

Resúmenes

Recibidos para evaluación: 30-04-2003

Aceptados para publicación: 6-05-2003

A Parasitología

A1 Diseño y estandarización de una prueba de PCR para la detección específica de *Trypanosoma cruzi*

Pavía PX, Cuervo CL, Nicholls RS, Mantilla M, Puerta CJ.

E-mail: ppavia@javeriana.edu.co

Objetivo: *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, presenta dos tipos de unidades H2A: 1,2 y 0,76 Kb. Dada la ausencia de la unidad de 1,2 Kb en *T.rangeli*, en este trabajo se desarrolló una prueba de PCR para la detección de *T.cruzi*, usando como blanco este gen. **Materiales y Métodos:** los oligonucleótidos TcH2AF y TcH2AR fueron diseñados usando el programa Oligo TM versión 4.0 for Macintosh. La reacción de PCR (Tris-HCl 10 mM pH 9, KCl 50 mM, triton x-100 0,1 %, dNTPs 200 μ M, cebadores 20 pmoles, MgCl₂ 1,5 mM, Taq DNA polimerasa 1,25 U y ADN 125 ng) fue sometida al siguiente programa en un termociclador PTC-100 MJ-Research: Denaturación 95 °C por 5 min, 15 ciclos con denaturación a 95 °C por 30 s, anillaje y extensión a 72 °C por 1 min y 20 ciclos con anillaje a 65 °C durante 30 s y extensión a 72 °C por 30 s. Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 1,5%, teñidos con bromuro de etidio. **Resultados:** TcH2AF/R amplifican una banda de 230 pb en cepas pertenecientes a los Zimodemas I, II y III de *T.cruzi*, con una sensibilidad de 1fg ADN en la presencia de ADN heterólogo; mientras que no amplifican el ADN de cepas de *T.rangeli* tanto KP1(+) como KP1(-). **Conclusiones:** esta PCR constituye una herramienta potencial para la detección de *T.cruzi* en muestras biológicas de vector, humano y/o ratón.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, Histona H2A, PCR.

A2 Óxido nítrico (NO) en la infección de macrófagos humanos in vitro con *T.rangeli* y *T.cruzi*.

Cárdenas A. ME¹, Mantilla M. G², Torres D. D³, López J. P⁴

¹Universidad Autónoma de Bucaramanga-UNAB, ²UNAB, ³Facultad de Medicina U. de Riberão-Preto Brazil, ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas-ICIB

E-mail: mcarden5@hotmail.com

Objetivo: establecer diferencias in vitro en la expresión del gen de la iNOS en el macrófago durante las infecciones con *T.cruzi* y *T.rangeli* y el papel parasitocida de la molécula. **Materiales y Métodos:** ensayo experimental de cultivo de monocitos periféricos humanos expuestos independientemente a *T. cruzi* y *T. rangeli*, con y sin IFN-gamma + TNF-alfa; y Aminoguanidina. Los nitritos se determinaron mediante la reacción de Griess. Después de 14 horas del reto con el parásito, el RNA total fué extraído y sometido a un RT-PCR, para amplificar el gen de la iNOS. A las 48 horas del reto se determinó el porcentaje de infección y a los 3 y 6 días la viabilidad y el recuento parasitario. **Resultados:** el Macrófago humano no activado solamente expresó débilmente el gen iNOS frente a *T. cruzi* y no frente *T. rangeli*, lo cual indica su participación en la patogenia de la enfermedad. El macrófago activado expresó el gen en ambos casos y la inhibición del NO exacerbó la infección. **Conclusiones:** el gen de la iNOS se expresa por acción de citocinas en el macrófago humano, aparentemente con un control post-transcripcional y de modo diferente frente a la infección con *T.cruzi* y *T.rangeli*, involucrando a la molécula en la patogénesis de la enfermedad.

A3 Análisis de concordancia entre una prueba inmunoenzimática (ELISA) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* y las pruebas de inmunofluorescencia (IFI) y CHAGATEK®

Enciso, C¹, Mercado, M², Rodríguez, A³, Montilla, M⁴, Santacruz, MM⁴, Nicholls, RS⁴, Puerta, C¹

¹Laboratorio de Parasitología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana,

²Unidad de Epidemiología, Departamento de Microbiología, Facultad Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, ³Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, ⁴Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Salud

