

B. Parasitología

B-1. Aplicación de la técnica de western blot para el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita.

C. Gallego J.C. Castaño, J.E. Gómez.

Centro Investigaciones Biomédicas Universidad del Quindío.

Resumen: el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita tiene una especial connotación en el primer año de vida. En el nacimiento, la sensibilidad de la detección del *Toxoplasma* es pobre. El uso de métodos inmunológicos es crucial para un diagnóstico postnatal definitivo de toxoplasmosis congénita. Sin embargo, la IgG es conocida por atravesar la barrera placentaria y la IgM e IgA pueden pasar a través de la placenta durante el trabajo de parto y contaminar la sangre del neonato. Así la presencia de anticuerpos maternos en el niño oculta y retarda el significado diagnóstico de las pruebas inmunológicas. El diagnóstico de la toxoplasmosis congénita se ha visto bastante mejorado con la utilización de la técnica de Western-blot. Recientemente ha aparecido un estuche comercial, ID Blot (DPC Diagnostics). Nosotros comparamos el estuche comercial con antígeno preparado en nuestro laboratorio. Se usaron 12 pares de muestras madre-hijo, con el fin de evaluar el valor diagnóstico y determinar si aumentaba la precocidad diagnóstica. El Western-blot es una nueva herramienta para nuestro medio que aporta una mejoría indiscutible para el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita.

B-2. Inmunogenicidad con un plásmido de DNA codificando para la proteína SAG2 de *Toxoplasma gondii* en dos modelos animales.

L. H. Aranzalez, J.C. Castaño, J.E. Gómez.

Centro de Investigaciones Biomédicas Universidad del Quindío.

Resumen: la infección primaria con *Toxoplasma gondii* confiere al hospedero una inmunidad protectora contra la reinfección, lo que sugiere que la prevención de la toxoplasmosis a través de inmunógenos es una meta alcanzable. Nosotros utilizamos taquizoitos de *T. gondii* purificados por filtración a través de una membrana de policarbonato de 3. Se realizó una extracción de DNA genómico de los taquizoitos y se utilizó la técnica de PCR para amplificar el gen de la proteína de superficie SAG2 de 438 pb, el cual fue insertado en el vector plasmídico pcDNA3, utilizando la enzima DNA T4 ligasa. El inserto fue digerido con BamH1 y EcoR1 y se realizó un clonaje direccional con los dos fragmentos adherentes. Posteriormente, se realizó una transformación y selección de las células de *E. Coli* DH5 competentes con el producto de la ligación. Luego se realizó un tamizaje por PCR confirmando la presencia del gen SAG2. El pcDNA3-SAG2 fue utilizado para la inmunización por vía intramuscular e intraglandular en dos modelos animales: ratón y conejos Nueva Zelanda. En estos animales se realizó la determinación de anticuerpos en suero y saliva mediante técnicas de ELISA y Western blot de los animales previamente inmunizados con el plásmido pcDNA3-SAG2, encontrando que era capaz de inducir la producción de anticuerpos anti-SAG2 específicos, tanto a nivel local como sistémico. Este trabajo demuestra que la utilización de plásmidos que codifican para SAG2 son inmunógenos en dos especies animales, lo que muestra su potencial como parte de estrategias vacunales para la toxoplasmosis animal y humana.

B-3. Eficacia del trimetoprim - sulfametoxazole (t/s) en el manejo de la encefalitis por toxoplasma en pacientes con SIDA. Medellín, Colombia 1996-2001.

G. Velásquez¹, L.A. Vélez¹, R.D. Gómez², P. Mejía³, C. Luque³, T. Flórez³, A. Betancur³.

¹Grupo Investigador de Problemas en Enfermedades Infecciosas (GRIPE), Facultad de Medicina; ²Facultad de Salud Pública; ³Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Introducción: la encefalitis por *Toxoplasma gondii* es una complicación frecuente en pacientes con SIDA. La droga recomendada para su tratamiento (sulfadiazina-pirimetamina) no está disponible en Colombia. **Objetivo:** evaluar la respuesta terapéutica al T/S como medicamento único para el tratamiento y profilaxis secundaria de la encefalitis por toxoplasma. **Diseño:** descriptivo, retrospectivo, de corte transversal. **Población:** 62 pacientes con encefalitis por toxoplasma y SIDA. **Lugar:** Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Programa VIH/SIDA, Medellín. **Métodos:** se incluyeron pacientes infectados por VIH con imágenes compatibles con toxoplasmosis cerebral, IgG positiva y tratamiento con T/S a dosis plenas, seguidas de dosis de mantenimiento indefinidamente. Se analizaron variables demográficas, estado clínico y radiológico antes y después del tratamiento, tasas de curación, recaída y mortalidad. **Resultados:** la toxoplasmosis fue la entidad marcador de SIDA en 33/62 pacientes (53.2%). El recuento promedio de linfocitos CD4 fue 49.8 ± 72.5 (rango 3-374). El 90% (27/30) tuvo menos de 100 CD4. La carga viral fluctuó entre 23600 y >750000. Ningún paciente llevaba más de un mes tomando antirretrovirales. Se encontraron otras enfermedades oportunistas en 27/62 (43.5%). Las principales manifestaciones clínicas fueron signos de focalización y compromiso de la conciencia. Las imágenes revelaron 2.4 ± 1.9 y 6.1 ± 5 lesiones por TC y RM respectivamente. Alrededor del 85% mejoró clínica y radiológicamente con el tratamiento. Murieron ocho pacientes (12.9%) y 13 quedaron con secuelas. Recayeron siete (rango:30-365 días, mediana:53), seis de los cuales habían suspendido la profilaxis ($p < 0.0001$). **Conclusiones:** los pacientes con SIDA y encefalitis por toxoplasma consultan tardíamente. Muchos de ellos tienen otras enfermedades oportunistas sobreagregadas. El T/S es al menos tan efectivo como el tratamiento internacionalmente recomendado.

B-4. Capacidad inmunogénica y protectora de una construcción recombinante de *V.cholerae* CVD103HgR-SAG2 en dos modelos animales.

J.C. Castaño, J. Sarracent, C. M. Finlay.

Centro de Investigaciones Biomédicas- Universidad del Quindío. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".

Resumen: la proteína de membrana SAG2 es la segunda en abundancia en la superficie del parásito *T.gondii* y sólo está presente en el estadio de taquizoito. En los ensayos de protección usando la proteína SAG2 sola o asociada a la Glutacion-S-Transferasa (GST) e ISCOM como adyuvante, en unos se han encontrado un débil efecto protector y en otros se le ha atribuido propiedades inmunosupresoras a la proteína. Dada la gran representatividad de la proteína SAG2 en el estadio de taquizoito que es el que permite la invasión a las células hospederas, nos propusimos determinar la capacidad como inmunógeno de la proteína SAG2, administrada por vía oral en animales en la forma recombinante expresada en una cepa atenuada de *V.cholerae* CVD103-HgR. Logramos demostrar la importancia en la respuesta inmune a nivel de mucosas contra éste parásito de la proteína de superficie SAG2 del taquizoito de *T. gondii* suministrada por vía oral e intraduodenal en dos modelos animales, y la elevada probabilidad de lograr una adecuada protección contra *T.gondii* inmunizando por esta vía con una construcción recombinante. Además, otros aspectos novedosos del presente trabajo son:

- 1) Lograr la expresión estable de la proteína SAG2 en una cepa vacunal de *Vibrio cholerae* (CVD103-HgR) utilizando el plásmido de expresión PGEX-3X.
- 2) Alcanzar una adecuada respuesta inmune de anticuerpos a nivel local de mucosa así como sérico, al igual que un aumento en la tasa de sobrevivencia en uno de los modelos animales.



B-5. Prevalencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en cuatro especies de consumo humano en el departamento de Caldas.

S.M. Candelo, L.A. Guevara, J.A. Meza, R.A. Correa, J.E. Pérez, H.J. Aricapa.
Universidad de Caldas.

