.

El propósito de este estudio fue hacer el diagnóstico molecular del virus de la diarrea epidémica porcina en casos clínicos de campo compatibles con la enfermedad.

Entre marzo de 2014 y enero de 2015, se evaluaron 437 muestras (intestino delgado, heces e hisopados fecales) mediante la técnica de PCR con transcripción inversa en tiempo real en animales porcinos con síntomas clínicos asociados a la diarrea epidémica porcina procedentes de explotaciones porcinas intensivas y de traspatio localizadas en 14 departamentos.

Entre el 2014 y 2015 se detectaron 76 casos de la enfermedad: 37 en Cundinamarca, 18 en Antioquia, 12 en Huila, 5 en Nariño, y un caso en cada uno de los departamentos de Boyacá, Santander, Meta y Tolima.

Los casos fueron estudiados en el Centro Federal de Enfermedad Animal en Plum Island, Estados Unidos, donde se estableció que las secuencias del virus de la enfermedad en Colombia tenían porcentajes entre 99 y 100 % de identidad con las secuencias de la cepa NPL-PED y con las de otros aislamientos estadounidenses detectados entre el 2013 y el 2014. Otros análisis filogenéticos confirmaron estos resultados, lo que sugiere que las cepas estadounidenses y las colombianas comparten un ancestro común desconocido. El grupo de las cepas estadounidenses y colombianas tiene una relación distante con linajes asiáticos de China y Corea del Sur.

Se diagnosticó por primera vez en Colombia la diarrea epidémica porcina y se estableció su presencia en diferentes zonas del país. No se ha logrado determinar cómo ingresó el virus al país.

..... ✕

VIRUS VEGETALES

PL-06. Desarrollo de anticuerpos policlonales para la detección del virus de la macana del fique

Gloria Barrera-Cubillos, Paola Cuartas-Otálora, Laura Villamizar-Rivero

Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Mosquera, Colombia

La macana es una enfermedad común en el cultivo del fique que afecta las hojas de la planta con lesiones localizadas que generan clorosis y necrosis y tienen un impacto negativo en la cantidad y calidad de la fibra que se produce. El agente causal de la enfermedad es un virus ARN positivo, descrito como virus de la raya necrótica del fique, perteneciente al género *Dianthovirus*. Una medida de control de la enfermedad es emplear semilla libre del virus, para lo cual es importante desarrollar metodologías de diagnóstico rápidas y de bajo costo.

En este estudio se propuso desarrollar un anticuerpo policlonal para su aplicación en la detección del virus.

Se purificaron partículas virales a partir de macerados de hojas de fique con sintomatología de la enfermedad (rayas cloróticas y necróticas). Las purificaciones virales se analizaron mediante microscopía electrónica de transmisión y electroforesis en gel de proteínas SDS-PAGE. Las partículas virales purificadas se utilizaron para la inmunización de gallinas en un esquema de tres aplicaciones con intervalos de 15 días. La inmunoglobulina Y se extrajo a partir de la yema de huevo (IgY EGGstract IgY Purification System® Promega). Para determinar la afinidad y sensibilidad del anticuerpo, se hizo un análisis *dot blot* con diluciones seriadas utilizando como antígeno el virus purificado y el material vegetal infectado.

La microscopía electrónica de transmisión reveló la morfología isométrica del virus, con un tamaño promedio de 28 ± 2 nm. El análisis electroforético (SDS-PAGE) del virus purificado evidenció una banda de proteína con peso molecular aproximado de 40.000 daltons, correspondiente a la proteína de la cápside.

El anticuerpo policlonal generado presentó afinidad por las partículas virales purificadas de la macana en macerados de material vegetal. Este anticuerpo (IgY) es de gran utilidad para el desarrollo

de una metodología diagnóstica de la enfermedad de la macana aplicable a la detección del virus, principalmente en la semilla, lo que podría reducir la incidencia de la enfermedad y las consiguientes pérdidas en campo.