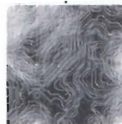
E-mail: cpuerta@javeriana.edu.co

Objetivo: dado que los bancos de sangre en Colombia utilizan pruebas comerciales extranjeras para detectar anticuerpos anti-*T.cruzi*, se decidió evaluar el uso de cepas colombianas como antígeno en una prueba de ELISA y comparar esta prueba con las pruebas de inmunofluorescencia (IFI) y CHAGATEK®. **Materiales y Métodos:** los pacientes fueron clasificados en dos grupos según el resultado de la prueba Chagatek®. Grupo I: 21 pacientes positivos y Grupo II: ocho pacientes negativos. Las muestras de sueros fueron analizadas mediante ensayos de IFI y ELISA utilizando en esta última técnica como antígeno una mezcla de tres lisados de cepas colombianas procedentes de diversas áreas geográficas, hospedero y ciclo de transmisión del parásito. Los resultados obtenidos fueron mediante determinación del índice Kappa. **Resultados:** el ELISA detectó el 71% de los pacientes del Grupo I y el 12% del Grupo II. No obstante, al comparar estas pruebas con IFI se encontró que para el ELISA, los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y valor VPN fueron de 100% (75-100%), 93% (64-100%), 94% (68-100%) y 100% (72-100%), respectivamente. Mientras que para Chagatek® correspondieron a 93% (66-100%), 50% (24-76%), 67% (43-84%) y 88% (47-99%), respectivamente. Adicionalmente, el índice Kappa de concordancia entre el ELISA e IFI fue del 0.93 (IC 95%: 0.8-1); mientras que para IFI y Chagatek® fue de 0.43 (IC95%: 0.26-0.62). **Conclusiones:** dados estos resultados, se recomienda evaluar el uso de una prueba de tamizaje nacional en bancos de sangre que utilicen antígenos colombianos.

A4 Determinación de la localización cromosómica de los genes codificantes para la histona H2A en *Trypanosoma rangeli*

Cuervo, C, Urueña, C, Santander, P, Zarante, I, Puerta, C
Laboratorio de Parasitología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
E-mail: cpuerta@javeriana.edu.co

Objetivo: dada la reciente subdivisión de *Trypanosoma rangeli* en los Grupos 1 y 2; en este trabajo se evaluó tanto el cariotipo de cepas KP1(+) y KP1(-) del parásito, como la localización cromosómica de los genes codificantes para la histona H2A. **Materiales y Métodos:** Epimastigotes de *T.cruzi* y *T.rangeli* fueron embebidos en bloques de agarosa y sometidos a electroforesis en campo pulsado. Los cromosomas fueron visualizados mediante tinción con bromuro de etidio, transferidos a membranas de "nylon", e hibridados con el gen H2A de *T.rangeli*. Las relaciones entre las cepas fueron evidenciadas mediante dendogramas basados en las matrices de la distancia genética de Jaccard. La agrupación de los datos se realizó según el método jerárquico UPGMA usando el programa NTSYSpc versión 2.02. **Resultados y Discusión:** *T.rangeli* muestra 12 cromosomas de tamaño intermedio localizados entre 690 y 2400 Kb; evidenciándose diferencias en el número y tamaño de los mismos entre cepas KP1(+) y KP1(-). *T.cruzi* presenta un perfil cariotípico diferente de *T.rangeli*, con 11 cromosomas de tamaño intermedio, localizados entre 850 y 2600 Kb. El dendograma confirma los anteriores resultados, agrupando a las cepas KP1 (-) de *T.rangeli*, aparte de la cepa KP1 (+). Finalmente, los genes H2A se localizaron en un mismo cromosoma de 1.9 Mb tanto para las cepas KP1(+) como KP1(-) de *T.rangeli*. **Conclusión:** la variabilidad cariotípica asociada a los grupos 1 y 2 de *T.rangeli*, puede ser explorada como una herramienta para diferenciar estas poblaciones del parásito, asociadas a ciclos de transmisión diferentes.



A5 **Inmunodensitometría de western blot: nuevo criterio para diagnóstico de toxoplasmosis congénita postnatal**

Gallego, DC, Gómez, JE
Universidad del Quindío

Objetivo: estandarizar y validar clínicamente la prueba de western blot comercial ID Blot para diagnóstico de toxoplasmosis congénita y aplicar un nuevo criterio basado en inmunodensitometría. **Materiales y Métodos:** se evaluaron sueros de 22 bebés nacidos de madres que durante el embarazo tuvieron criterios serológicos de infección por toxoplasma gondii. Se definieron 11 casos de toxoplasmosis congénita y 11 controles. Se usó el estuche comercial ID Blot y se determinó la sensibilidad de la prueba, su especificidad utilizando los criterios de presencia de IgM, IgA o diferencias en la densitometría de bandas IgG entre madre e hijo. **Resultados:** la prueba ID Blot obtuvo una sensibilidad del 91% y una especificidad del 100% al diagnosticar 10 de 11 casos de TC por la combinación de los parámetros: presencia de bandas de IgG diferentes en el bebé con respecto a la madre y presencia en el bebé de bandas de IgM e IgA anti-Toxoplasma. La concordancia entre la prueba IDBlot y la prueba Immulite IgM fue del 79,4 % al comparar toda la población de estudio. El criterio de inmunodensitometría permitió diagnosticar dos casos sin otros marcadores de infección congénita. **Conclusiones:** la prueba ID Blot es una técnica para centros de referencia que aporta una mejoría indiscutible para el diagnóstico de toxoplasmosis congénita. Este trabajo permitió introducir un nuevo criterio diagnóstico basado en la inmunodensitometría