Introducción: la frecuencia observada de la infección con *Toxoplasma gondii* en Colombia es del 47%. Caldas presenta una prevalencia de anticuerpos del 56%; la infección en el humano no puede explicarse totalmente por la contaminación de los alimentos y las fuentes de agua con heces del gato; el consumo de carnes cruda o insuficientemente cocidas en la población ha aumentado; las principales fuentes de proteína para el humano en nuestro medio son las carnes de bovinos, porcinos, aves y equino. **Objetivos:** determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cuatro especies de consumo humano (pollos, bovinos, porcinos y equinos); encontrar la posible relación entre las condiciones de tenencia, la procedencia y la edad de algunas de estas especies y la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. **Materiales y métodos:** a partir de la poblacional reportada de cada una de las especies, obtenido de la Secretaría de Agricultura del departamento, el tamaño muestral teniendo en cuenta la más baja prevalencia reportada en estudios similares hechos a nivel mundial. Se obtuvieron 777 muestras de equinos, 797 de porcinos, 955 aves y 397 bovinos; el muestreo de equinos y aves se hizo en los diferentes municipios del departamento y el muestreo de porcinos y bovinos se hizo en la central de sacrificio de la ciudad de Manizales. **Resultados:** se encontró una frecuencia de anticuerpos para bovinos del 21%, para porcinos del 15%, para aves del 16% y para bovinos del 35%. **Discusión:** se observa que la seroprevalencia de anticuerpos en equinos es baja con respecto a estudios hechos en la misma especie en otras partes del mundo, a pesar de que la seroprevalencia fue mayor en hembras esta no presentó significancia estadística a diferencia de otro estudios; las aves en corral o pastoreo tienen mayor riesgo de infectarse con el *Toxoplasma*, algunos linajes presentan mayor propensión a la infección que otros; hay relación entre la edad y la presencia de anticuerpos en los cerdos, a pesar de que hubo mayor número de hembras positivas esta no presentó significancia estadística, los bovinos de ceba presentaron una frecuencia de anticuerpos mayor que los de leche, posiblemente por ser criados en pisos térmicos cálidos.

B-6. Aplicación de la técnica de detección del gen b1 por PCR en toxoplasmosis adquirida durante el embarazo. Estandarización y reporte preliminar.

J.E. Gómez, N. Loango, J.C. Castaño.
Grupo GEMA-TROP, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío.

Resumen: la toxoplasmosis adquirida durante el embarazo puede resultar en infección congénita con serias repercusiones sobre la salud visual o mental del niño. Con el fin de determinar si existe infección fetal se ha hecho evidente que es necesario realizar pruebas de PCR en el líquido amniótico. El objetivo del presente trabajo fue estandarizar y evaluar esta técnica en un grupo de gestantes que cumplían criterios de toxoplasmosis adquirida durante el embarazo (seroconversión o presencia de anticuerpos específicos IgM positivo o IgM e IgA positivas). Las gestantes fueron seleccionadas en la consulta de toxoplasmosis, un programa de extensión del Centro de Salud de la Universidad del Quindío. En un grupo de 30 gestantes cumpliendo estos criterios se realizaron ocho amniocentesis. El líquido amniótico fue centrifugado y en las células del botón de sedimentación se realizó extracción de ADN utilizando el estuche Wizard Genomics. Sobre este ADN se aplicó la técnica de PCR anidado utilizando iniciadores del gen repetido B1 de *Toxoplasma gondii*. Durante la estandarización de la técnica utilizando ADN genómico de *Toxoplasma gondii* cepa RH, la sensibilidad de la prueba llegó a ser de 1 fg de ADN de *Toxoplasma*. Los controles negativos (tampón muestra y cebadores) fueron negativos. El control positivo (ADN de *Toxoplasma*) siempre fue positivo. En tres de las ocho muestras (37%) se encontraron productos de amplificación específicos. En conclusión en este trabajo pudimos estandarizar una prueba con alta sensibilidad que puede ser aplicada con fines diagnósticos para la toxoplasmosis congénita.

B-7. Genotipificación de aislados colombianos de *Toxoplasma gondii* por PCR-RFLP del gen SAG2.

N. Loango, J.E. Gómez, J.C. Castaño.
Grupo GEMA-TROP, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío.

Resumen: *Toxoplasma gondii* es un protozoo cuya variación intra-especie incluye tres grupos clonales: los clonos I que predominan en la forma congénita, los II en la reactivación de inmunosuprimidos y los III en huéspedes intermediarios. Sin embargo, pueden existir variaciones regionales y no conocemos en nuestro país como está ocurriendo esta variación que puede ser clave para el diseño de estrategias vacunales, terapéuticas y de control epidemiológico. Nosotros utilizamos una técnica de genotipificación por PCR-RFLP sobre el gen SAG2. Se utilizaron las enzimas de restricción Sau3A1 y HhaI para construir patrones polimórficos que permiten diferenciar cada uno de los grupos clonales. Se usaron como cepas de referencia las de RH, 76K, J60 y se estudiaron cepas colombianas de origen animal (un aislado de una epidemia en primates del nuevo mundo) y de formas clínicas humanas (tres de líquido amniótico y dos de pacientes inmunosuprimidos). Estos datos nos permitirán reconocer factores de virulencia en este parásito.

B-8. Programa de control prenatal para la toxoplasmosis congénita en la ciudad de Armenia.

M.T. Montoya¹, J.E. Gómez², O.A. Nieto³, L. Quintero³, M.E. Ramírez³, J.C. Castaño².
¹Laboratorio Clínico María Teresa Montoya, Armenia, ²Facultad de Ciencias de la Salud, Programa Medicina, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad del Quindío, ³Secretaría de Salud de Armenia.

Resumen: estudios previos en el Quindío han demostrado la importancia de la toxoplasmosis adquirida durante el embarazo en la región. La Secretaría de Salud de Armenia ha iniciado un sistema de vigilancia epidemiológica para esta infección prenatal. De marzo del año 2000 a diciembre del año 2001 se estudiaron un total de 1.904 gestantes del régimen vinculado, subsidiado y contributivo que asisten a controles prenatales. A todas las pacientes se les determinó IgG anti-toxoplasma por la técnica de ELISA y se citaron a una segunda muestra tres semanas después. En las 1.904 pacientes se encontraron 1.206 con resultados ELISA IgG reactivos (63,4%). El 16,3% de las pacientes reactivas tuvieron títulos IgG >a 200 UI/ml. El 40% de las pacientes asistieron a la segunda muestra. Entre las pacientes con variación de los niveles de IgG entre las dos muestras, se encontraron 27 (1,4%) pacientes con IgM e IgA positivas. De 154 pacientes no reactivas que tuvieron más de una muestra subsiguiente se presentaron tres seroconversiones (1,9% de las pacientes susceptibles seguidas). Entre 19 mamás con IgM e IgA positivas se lograron seguir 15 bebés, de ellos cuatro resultaron con toxoplasmosis congénita, sólo uno de ellos fue sintomático y respondió rápidamente al tratamiento. Nuestros resultados muestran que un programa con adecuado seguimiento de los hijos de madres con toxoplasmosis adquirida durante el embarazo permite detectar un gran número de casos clínicamente asintomáticos lo que mejora el pronóstico de estos niños.



B-9. Valoración de la reactividad antigénica con sueros de porcino.

M.C. Vargas, J.C. Giraldo, M.A. Piragauta, H. Castañeda.
Universidad Incca de Colombia.

Resumen: empleando la técnica de electroforesis y la de elusión pasiva; a partir de un antígeno total obtenido del estadio quístico de *Taenia solium* se obtuvo tres fracciones de 95, 45 y 36 kDa, las cuales se valoraron para su reactividad antigénica enfrentadas contra el crudo total, mediante la utilización de la técnica de ELISA; con 30 sueros control positivo diagnosticados postmortem mediante la visualización del parásito; procedentes de diferentes regiones del país, 30 sueros control negativos colectados en el frigorífico Guadalupe de Bogotá y seis sueros positivos para otras helmintiasis y negativos para cisticercosis con el objeto de determinar posibles reacciones cruzadas, con los siguientes resultados: Extracto crudo total, valor de sensibilidad 56.25%, especificidad 100%, valores predictivos positivo y negativo del 100% y 56.25%. Fracción de 95 kDa sensibilidad 90.90%, especificidad 69.76% valores predictivos 69.76% y 90.90%. Fracción de 45 kDa sensibilidad 83.33% especificidad 96.77% valores predictivos 96.77% y 83.33%. Fracción de 36 kDa sensibilidad 100% especificidad 63.82% valores predictivos 63.82% y 100%, respectivamente. Con los valores anteriormente relacionados la fracción 45 kDa es ideal para la estandarización de pruebas diagnósticas de campo, de fácil ejecución y bajo costo para estudios epidemiológicos de la cisticercosis porcina y humana. Si bien el extracto crudo total presenta una excelente especificidad su sensibilidad es baja, de igual manera las fracciones de 95 y 36 kDa presentan una buena sensibilidad, pero su especificidad es baja. Además cabe resaltar que con el antígeno total como con estas dos fracciones se presentaron varios sueros falsos positivos como reacciones cruzadas con algunas de las entidades parasitarias incluidas en el estudio, evento que no se observó con la fracción de 45 kDa.