..... X

PL-07. Detección de *Begomovirus* en malezas asociadas al cultivo del tomate en Pasca, Cundinamarca

Diana Marcela Rivera-Toro, Frenyiline Jara-Tejada, Karina López-López, Juan Carlos Vaca-Vaca

Grupo IPMA, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Palmira, Valle del Cauca, Colombia

Los virus del género *Begomovirus* (familia Geminiviridae) forman parte del grupo de virus emergentes que afectan cultivos de interés agrícola a nivel mundial. Las malezas o arvenses pueden constituirse fácilmente en huéspedes alternos de estos virus y ser fuente de inóculo.

El objetivo de este estudio fue identificar *Begomovirus* presente en malezas asociadas al cultivo del tomate en Pasca, Cundinamarca.

Se recolectaron malezas con síntomas virales y sin estos en un cultivo de tomate localizado en Pasca, Cundinamarca; las malezas se identificaron taxonómicamente consultando los reportes publicados y mediante la comparación de especímenes vegetales depositados en el Herbario “José Cuatrecasas Arumí” de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Para detectar la presencia de *Begomovirus* en las malezas se extrajo el ADN genómico total y mediante PCR con oligonucleótidos específicos para *Begomovirus* y se amplificaron fragmentos de 1,1 kb del genoma A y de 0,5 kb del genoma B.

Se recolectaron e identificaron taxonómicamente 19 malezas, así: *Oxalis latifolia*, *Bidens pilosa*, *Brassica campestris*, *Melothria* sp., *Rumex* cf. *crispus*, *Ipomoea* sp., Asteraceae, *Persicaria nepalensis*, *Stellaria media* y *Veronica persica*. Los componentes de los geminivirus A y B se evidenciaron por sus productos de PCR en las malezas *Stellaria media*, *Veronica persica* y en una especie de la familia Asteraceae.

Se reportó por primera vez la maleza *Stellaria media* como huésped de *Begomovirus* a nivel mundial. También por primera vez, se reportó la presencia de *Begomovirus* en la especie *Veronica persica*. Este es el primer reporte sobre la presencia de *Begomovirus* en la maleza de la familia Asteraceae para Colombia. El control efectivo de las malezas identificadas como portadoras de *Begomovirus* constituye un paso efectivo para mitigar el impacto de estos virus en cultivos de importancia económica.

..... ✕

PL-08. Nuevos arvenses asociados como huéspedes de *Begomovirus* en cultivos de tomate en Florida, Valle del Cauca

Frenyiline Jara-Tejada, Karina López-López, Juan Carlos Vaca-Vaca

Grupo IPMA, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

En el Valle del Cauca, el aumento en la incidencia de la enfermedad causada por *Begomovirus* (familia Geminiviridae) en cultivos de interés económico ha sido notable debido a la proliferación de *Bemisia tabaci* Genn, biotipo B, desde 2002. Las arvenses juegan un papel fundamental en la enfermedad por geminivirus, pues sirven de

reservorios temporales para esta familia de virus durante la rotación de cultivos.

El objetivo del estudio fue identificar huéspedes alternos de *Begomovirus* en arvenses asociadas al cultivo del tomate en Florida, Valle del Cauca. Se recolectaron arvenses con sintomatología viral y sin esta en cultivos de tomate en los alrededores del municipio de Florida; su identificación taxonómica se hizo en el Herbario “José Cuatrecasas Arumí” de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. El virus se detectó mediante PCR utilizando iniciadores universales para *Begomovirus* que amplifican 1.100 pb y 500 pb, correspondientes a los componentes A y B, respectivamente.

De las 15 especies de plantas recolectadas en campo, únicamente las arvenses *Anoda* sp., *Verbena* sp., *Croton hirtus* y *Lantana camara* amplificaron los componentes A y B de geminivirus, mientras que en *Petiveria alliaceae* solo se amplificó el componente A.

En el caso de las arvenses *Petiveria alliaceae*, *Croton hirtus* y *Verbena* sp., este sería su primer reporte mundial como huéspedes de geminivirus, y el primer reporte nacional para *Anoda* sp. La identificación de nuevos arvenses como huéspedes alternos de *Begomovirus* evidencia su gran capacidad de adaptación a nuevos huéspedes, lo que intensifica la posibilidad de que dé origen a variantes emergentes con mayor capacidad patogénica.