B **Bacteriología**

B1 **Interés de la determinación del antígeno fecal de *helicobacter pylori* en adultos sintomáticos, comparado con la prueba de la ureasa, la histología y el cultivo.**

García Del Risco, F.¹, Arroyo, B.¹, Redondo, C.¹, Puello, M., Anillo, N., Echavez, M., Cueto, H.,
¹Universidad de Cartagena, ²Universidad de San Buenaventura
E-mail: garciadelrisco@yahoo.com

Objetivo: determinar la utilidad de la detección del antígeno fecal de *H. pylori* (*Hp*) comparado con la prueba de la ureasa, la histología y el cultivo, en el diagnóstico no invasivo de la infección por *Hp* en adultos sintomáticos. **Materiales y Métodos:** estudio descriptivo prospectivo en 42 adultos de la Clínica Enrique de la Vega y Centro Diagnóstico Bocagrande en Cartagena de Indias. Fueron 23 mujeres y 19 hombres, edad promedio 48 años. Se comparó la prueba no invasiva ELISA HpSA (Rida Screen Femtolab) con pruebas invasivas: histología (Jiménez, antro y cuerpo), ureasa (Caldo Urea 10% Merck), cultivo de biopsia gástrica (Campylobacter Selective Agar Supplement Merck) confirmado (Agar Tioglicolato, TTC, Oxidasa, Catalasa Merck). Análisis estadístico PHARMA EPI info 7.0. **Resultados:** Hp(+): histología 66.6% (S: 89.3%, E: 92.9%), ureasa 54.7% (S: 95.7%, E: 78.9%), cultivo 54.7% (S: 95.7%, E: 78.9%). La prueba de ELISA HpSA (61.9%) con una sensibilidad de 95.7% y especificidad 78.9%, Vpp 84.6%, Vpn 93.8%. No significancia entre edad, sexo y métodos. **Conclusiones:** la detección del antígeno fecal (ELISA HpSA) es una prueba no invasiva confiable, sencilla, muy sensible y específica para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en adultos sintomáticos en la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia.

B2 **Evaluación de tres sistemas de rep-PCR para la tipificación de *Klebsiella pneumoniae*.**

Mantilla, JR,¹ García, IA,¹ Espinal, PA,¹ Valenzuela, EM,¹ Alcantar, MD,²
¹Posgrado Interfacultades de Microbiología, Instituto de Biotecnología Universidad Nacional de Colombia, ²Unidad de Medicina Experimental, Universidad Nacional Autónoma de México
E-mail: ibogar@yahoo.es

Objetivo: comparar la técnica de tipificación rep-PCR frente a electroforesis por campos pulsados (PFGE). **Materiales y Métodos:** se estudiaron 11 aislamientos de *K.pneumoniae* relacionados y dos no relacionados. La tipificación rep-PCR se realizó con tres iniciadores (REP, ERIC y BOX); la obtención del ADN y condiciones de amplificación se realizaron siguiendo lo propuesto por Versalovic con modificaciones realizadas en nuestro laboratorio. La tipificación por PFGE se efectuó con macrofragmentos XbaI, siguiendo lo propuesto por Miranda. El análisis de perfiles electroforéticos se realizó con el software NTSYSpc con una matriz de presencia/ausencia y el algoritmo UPGMA. **Resultados:** con la disminución de la concentración de dNTPs, adición de albúmina sérica bovina y aumento de la temperatura de asociación se obtuvieron, para los tres rep-PCR perfiles electroforéticos reproducibles y específicos. Con REP-PCR se obtuvieron cinco grupos clonales con patrones de 27-29 bandas, con ERIC-PCR cinco grupos con patrones de 10-13 bandas y con BOX-PCR 4 grupos con patrones de 22-27 bandas. Mediante PFGE se obtuvieron cuatro grupos clonales con patrones de 10-13 bandas. **Conclusiones:** los agrupamientos generados con los tres iniciadores para rep-PCR fueron concordantes. La comparación de rep-PCR y PFGE mostró agrupaciones similares. Los resultados obtenidos sugieren el empleo de rep-PCR como procedimiento rápido y sencillo para la tipificación de *K.pneumoniae* asociadas a infecciones hospitalarias.