B-10. Valoración inmunológica, con sueros porcinos, de los polipéptidos 61-41- 29 kda del metacéstodo *Taenia solium*.

J.C. Giraldo, M. A. Piragauta, M. Galindo. C., H. Castañeda.
Universidad Incca de Colombia.

Resumen: el presente estudio se tomó tres fracciones polipeptídicas (61-41- 28kDa) del metacéstodo de *Taenia solium*, las cuales se obtuvieron utilizando la técnica de electroforesis y elusión pasiva, para posteriormente valorar su reactividad inmunogénica mediante la técnica de ELISA, donde cada fracción polipeptídica se enfrentó con 44 sueros control positivo, 38 sueros control negativo, seis sueros positivos para otras entidades parasitarias y negativos para cisticercosis. Mediante el punto de corte y el empleo de tablas de contingencia se reportaron los siguientes resultados: la fracción de 61 kDa tuvo un punto de corte de 0.4807 y reportó una sensibilidad del 100% y una especificidad del 97.4%; la fracción de 41kDa reportó un punto de corte de 0.655, obteniéndose una sensibilidad del 86.27% y una sensibilidad del 97.4%; la fracción de 29 kDa su punto de corte fue 0.553 y arrojó una sensibilidad del 88%, especificidad del 95%. Con base en los resultados se recomienda la utilización de la fracción de 61 kDa por ser la más inmunodominante entre este grupo de tres fracciones al presentar los mayores valores de sensibilidad, especificidad; por tal razón puede ser empleada en la estandarización de pruebas diagnósticas, económicas, rápidas y de fácil ejecución. Con la obtención de fracciones semipurificadas se disminuye la posibilidad de obtener reacciones cruzadas con otros helmintos permitiendo la estandarización de pruebas inmunodiagnósticas de campo de alta sensibilidad y especificidad, que se puedan emplear en estudios epidemiológicos del complejo teniasis/cisticercosis.

B-11. Viabilidad de *Trichomonas vaginalis* en el Medio de Cary-Blair.

M.T. Ceballos, A. Sanin, S. Estrada.
Laboratorio Clínico Santa María-Congregación Mariana,
Medellín.

Introducción: la vaginitis por tricomonas es la primera causa de flujo vaginal desde el punto de vista infeccioso en todo el mundo; en nuestro medio no se tiene informes y no se recomienda de forma estandarizada el uso de un medio de transporte para *T. vaginalis*. **Objetivo:** evaluar la viabilidad de *T. vaginalis* en el medio de Cary-Blair. **Materiales y método:** se trata de un estudio descriptivo prospectivo el cual evaluó la viabilidad de *T. vaginalis* en el medio de Cary-Blair. Todos los flujos vaginales que se recibieron en el laboratorio para estudio y se les observó para *T. vaginalis*, se sembraron en el medio de Cary-Blair utilizando aplicadores de algodón, se incubaron a 36 °C. A las 24 y 48 horas se miraron al microscopio para observar su viabilidad. **Resultados:** a la fecha se han estudiado 26 muestras de flujo vaginal positivas para *T. vaginalis*. De estas en 25 (96%) se observaron al microscopio formas viables de *T. vaginalis* en ambos periodos de tiempo. **Conclusiones:** 1. Con este estudio preliminar se puede concluir que el medio de Cary-Blair permite recuperar viable a *T. vaginalis*. 2. Utilizar este medio para remitir muestras de flujo vaginal desde sitios donde no se cuenta con el apoyo de laboratorio y utilizar este medio para remitir muestras al sistema de red de laboratorios.

B-12. Prevalencia de *Enterobius vermicularis* en población de 0 a 15 años de una zona rural de Quipile, Cundinamarca 2001.

E. Lemus, A. Knudson, Y. Ariza, M.P. Chaves, P. Reyes, M.C. López, C. Quintana, L.I. Moncada, G. López, R. Sánchez.
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Resumen: la infección por *Enterobius vermicularis* es una parasitosis cosmopolita, que compromete principalmente a la población infantil y de la cual se conocen pocos datos sobre su prevalencia. Se realizó un estudio descriptivo en zona rural de Quipile, en niños de 0-15 años. El diagnóstico se hizo mediante la técnica de Graham y se aplicó una encuesta para medición de variables socio-económicas y clínicas asociadas. Se estudiaron 176 niños, 95 varones, 81 mujeres. El 91% eran escolarizados y 8% no escolarizados. La media de la edad fue de 7,6 años. La prevalencia para *Enterobius vermicularis* fue de 2,3% (4/176), en el 4,5% de las mismas muestras se observaron huevos de *Ascaris lumbricoides*. El agua de las viviendas del 84% de los niños procedía de tanque comunal; en el 50% la eliminación de excretas se hacía a campo abierto. En relación con hábitos de aseo, 81% de los niños se baña entre cinco a siete veces por semana, 96% cambian diariamente de ropa interior. El 53% refiere prurito anal, al 72,2% de éstos el prurito no lo distrae en clase y al 77,8% no le causa problemas para dormir. El 4,5% refiere observación de parásitos en sus interiores. El 12,3% de la niñas refiere leucorrea. Se administró Albendazol a dosis recomendadas. En esta población la prevalencia de *E. vermicularis* es baja. La alta frecuencia de prurito anal justifica estudiar otras causas para este síntoma. Aunque el contacto con heces no es fuente de infección para *E. vermicularis*, la inadecuada disposición de excretas refleja un problema de saneamiento básico en la comunidad.



B-13. Giardiasis en niños viviendo en asentamientos temporales de Armenia.

E. Torres, M.L. Gallego, Gómez J.E.
Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad del Quindío.

Resumen: el terremoto de enero de 1999 en la región cafetera destruyó el 70% de las casas de Armenia, obligando la creación de numerosos alojamientos temporales. Estudios parasitológicos en los habitantes de los alojamientos temporales post-terremoto demostraron que la giardiasis fue la parasitosis más frecuente en esta población. El Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío, emprendió estudios con el fin de determinar los factores epidemiológicos asociados a esta alta prevalencia. Se recolectaron muestras fecales de 217 niños con edades entre tres y 13 años. Los coprológicos fueron teñidos con hematoxilina férrica y examinados por examen directo. Los datos epidemiológicos fueron recolectados por cuestionario y analizados usando Epi-info (CDC, Atlanta 2001). El 60,4% de las muestras presentaron formas quísticas y el 4,6% trofozoitos de *Giardia*. Los siguientes factores epidemiológicos y de laboratorio fueron asociados significativamente con una mayor prevalencia de giardiasis: uso de servicios sanitarios comunitarios (vs. servicios sanitarios individuales, IC95%: 1,36-13,7); provisión de agua por acueducto (vs. provisión de agua por tanques individuales IC95%: 1,17-14) y presencia de moco en heces (IC95%: 0,9-7). La giardiasis es una enfermedad emergente en situaciones post-desastre. Medidas adecuadas de prevención deben ser realizadas con el fin de disminuir la frecuencia de esta parasitosis.

B-14. Prevalencia de criptosporidiosis en niños menores de 13 años.

C.A. Velasco, I.C. Sarmiento, J. Calderón, R.A. Fonseca, P. Castro, M. Carreño.
Universidad del Valle, Universidad Industrial de Santander.

Introducción: *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) causa diarrea. **Objetivo:** determinar la prevalencia de *C. parvum* en niños del Hospital Integrado San Juan de Dios (HISJD) de Piedecuesta, Santander. **Pacientes y métodos:** estudio prospectivo, transversal. N = 161 niños (un mes y 13 años de edad, 81 masculinos, 146 de Piedecuesta, Santander) que consultaron durante siete meses. Se examinaron las heces según la técnica de Acid Fast Stain. Se analizaron edad, género, síntomas (diarrea, vómito, dolor abdominal, distensión abdominal, fiebre y deshidratación) y peso. Se dividieron en niños con y sin diarrea. Se definió desnutrición global (DNT) para peso/edad cuando el déficit era 10% según la NCHS. Se tuvieron en cuenta algunas condiciones sanitarias (consumo de agua potable, disposición de excretas y presencia de animales intradomiciliares). **Análisis estadístico:** prueba de chi cuadrado y de Fisher, significativa una $p < 0.05$. **Resultados:** 52 evidenciaron *C. parvum* (32.3%): 16 con diarrea (30.8%) y 36 sin diarrea (69.2%) ($p = 0.371$). No hubo diferencias significativas en los 52 niños con *C. parvum* y su procedencia, grupo de edad, género y condiciones sanitarias ($p > 0.05$). En los 41 niños con DNT no hubo diferencias en cuanto a la presencia de *C. parvum* y estado nutricional ($p = 0.774$). De los 52 niños con *C. parvum*, 37 estaban asintomáticos (71.6%) y el resto sintomáticos ($p = 0.488$). **Conclusión:** La prevalencia del 32.3% de *C. parvum* en < 13 años del HISJD es elevada y a pesar que el 71.6% de ellos es asintomático, se encuentra *C. parvum* en el 30.8% de los niños con diarrea.