..... ✕

OTRAS CONFERENCIAS

PL-01. Red Colombiana de Virología: un “marco abierto de lectura” de retos y oportunidades

Julián Ruiz-Sáenz^{1,2}

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

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

La Red Colombiana de Virología surgió como respuesta a la propuesta de la Organización Panamericana de la Salud a comienzos de 2004 de conformar una red de virología. La red se creó con el objetivo de promover el desarrollo de proyectos colaborativos entre sus miembros y las entidades

internacionales y facilitar y liderar la organización del simposio nacional que se realiza cada dos años desde 2004.

Gracias al empeño y liderazgo de varios virólogos de diferentes universidades, se han llevado a cabo simposios nacionales de virología en varias ciudades del país. Esto ha permitido a la Red convertirse en un escenario académico donde convergen los virólogos especializados en diferentes áreas (virus de plantas, animales, humanos e invertebrados), para presentar sus resultados y establecer lazos de cooperación.

En el 2011, con el objetivo de mejorar la visibilidad y la comunicación entre pares, se adquirió el dominio <http://www.redvirologiacolombia.org/>, y se inició el manejo de las redes sociales adscritas a

la Red. Hoy, la Red se reconoce a nivel nacional como una fuente confiable de noticias científicas en diversas áreas temáticas relativas a los agentes virales y mantiene comunicación con otras redes internacionales y sociedades académicas (*Global Virus Network*, *Sociedade Brasileira de Virologia*, *Sociedad Española de Virología*, *Strategic Network on Neglected Diseases and Zoonoses*, entre otras).

En su base de datos se ha logrado recopilar información de más de 160 investigadores y 60 grupos de investigación, y en las redes sociales se cuenta con casi 2.000 seguidores, principalmente estudiantes de pregrado y posgrado, en los cinco continentes.

El trabajo en redes requiere constancia y liderazgo, y la Red Colombiana de Virología ha demostrado que existe en este campo suficiente masa crítica en el país y que hay un gran potencial para convertirse en una de las sociedades científicas líderes en el país.

..... X

PL-05. La publicación de trabajos de virología en Colombia, un análisis bibliométrico con énfasis en la calidad

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

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

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

Los estudios bibliométricos son una herramienta valiosa para obtener información que permita desarrollar procesos de investigación y generar políticas en ciencia, tecnología y salud.

En este trabajo se hizo un análisis bibliométrico de las publicaciones en el campo de la virología en Colombia utilizando el factor de impacto como medida de la calidad de las revistas. La información (2000-2013) se recolectó de diferentes bases de datos (MedLine, SciELO, Lilacs y Scopus).

El número de publicaciones fue de 711, y la mayoría de ellas correspondía a trabajos originales (89,2 %). Solo 34,2 % de estos se publicaron en cooperación con otros países. En cuanto a la calidad, se encontró el reporte sobre su factor de impacto solo en el 67,7 % de los documentos. El factor de impacto de los artículos publicados en cooperación con grupos internacionales fue más alto que el de aquellos de grupos exclusivamente nacionales (2,7484 Vs. 0,8825).

El mayor número de trabajos se publicó en revistas de medicina tropical (14,6 %), de virología (13,5 %) y de salud pública y ocupacional y de medio ambiente (12,5 %). Por otra parte, la revista más utilizada fue el *Virology Journal* y los temas más frecuentes fueron el HIV/sida, el dengue y el virus del papiloma (21,4 %, 15,8 % y 12,7 %, respectivamente). El mayor factor de impacto fue el de los artículos sobre virus del papiloma, a pesar de no ser esta el área con más publicaciones.

Por último, la institución más productiva fue la Universidad de Antioquia, con 142 documentos, en donde los documentos más citados fueron los relativos al virus del papiloma.

Este estudio proporciona datos sobre la productividad en el campo de las publicaciones de virología en nuestro país, los cuales permiten comparar la cantidad de las publicaciones y su calidad, y resaltan la necesidad de generar vínculos internacionales y transferencia de tecnología, con el fin de alcanzar una mayor visibilidad e impacto para los estudios de virología que se llevan a cabo en el país.

..... X