B-15. Desarrollo y registro de un estuche inmunodiagnóstico para la detección de antígeno de cepas Colombianas de *Giardia duodenalis* en eluidos de heces humanas mediante dot-elisa.

J.E. Gómez, R.S. Nicholls, J.J. Oviedo, S. Duque, A. Arévalo, M. Gracia, R. Guerrero.
Instituto Nacional de Salud, División Animales de Laboratorio, Grupo Parasitología, Bogotá.

Resumen: la identificación de *Giardia duodenalis* se realiza en materia fecal mediante coprológicos seriados, aspirado duodenal y/o biopsias de intestino delgado. El presente trabajo diseñó un inmunoestuche diagnóstico dot-Elisa-*Giardia*-INS para la detección de antígenos del parásito en eluidos de heces utilizando anticuerpos policlonales, desarrollados en conejo, anti-quiste y anti-trofozoito de cepas colombianas de *Giardia*. Se purificaron quistes obtenidos a partir de heces humanas mediante gradientes de sacarosa y percoll con el fin de infectar gerbils, y obtener periódicamente quistes y trofozoitos del parásito. Se inocularon conejos con antígeno de quiste y trofozoito, para la obtención de anticuerpos policlonales anti-estadio de *Giardia*. Estos se purificaron mediante ácido caprílico y sulfato de amonio. Se realizó una mezcla de anticuerpos policlonales anti-quiste y anti-trofozoito de *Giardia* en una proporción 1:2, respectivamente. Diez microlitros de ésta fueron absorbidos en el centro de un círculo de una membrana de nitrocelulosa localizada en el interior de una cubeta. Se conformó el estuche inmunodiagnóstico acoplado una caja inferior con una superior. La primera se diseñó con los elementos requeridos para la elaboración del eluido de heces (cedazos, palitos homogenizadores y pipetas plásticas Pasteur) y la segunda con los elementos (goteros, cubetas) y biológicos (anticuerpo policlonal y conjugado). La detección de antígeno se realizó mediante el dot-Elisa. La visualización de un punto teñido de color violeta en la MNC indicó la unión antígeno-anticuerpo y por ende la detección de antígeno de *Giardia* en la muestra. El dot-Elisa-*Giardia*-INS es rápido, económico y fácil de realizar en cualquier región del país.

B-16. Determinación de la frecuencia de anticuerpos contra la fase larvaria de *Taenia solium* en la población de La Merced (Caldas).

J.E. Pérez, H.J. Aricapa E., Pinzón, P. Agudelo, M. Restrepo.
Universidad de Caldas, Instituto Colombiano de Medicina Tropical.

Introducción: estudios hechos en Caldas por la revisión de historias clínicas han mostrado que la neurocisticercosis se ha presentado en diferentes municipios, siendo La Merced el que presentó mayor cantidad de pacientes por número de habitantes. En otro estudio hecho en 1990 en dicho municipio se encontró que los factores de riesgo más frecuentemente relacionados con la enfermedad eran: el consumo de carne de cerdo mal cocida, el consumo de carnes de cerdos con cisticercos, la expulsión de proglotides y la deposición de materias fecales al aire libre; nunca se determinó la presencia de anticuerpos contra el parásito. **Objetivos:** observar el comportamiento de los factores de riesgo para la cisticercosis con la detección de anticuerpos contra la fase larvaria de *Taenia solium* para de esta manera determinar la seroprevalencia de la enfermedad en La Merced (Caldas). **Materiales y métodos:** se obtuvieron 200 encuestas y 200 muestras de suero del área urbana y rural de dicho municipio; las muestras se procesaron por el método EITB (Immunoelctro Transfer blot) ligado a enzimas. **Resultados:** 2 pacientes fueron positivos para anticuerpos contra la fase larvaria de *Taenia solium*; se observó que algunos de los factores de riesgo para la enfermedad tales como: la tenencia inadecuada de cerdos, la eliminación de proglotides, el consumo de carne de cerdo cruda y la disposición de excretas a ras del suelo. **Discusión:** los riesgos de presentación de teniosis y cisticercosis en el municipio de La Merced han disminuido ya que la frecuencia de los factores asociados a la enfermedad han bajado al compararlos con el estudio hecho previamente; además ninguna persona dentro del rango de edad de los 10 a 19 años presentó anticuerpos, lo cual puede estar indicando ausencia de casos nuevos de la enfermedad; la frecuencia de anticuerpos en dicho municipio es baja comparada a la observada en otros estudios hechos en Colombia, Sudamérica y el mundo.

B-17. Determinación de la multiplicidad de infección de Plasmodium falciparum por medio de la amplificación por PCR de los genes msp1, msp2 y glurp en Quibdó, Chocó.

L. Pardo, I.J. González, L. Osorio.
CIDEIM.

Resumen: el número de clones diferentes de Plasmodium falciparum que infectan un individuo o multiplicidad de infección (MOI), ha sido asociado con la intensidad de transmisión de malaria y recientemente se ha considerado un determinante potencial de la respuesta inmune contra esta enfermedad. La MOI puede ser establecida por medio de la genotipificación de poblaciones del parásito con los genes msp1, msp2 y glurp, los cuales han sido los marcadores más utilizados por ser de copia única y altamente polimórficos. El objetivo del estudio fue determinar la MOI en muestras de pacientes del área urbana de Quibdó (Chocó) entre Marzo y Julio del 2001. El ADN fue extraído con la técnica de Saponina/Chelex de muestras de sangre de pacientes en papel filtro, previo consentimiento informado. La amplificación de las familias alélicas de los genes msp1(K1, MAD20 y RO33), msp2(FC27 e IC1/3D7) y de glurp, se realizó con la técnica de PCR multiplex y anidada. De 200 muestras recolectadas, 137(69%) presentaron producto de amplificación de los tres genes. Las familias encontradas para cada gen fueron: MAD20[130/137(95%)] y K1[7/137(5%)] para msp1; FC27[9/137(6%)] e IC1/3D7[128/137(94%)] para msp2 y tres variantes (con pesos entre 650 y 1100 pb) para glurp. La MOI encontrada fue de un clon en 112/137(82%), dos en 21/137(15%) y 3 en 4/137(3%) muestras. Las familias predominantes fueron similares a las reportadas previamente en otras regiones de Latinoamérica. La baja MOI se correlaciona con lo esperado para zonas de baja transmisión y con la posible baja inmunidad adquirida en esta población.

B-18. Manejo de la malaria complicada en los casos hospitalizados de las Empresas Sociales del Estado (ESE) de las regiones endémicas del Departamento de Antioquia, 2000.

Y.L. López, O. Bernal, O. Quirós.
Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Antioquia.

Resumen: el paludismo causa 500 millones de casos y ocasiona 1.4-2.6 millones de muertes anuales. Los estudios de malaria complicada en Colombia son escasos y no existe información en el sistema de seguridad social sobre la aplicación de protocolos para el tratamiento de malaria complicada de acuerdo con el Ministerio de Salud, que pretenden evitar riesgos en la vida del paciente, efectos adversos por tratamientos inadecuados, resistencia a antimaláricos y altos costos en salud. Se realizó un estudio descriptivo-retrospectivo en el año 2000 para determinar las complicaciones y el manejo diagnóstico, terapéutico y de seguimiento a malaria complicada en las ESE Hospitales de las regiones de Urabá, Bajo Cauca, Nordeste y Magdalena Medio de Antioquia. Se consultó el 100% de egresos hospitalarios por complicación y muerte y se registraron datos de persona, lugar, especie parasitaria, tipo de complicación, tratamiento(s) administrado(s), exámenes de laboratorio y manejo de enfermería. Se encontraron 90 casos complicados por malaria: 24.4% anemia por malaria, 8.9% compromiso cerebral, 8.9% compromiso hepático y 7.7% asociación dengue-malaria. Se registró una defunción. El parásito involucrado fue en el 51% Plasmodium falciparum, 36% Plasmodium vivax y 6.7% malaria mixta. Los errores más frecuentes en la aplicación del protocolo de Minsalud correspondieron a un tratamiento incompleto 52.2%, dosificación del medicamento mal calculada 30%, no realizar gota gruesa diaria 76.7%, no realizar exámenes de laboratorio para seguimiento 32.2% y en el 12.2% no se especificó el tratamiento por el médico. La evaluación del estado de conciencia por escala de Glasgow se omitió en el 81%. Se concluye un alto desconocimiento de los protocolos de atención.

B-19. Prevalencia de Leishmaniosis visceral canina en 17 veredas de los municipios de Neiva, Tello y Algeciras (Huila-Colombia).

J. Fernández¹, T. Charry¹, F.J. Bello¹, J. Escovar¹, C.A. Lozano², C. Rojas², C.D. Mazabe², M. Ayala³, R.S. Nicholls^{3,4}, G. Rodríguez³, J.J. Vargas⁴, L.I. Moncada⁴, A. Corredor⁴, M.C. López⁴.

¹Universidad de La Salle, ²Secretaría de Salud Municipal de Neiva y Departamental del Huila, ³Instituto Nacional de Salud, ⁴Universidad Nacional de Colombia.

Resumen: el objetivo de este trabajo fue establecer la prevalencia de leishmaniosis visceral canina, se efectuó un estudio descriptivo en 307 caninos ubicados en 17 veredas de los municipios de Neiva, Tello y Algeciras (Huila), a los cuales se les practicó examen clínico completo, biopsia por punción y aspiración del ganglio linfático poplíteo y toma de sangre por venopunción para la posterior determinación de anticuerpos contra Leishmania chagasi, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta. La población canina estuvo conformada por perros mestizos con edad promedio de 3,05 años; el 31% fueron hembras y el 69, machos. Al examen físico se observó: enflaquecimiento (31%), onicogriposis (29,3%), linfadenitis de ganglio linfático poplíteo (3,2%), áreas alopecicas (21,8%), lesiones eritematosas (11,5%) y úlceras cutáneas (3,3%). El 1,43% de los caninos muestreados presentaron formas amastigotas en el aspirado de ganglio poplíteo y 53 (17,2%) fueron positivos para anticuerpos, contra Leishmania chagasi. De los 53 caninos positivos, 24 (45%) provenían de la vereda San Antonio, 7 (13,2%) de los caninos, de la vereda Papagayo y 5 (9,4%) de la vereda Santa Librada. Los resultados obtenidos en este estudio son altos comparados con otros trabajos desarrollados en Colombia y otros países de Latinoamérica, demostrando la endemidad de la enfermedad en el área, la importancia de los reservorios caninos dentro del ciclo de transmisión y la necesidad de fortalecer las estrategias de vigilancia epidemiológica que permitan detectar la presencia de casos en la población humana.

B-20. Aislamiento e identificación de una cepa de leishmania visceral canina en el municipio de Neiva (Huila-Colombia).

J. Fernández¹, F.J. Bello¹, J. Escovar¹, M. Ayala³, M. Montilla³, R.S. Nicholls^{3,4}, G. Rodríguez³, J.J. Vargas⁴, L.I. Moncada⁴, A. Corredor⁴, M.C. López⁴.

¹Universidad de La Salle, ²Secretaría de Salud Municipal de Neiva y Departamental del Huila, ³Instituto Nacional de Salud, ⁴Universidad Nacional de Colombia.

Resumen: la leishmaniosis visceral (LV) es causada por protozoos del género Leishmania(L.), afecta al hombre y a los cánidos. En Colombia los focos se distribuyen en los departamentos de Cundinamarca, Tolima, Huila, Santander, Norte de Santander, Antioquia, Córdoba, Sucre, Bolívar y la Guajira. Se encuentran como vectores los insectos Lu. longipalpis y Lu. evansi. Como reservorios se han reportado Didelphis marsupialis con 23 a 32 % de infección, de igual forma se describe a Proechimys canicollis. En estudio preliminar realizado en 17 veredas de los municipios de Neiva, Algeciras y Tello se determinó una prevalencia de anticuerpos por Inmunofluorescencia indirecta contra Leishmania chagasi del 17,2%. Con el objetivo de realizar el aislamiento y la identificación de los parásitos del género Leishmania, a un grupo de nueve caninos, se les tomó biopsias de bazo, hígado, ganglio poplíteo y médula ósea, los macerados se cultivaron en 72 tubos en medio de NNN y se inocularon en 72 hámster de 1,5 meses de edad. En cinco caninos se logro aislar leishmania sp, la cual se identificó y caracterizó como Leishmania chagasi, a través de las técnicas de anticuerpos monoclonales e isoenzimas. Se observó positividad en 8,3%(6/ 72) de los tubos cultivados, porcentaje que indica la dificultad de adaptación del parásito al medio in vitro. Entre los factores que facilitan la adaptación se encuentran variables como: enzimas presentes en el huésped, variabilidad genética, proteínas presentes en el parásito, cantidad de parásitos inoculados, la contaminación por hongos y bacterias, que en este caso no superó el 8,3% seis tubos en total. El mayor aislamiento del parásito se realizó del hígado, en el 55% de las muestras analizadas se observó el parásito en medio NNN. Teniendo en cuenta la importancia de los caninos como reservorios para la salud pública, los resultados del estudio realizado, confirmaron al municipio de Neiva (Huila) como una zona de alto riesgo para esta enfermedad zoonótica.



B-21. Características morfológicas de una cepa de *T. rangeli* en cultivo.

M.M. Montilla, L. Sarmiento.
Laboratorio de Parasitología, Unidad de Microscopia y análisis de imágenes Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C.

Introducción: el *T. rangeli* no es patógeno para el huésped vertebrado pero si para el vector, es parásito del hombre, animales domésticos, silvestres e insectos triatómicos en el nuevo mundo. Se han reportado cambios morfológicos progresivos en la infección experimental y natural, consecuencia de las condiciones ambientales que influyen en la diferenciación celular. Las condiciones en el medio de cultivo también pueden influir en la evolución de las cepas mantenidas por largo tiempo. Por la variedad de formas observadas en un cultivo de *T. rangeli*, se inició un análisis morfológico y el seguimiento de su evolución. **Materiales y métodos:** el diseño fue descriptivo cuantitativo. Población de estudio, *T. rangeli* aislada de humano procedente de un banco de sangre de Bogotá, tipificada por isoenzimas y por PCR. Láminas coloreadas con Giemsa obtenidas durante tres años fueron estudiadas con el programa de análisis de imágenes KS300. Los parásitos se clasificaron de acuerdo a la longitud y se estudio su proporción. Se describió la morfología tanto en microscopía de luz como electrónica de transmisión y barrido. **Resultados:** Tipo I: formas redondeadas (3-9 micras) cuya proporción tiende a disminuir con el tiempo. Tipo II entre 10-29 micras que finalmente predominaron. Tipo III formas de más de 30 micras de longitud que fueron muy escasas y además formas multinucleares y algunas sin kinetoplasto. **Discusión:** aunque el cultivo inicial nos permitió observar formas similares a las descritas en el vector *Rhodnius prolixus*, se evidenció como las condiciones del medio de cultivo podrían ejercer con el tiempo cambios morfológicos en la evolución del tripanosoma.

B-22. Comportamiento de *Rhodnius prolixus*, procedente de diferentes insectarios de Colombia, infectado experimentalmente con *Trypanosoma rangeli*.

M.M. Montilla, M. Mejía, C. Palau.
Instituto Nacional de Salud - Laboratorio de Parasitología.

Introducción: el parásito *T. rangeli* infecta naturalmente animales silvestres, domésticos y al hombre sin causarle patología; es transmitido al hospedero por la picadura de triatóminos insectos vectores para los cuales es patógeno a diferencia de *T. cruzi* que no afecta al vector. El objetivo del estudio fue evaluar el comportamiento de *R. prolixus* procedente de distintos insectarios del país mediante infección experimental con *T. rangeli* para contribuir al mejoramiento de la calidad de los insectarios necesarios para diferentes trabajos. **Materiales y métodos:** la infección se realizó vía intracelómica con aguja # 28 en grupos de ninfas de quinto estadio de *R. prolixus* de los insectarios A,B,C,D,E, utilizando dos cepas de *T. rangeli* (Choaci 2V y Durán) purificadas y mantenidas en nuestro laboratorio. El seguimiento realizado durante 16 días de las ninfas infectadas, evaluando éxito de infección mediante observación de hemolinfa, glándulas salivares y porcentaje de mortalidad. **Resultados y discusión:** los porcentajes de viabilidad de las ninfas variaron dependiendo del insectario como también el éxito de infección representado en el número de parásitos encontrados en hemolinfa y glándulas salivares, probablemente debido a la edad del insectario, procedencia geográfica, o a las condiciones de cambio medioambiental. Los porcentajes de viabilidad en la cepa Choachi- 2V fueron 71,42, 16.6, 100, 50 y 50 % para los insectarios A, B, C, D y E respectivamente. El porcentaje mayor de maticícicas en glándulas salivares con esta cepa de *T. rangeli* fue de 86 %, correspondiente al A.

B-23. Producción de un antisuero policlonal contra la fracción proteica de 53 kDa del metacáston de *Taenia solium* en conejos de raza nueva zelanda.

Bohórquez M., M.A. Piragauta, J.C. Giraldo, H. Castañeda.
Universidad Incca de Colombia.

Resumen: en los últimos estudios se han obtenido fracciones semipurificadas del extracto crudo, en las que encontramos la fracción de 53 kDa que presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad del 99.1% en ELISA. Con base en lo anterior se decidió producir un antisuero policlonal en conejos de raza nueva zelanda para determinar si existe reacción cruzada con las otras fracciones del extracto crudo. Este fue obtenido con una concentración de 4.67 mg/ml, a partir del cual se extrajo la fracción de 53 kDa, de geles de acril-bisacril al 16% por elusión pasiva, para utilizarla en los protocolos de inmunización. La proteína se cuantificó por el método de Bradford. La inmunización se realizó en cuatro conejos Nueva Zelanda. Para los protocolos de inmunización se preparó la fracción de 53 kDa con glicerol estéril o Adyuvante Incompleto de Freund. Se inyectó intramuscularmente a cada conejo 0.5 ml (0.25 ml de solución de fracción de 53 kDa diluida previamente en PBS pH 7.4 a diferentes concentraciones y 0.25 ml de glicerol estéril o Adyuvante Incompleto de Freund). Para determinar el título de anticuerpos se utilizó la técnica de ELISA indirecta. Se usó la técnica de western blot para determinar si el suero de conejo inmunizado contenía anticuerpos anti-Fracción proteica de 53 kDa y si eran específicos. Resultados: Por elusión pasiva se obtuvo concentraciones de proteína de 53 kDa en un rango de 50 ug/ml a 70 ug/ml, el conejo # 4 fue el que presentó mayor título de anticuerpos contra la fracción de 53 kDa en la sangría (concentración del inóculo 0.5 ug/ml, sangría No.3 con un título de 1.749 y un punto de quiebre de 0.387). Western blot: Se utilizó el suero control negativo y positivo de la última sangría del conejo # 4, presencia de sólo una banda en la columna correspondiente al antígeno total, no presentó ningún epítipo compartido. Con la técnica de ELISA se demostró que los sueros inmunes de los conejos #2, 3 y 4 presentaban anticuerpos contra la fracción de 53 kDa.

B-24. Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en los Asentamientos Temporales Post-terremoto de la Ciudad de Armenia.

M.L. Gallego, E. Torres, J.E. Gómez.
Centro de Investigaciones Biomédicas - Universidad del Quindío.

Resumen: la *Entamoeba histolytica* fue reclasificada como dos parásitos intestinales genéticamente distintos pero morfológicamente idénticos: uno patógeno (*E. histolytica*) y otro no patógeno (*E. dispar*). Posterior al terremoto del 25 de enero de 1999, que destruyó el 70% de las viviendas de la ciudad de Armenia, se crearon 86 asentamientos temporales habitados por 26.780 personas. La Universidad del Quindío emprendió estudios sobre la prevalencia de parásitos intestinales en esta población sometida a precarias condiciones de higiene y hacinamiento. Se estudiaron 169 muestras de niños y adultos de ocho alojamientos entre cuatro meses y 65 años de edad. Sólo nueve pacientes tenían síntomas diarreicos. Se recolectaron muestras de heces las cuales se observaron por el método directo y también se procesaron por el método de concentración. La distinción entre *E. histolytica* y *E. dispar* se hizo por el método de ELISA para adhesina específica de *E. histolytica* a todas las 169 muestras. La prueba de adhesina fue positiva en sólo dos de las 169 muestras estudiadas (1,1%). Otro estudio en Colombia con la misma técnica reporta 1,4% de prevalencia. Por lo tanto se infiere que existe una baja prevalencia de *E. histolytica* en esta población en contraste con la microscopía en la cual se observaron 57 muestras con quistes de *Entamoeba spp.* Este estudio muestra la necesidad en Colombia de realizar pruebas específicas para determinar la instauración de un tratamiento antiambiano, el cual no se puede basar en el resultado de la microscopía dada la alta frecuencia de amibas no patógenas.



B-25. Determinación de los polimorfismos en los genes *cg2* y *pfCRT* asociados con resistencia a cloroquina en muestras colombianas de *Plasmodium falciparum*.

R.E. Varela, J. Salas, I.J. González.

Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM.

Resumen: la resistencia de *Plasmodium falciparum* a cloroquina (CQ) ha sido asociada con la presencia de 14 y 16 repeticiones en las regiones *k* y *w* respectivamente, del gen *cg2*, y con la presencia de la mutación puntual K76T en el gen *pfCRT* en muestras de Asia y África. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de estos polimorfismos en muestras de Colombia, en donde se han reportado niveles de resistencia a CQ mayores al 77%. El ADN fue extraído por el método Saponina/Chelex a partir de muestras recolectadas en papel filtro. La amplificación de los genes se realizó por medio de PCR estándar y anidado. La presencia de la mutación K76T fue confirmada por digestión con la enzima Apol. Se analizaron en total 105 muestras, 73(69.5%) de la región de la Costa Pacífica y 32(30.5%) de la región Amazónica. El patrón *k/w* predominante fue de 13k en 92/105(87.6%) muestras y 14w en 68/105 (64.8%) muestras, diferente al asociado previamente con resistencia a CQ en África y Asia. Las muestras de la región amazónica fronteriza con Brasil presentaron 12 y 14 repeticiones en *k/w* respectivamente, patrón encontrado en cepas brasileñas. La presencia de un patrón genético específico para cada región sugiere el desarrollo de focos aislados de resistencia en poblaciones de parásitos separadas geográficamente. Todas las muestras que amplificaron el gen *pfCRT* [(82/82)100%], presentaron la mutación K76T al igual que en Asia y África lo cual se correlaciona con los altos niveles de resistencia a CQ encontrados en Colombia.

B-26. Evaluación de la sensibilidad *in vitro* de aislados de *Plasmodium falciparum* de la costa pacífica colombiana a cinco antimaláricos.

C. Murillo, R. Tovar, I.J. González.

Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM.

Resumen: la evaluación de la sensibilidad *in vitro* a antimaláricos provee información sobre el estado de susceptibilidad a medicamentos de cepas circulantes de *P. falciparum*. El uso de esta herramienta permite vigilar el surgimiento de resistencia a los medicamentos en uso y a nuevos antimaláricos. El objetivo de este estudio fue describir la susceptibilidad *in vitro* de cepas de *P. falciparum* de la Costa Pacífica a cloroquina(CQ), amodiaquina(AQ), quinina(QN), mefloquina(MQ), y Arteether(AT). Muestras de sangre venosa fueron obtenidas de pacientes con malaria no complicada previo consentimiento informado, anticoaguladas con solución CPD y transportadas en nitrógeno líquido o a temperatura ambiente. Posteriormente fueron cultivadas y una vez adaptadas, se evaluaron *in vitro* utilizando el método isotópico. Las concentraciones inhibitorias del 50% de crecimiento del parásito (IC50) tomadas como punto de corte para definir resistencia fueron: CQ>45ng/ml, AQ>7ng/ml, QN>275ng/ml, MQ>10ng/ml. El punto de corte para AT aun no está definido. De 29 muestras evaluadas, 13 (45%) procedieron de Tumaco, 6 (21%) de Tadó, 5 (17%) de Quibdó y 5 (17%) de Buenaventura. El número de cepas resistentes para cada medicamento fue: 23/29 (79%) a CQ, 8/29 (28%) a AQ y 2/29 (7%) a MQ. Todas las cepas evaluadas fueron sensibles a QN. La mediana de IC50 en las cepas resistentes fue: CQ 77.51ng/ml (46.1-304.4), AQ 7.66ng/ml (7.19-19.4), MQ 14.23ng/ml (14.17-14.3). La resistencia *in vitro* encontrada a CQ se correlaciona con los hallazgos previos de resistencia *in vivo* a este medicamento. La presencia de cepas resistentes a AQ (primera línea) y MQ (segunda línea) alertan sobre el posible surgimiento y aumento de fallas terapéuticas a estos medicamentos.

B-27. Evaluación de la topoisomerasa I de ADN nuclear de promastigotes de *Leishmania donovani* como blanco de drogas antimoniales.

J. Walker, N. Saravia.

Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas CIDEIM, Cali.

Resumen: las topoisomerasas de ADN (TOPs) son enzimas que median cambios topológicos del ADN esenciales para la división celular. Estudios recientes sugieren que las TOPs tipo I y II de *Leishmania* podrían ser sitios de acción de antimoniales en el tratamiento de la leishmaniasis. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la sensibilidad relativa de las TOP-I nucleares de promastigotes de *Leishmania donovani* y de monocitos humanos a la inhibición por antimoniales pentavalentes (Pentostam® y Glucantime®) y trivalentes (Triostam® y emético tártrico), en paralelo con inhibidores clásicos de TOP-I (bis-benzimidazoles y camptotecina). Se determinó la concentración de la droga que produce la inhibición del 50% de la actividad de TOP-I por un ensayo estándar. Las bis-benzimidazoles fueron potentes inhibidores de la actividad de TOP-I en extractos nucleares tanto de promastigotes como de monocitos (rango de IC₅₀=18-29mM). En contraste, la TOP-I de monocitos presentó mayor sensibilidad a la inhibición por camptotecina (IC₅₀=25μM) que la enzima de *L. donovani* (21% de inhibición a 100μM). El Pentostam® fue el único antimonial que causó inhibición significativa con una potencia 3 veces mayor contra TOP-I de *L. donovani* (IC₅₀=17μM) que contra la enzima de monocitos (IC₅₀=58μM). El Glucantime® y el Triostam® no inhibieron ninguna de las enzimas aún a concentraciones altas (1600-2000μM), mientras que el emético tártrico fue un inhibidor débil de la TOP-I de *L. donovani* (IC₅₀=775μM) y no inhibió la enzima de monocitos a 1600μM. Estos datos indican que es improbable que la TOP-I de *Leishmania* sea blanco selectivo de los antimoniales *in vivo*.

B-28. Identificación de factores proteicos asociados con los mecanismos de metástasis y de resistencia a drogas en especies de *Leishmania* del Nuevo Mundo por medio de técnicas proteómicas.

R. Góngora, A. M. Camacho, N. Acestor, M. Quadroni, N. Fasel, N. G. Saravia, J. Walker.

Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM). Instituto de Bioquímica, Universidad de Lausanne, Suiza.

Resumen: la leishmaniasis mucocutánea constituye un desafío importante para la salud humana a nivel mundial, pero poco se conoce sobre los mecanismos moleculares que actúan en la metástasis o en la resistencia a drogas antimoniales de los parásitos, los cuales representan un reto para una efectiva terapia antileishmanica. El objetivo de este estudio es identificar marcadores moleculares asociados con metástasis y resistencia antimonial en especies de *Leishmania* del nuevo mundo, utilizando técnicas proteómicas. Se utilizó la electroforesis de dos dimensiones (2-DE; enfocamiento isoelectrico y geles en gradiente SDS-PAGE) para producir mapas de proteínas solubles de cinco clones metastásicos y tres no metastásicos de *Leishmania guyanensis*, además dos cepas resistentes al antimonio y una cepa silvestre de *Leishmania panamensis*. El análisis de los proteomas por medio del software Melanie III (GeneBio), ha permitido identificar tres proteínas con expresión diferencial potencialmente asociadas a metástasis, y otra ligada a la resistencia al antimonio. Se determinaron las propiedades físicas (punto isoelectrico y peso molecular) de estas proteínas. Uno de los candidatos como factor de metástasis se aisló e identificó completamente por medio de espectrometría de masas (MS/Q-ToF). Actualmente se trabaja para aislar otros factores de metástasis o de resistencia para ser identificados por (MS/Q-ToF) y diseñar cebadores que permitan clonar por medio de PCR los genes de estas moléculas. Los resultados hasta ahora obtenidos resaltan la utilidad de la proteómica como una herramienta novedosa y sensible para análisis fenotípicos de parásitos como la *Leishmania*.



B-29. Identificación específica de *Trypanosoma cruzi* basada en la presencia del elemento SIRE.

C. Cuervo, M. Montilla, R.S. Nicholls, C. Puerta.
Lab. Parasitología Molecular, Dpto. Microbiología, Facultad Ciencias, U. Javeriana-Bogotá, Lab. Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá.

Introducción: *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas, presenta en su genoma una secuencia corta repetitiva dispersa denominada elemento SIRE. Dada la ausencia de SIRE en *T.rangeli*, en este trabajo se desarrolló una prueba de PCR para la identificación de *T.cruzi*. **Metodología:** los oligonucleótidos TcH2AF y TcH2AR fueron diseñados usando el programa Oligo TM versión 4.0 for Macintosh. La reacción de PCR (Tris-HCl 10mM pH 9.0, KCl 50 mM, triton x-100 0.1%, dNTPs 200 micromolar, cebadores 20 pmoles, MgCl₂ 1.5mM, Taq DNA polimerasa 1.25 U y DNA 125 ng) fue sometida al siguiente programa en un termociclador PTC-100 MJ-Research: denaturación inicial 95°C por 5 min, 30 ciclos de las siguientes características: denaturación 94°C por 30s, anillaje 72°C por 30s y extensión 72°C por 30s, seguidos de un paso de extensión final 72°C por cinco min y refrigeración. Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5%, teñidos con bromuro de etidio. **Resultados:** se logró estandarizar una prueba de PCR que amplifica una banda de 240 pb a partir de cepas del Grupo 1 y 2 del parásito, mientras que no amplifica el DNA de cepas de *T.rangeli* tanto Kp1(+) como Kp1(-), ni DNA humano. **Conclusiones:** la prueba desarrollada constituye una herramienta para identificar *T.cruzi*. Adicionalmente, la alta representatividad de SIRE en el genoma del parásito, sugiere una gran aplicabilidad, en contraposición a las desventajas de polimorfismo, amplificación de *T.rangeli* e inclusive amplificación de minicírculos integrados en la célula huésped.

B-30. Determinación de la reactividad de pacientes chagásicos frente a lisados de cepas colombianas de *Trypanosoma cruzi*.

C. Enciso, M. Montilla, M.M. Santacruz, A. Rodríguez, M. Mercado, F. Rosas, V. Velasco, C. Puerta.
Lab. Parasitología Molecular, Dpto. Microbiología, Facultad Ciencias, U. Javeriana-Bogotá, Lab. Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá.

Introducción: en Colombia, la enfermedad de Chagas se caracteriza por poseer un amplio espectro clínico, siendo la mayoría de los pacientes diagnosticados en la fase crónica de la enfermedad. En este estudio se comparó la reactividad anti-lisados de cepas colombianas de *Trypanosoma cruzi* entre pacientes chagásicos asintomáticos y sintomáticos, con el fin de explorar el uso de esta técnica como sistema para diferenciar ambos grupos de pacientes. **Métodos:** se seleccionaron tres cepas colombianas procedentes de diversas áreas geográficas, huésped y ciclo de transmisión. Los pacientes fueron clasificados en tres grupos. Grupo I: donantes de sangre, positivos para la infección por *T.cruzi*, que no presentaban manifestaciones clínicas de la enfermedad; Grupo II: pacientes con cardiomiopatía chagásica y Grupo III: donantes de sangre, negativos para la infección por *T.cruzi*. Las muestras de sueros fueron analizadas mediante ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) utilizando como antígeno una mezcla de los tres lisados del parásito. Los resultados fueron evaluados según la prueba t student. **Resultados:** se evidenció que el 100% de los pacientes del Grupo II reconocían el antígeno, así como también el 86% del Grupo I, mientras que tan solo el 18% de los pacientes del Grupo III reaccionaron contra los lisados. Adicionalmente, se observó como los índices de reactividad fueron significativamente mas altos en los pacientes sintomáticos que en los asintomáticos. **Conclusiones:** los resultados indican que los pacientes colombianos difieren en su reactividad promedio anti-*T.cruzi*, dependiendo del estadio de la enfermedad en que se encuentren, siendo mas alta la reactividad en pacientes sintomáticos que asintomáticos.

B-31. Estandarización de la técnica de inmunotransferencia para la identificación de antígenos en extractos del mosquito *Culex quinquefasciatus*, reconocidos por IgG de conejos inmunizados.

M.J. Salazar, M.C. López, J.A. Cortés, L.I. Moncada.
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Introducción: la caracterización de proteínas salivares de mosquitos hematófagos es valiosa en estudios relacionados con el diagnóstico e inmunoterapia de individuos alérgicos a su picadura. Estas proteínas están involucradas en el desarrollo de parásitos cuyo ciclo biológico transcurre parcialmente en glándulas salivares de los mosquitos; sin embargo, estudios de este tipo con especies tropicales son escasos. Como parte del proyecto acerca de la identificación de proteínas inmunogénicas en extractos de *Culex quinquefasciatus* y de la respuesta humoral IgG producida por ellas, se establecieron las condiciones óptimas de la técnica de inmunotransferencia para la identificación de antígenos salivares de mosquitos reconocidos por IgG de conejos inmunizados. **Metodología:** muestra: dos conejos inmunizados con extracto de cabeza-tórax de machos de *C. quinquefasciatus* originarios de Bogotá (0.794 mg/ml). Inóculo: Extracto: 0.5 ml + Adyuvante de Freund 0.5 ml. Esquema de Inmunización: 1 ml de inóculo. Intervalo: 0, 15, 30, 60, 120 días. Controles: suero de conejos sin inocular. Positivo: suero obtenido después del tercer inóculo. Variables establecidas: concentración óptima de antígeno, tiempo de corrido electroforético, diluciones óptimas de suero y conjugado anti-IgG de conejo y tiempo de revelado. **Resultados:** la concentración óptima de antígeno fue 150 ug/ml; tiempo de corrido: 1:20 horas. Dilución óptima de suero 1:300; dilución óptima de conjugado 1:25000. Tiempo de revelado: 7-12 minutos. Se observaron bandas con pesos moleculares de 51.3, 60.4 y 120 kDa. El siguiente paso consiste en establecer la composición antigénica de los extractos de hembras y compararlos con los de otras especies.

B-32. Actividad de prostaglandina E2 en *Toxoplasma gondii*.

A. Giraldo, J.C. Castaño, J.E. Gómez.
Grupo GEMA-TROP, Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío.

Resumen: la actividad de prostaglandina E2 (PGE2) es de importancia para el ciclo vital y en la evasión de la respuesta inmune de varios protozoos de importancia médica. En *Toxoplasma gondii* la presencia y papel de esta prostaglandina no ha sido estudiada. Nosotros estudiamos la actividad de PGE2 en el sobrenadante de cultivo de *T. gondii* sin células. De otro lado se realizó un ensayo de multiplicación en cultivo celular en presencia de un anticuerpo monoclonal anti-PGE2. Los resultados muestran que los taquizoitos de *Toxoplasma* producen PGE2 y que existe una disminución en el número de taquizoitos de los sobrenadantes de *Toxoplasma* con células. El estudio de PGE2 y de la enzima que lo produce es una nueva área de estudio con implicaciones para el mejor conocimiento de la fisiopatología de esta infección protozoaria.



B-33. Prevalencia de parásitos intestinales en niños de 0 a 15 años de la Inspección de la Virgen Cundinamarca. 2001.
M.P. Chaves, A. Knudson, Y. Ariza, P. Reyes, J. Echeverry, M.C. López, L. Moncada, O.L. Morales.
Unidad de Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Resumen: el parasitismo intestinal en muchas áreas rurales continúa afectando de manera importante la salud infantil, por ello se hace necesario evaluar la situación parasitológica de las comunidades, con el fin de implementar programas de control. Se estudiaron 278 niños de 0 a 15 años de la Inspección de La Virgen-Quipile-Cundinamarca; se les realizó una encuesta en la que se interrogaban síntomas gastrointestinales que pudieran relacionarse con parasitismo intestinal y algunas variables socioeconómicas y ambientales. Se examinaron las muestras de materia fecal mediante los métodos directo y concentración. Dentro de los parásitos no patógenos el más prevalente fue el *Blastocystis hominis* (60.4%) y la prevalencia de los patógenos se distribuyó así: *Ascaris lumbricoides* (27.3%), *Giardia duodenalis* (17.5%) Complejo *E. histolytica/E. dyspar* (15.8%), *Trichuris trichiura* (14.0%) y *Uncinaria sp.* (7.6%). Los síntomas gastrointestinales referidos por los niños fueron principalmente dolor abdominal y/o diarrea y/o flatulencia, correspondiendo al 40.1% de los niños. En esta comunidad el agua proviene de un pozo y se canaliza por tubería, para luego ser distribuida a las viviendas y escuelas. Las excretas se eliminan a campo abierto. Todos los niños infectados con alguno de los parásitos patógenos recibieron tratamiento con metronidazol y/o albendazol, a dosis usuales. En este trabajo y en un estudio anterior en escolares de cinco a 15 años en la misma comunidad, se concluye que se deben implementar programas de control de parasitismo intestinal, basados en estrategias diferentes a la desparasitación, como la participación comunitaria, educación en salud y el saneamiento ambiental.

B-34. Seroprevalencia de anticuerpos IgG contra *Toxocara canis*, *Entamoeba histolytica*, *Tripanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* y *Cisticercos* en una comunidad rural de Cundinamarca.
M.C. López, P. Reyes, L.I. Moncada, E. Cáceres, C. Agudelo, A. Corredor, M.P. Chaves, A. Knudson, C. Orjuela.
Unidad de Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Resumen: las infecciones parasitarias constituyen un problema de salud pública en los países en vías de desarrollo y se relacionan directamente con las deficientes condiciones de saneamiento ambiental, hábitos de higiene, prácticas socioculturales y pobreza. Con el objetivo de determinar la prevalencia de anticuerpos IgG anti- *Toxocara canis*, *Entamoeba histolytica*, *Tripanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* y larva de *Taenia solium*, se analizaron sueros de 167 niños de 0 a 15 años procedentes de la cabecera y ocho veredas de la Inspección de la Virgen-Quipile-Cundinamarca. Todos eran asintomáticos y clínicamente no presentaban signos compatibles con infección por alguno de los parásitos analizados. Se empleó la técnica ELISA para detección de anticuerpos contra *T. cruzi*, cisticercos, *E. histolytica* y *T. canis* y la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para *T. gondii*. Encontrándose las siguientes prevalencias: *T. cruzi* 0%, cisticercos 5.5% (9/165), *E. histolytica* 2.4% (4/167), *T. canis* 42.3% (70/162) y *T. gondii* 49.36% (78/158). De los niños seropositivos para *T. gondii* 66.45% eran menores de 11 años, 52.57% eran niños y 47.43% niñas; la mediana de los títulos anti *Toxoplasma gondii*, fue 1:256. De los niños que tenían anticuerpos para *T. canis* 64.3% (45/70) eran menores de 11 años, 38.58% niños y 61.42% niñas. El examen coprológico de los niños positivos para cisticercos fue negativo para huevos de *Taenia sp.* En esta comunidad las prevalencias más altas fueron para *Toxocara canis*, *Toxoplasma gondii* y larva de *Taenia solium* y son similares a las encontradas en otras áreas del país con condiciones socioeconómicas deficientes, reflejando contaminación fecal del suelo y el contacto estrecho con animales

B-35. Oncocercosis en Colombia: segunda evaluación de impacto del programa de control.
R.S. Nicholls (1), I. Mejía (2), P. Muñoz (3), H.H. López (1), C.A. Álvarez (1), M.C. López (4), S. Duque (1).
(1) Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C.; (2) Dirección Departamental de Salud del Cauca, Popayán; (3) Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.; (4) Departamento de Salud Pública y Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.

Introducción: en Colombia existe un único foco conocido de oncocercosis, en la vereda Naiciona, municipio de López, Cauca. En 1996 se inició un programa de control basado en la administración de una dosis semestral de ivermectina a la población elegible, el cual ha continuado ininterrumpidamente. El propósito de este trabajo fue realizar la segunda evaluación de impacto del programa de control. **Materiales y métodos:** se realizó una evaluación epidemiológica a profundidad (EEP) que incluyó un examen clínico y biopsia de piel de escápula y cresta ilíaca derechas a 134 personas mayores de cuatro años. También se realizaron una evaluación oftalmológica a 105 personas mayores de nueve años y una evaluación entomológica, siguiendo las metodologías establecidas por el programa para la eliminación de la oncocercosis en las Américas (OEPA). Adicionalmente, se practicó una prueba serológica (ICT) a 121 personas de todos los grupos de edad. **Resultados:** A. Hallazgos clínico-parasitológicos: Prevalencia de microfilarodermia: 0/143 (0%); Seroprevalencia: 0/121 (0%). B. Hallazgos oftalmológicos: Prevalencia de queratitis punteada: 27/105 (25.7%); no se encontraron microfilarias en cámara anterior. C. Hallazgos entomológicos: Tasa de infección parasitaria (TIP): 3/994 (0.3%); Tasa de infectividad (TI): 1/994 (0.1%). **Conclusión:** los resultados muestran que la prevalencia de infección y la transmisión han disminuido en comparación con los hallazgos de línea basal y de la evaluación realizada en 1998, dos años después de iniciado el programa de control. Para asegurar la eliminación de la transmisión es necesario asegurar el suministro semestral de ivermectina con altas coberturas (mayores al 85%) durante por lo menos seis años más.