



D-13. Detección de *Chlamydia pneumoniae* en válvulas aórticas y mitrales humanas.

A.M. García, J. Bustamante, J. Zapata, G. Franco, S.L. Atehortúa, J.I. Bañol, M.D Barrera, J.C. Guete, A.I. Marín. Clínica Cardiovascular Santa María - Medellín.

Resumen: diferentes estudios han mostrado relación entre la presencia de *C. pneumoniae* y diferentes patologías cardíacas. En la actualidad hay pocas publicaciones mostrando la relación de este microorganismo y el daño valvular aórtico. En este trabajo se quiere determinar la presencia de *Chlamydia pneumoniae* por la técnica de PCR anidada, en válvulas aórticas y mitrales patológicas y relacionar esta presencia con variables clínicas, sociodemográfica y antecedentes de los pacientes. Este fue un estudio prospectivo en el que se analizaron 148 válvulas, 24 aórticas sanas y 23 mitrales sanas, provenientes de cadáveres y 68 válvulas aórticas enfermas y 33 mitrales enfermas provenientes de pacientes sometidos a reemplazo valvular. Para la detección del ADN de *C. pneumoniae* se realizó por PCR anidada. Se analizaron las variables edad, género, patología anatómica macroscópica responsable de la patología valvular, y antecedentes de los pacientes, utilizando la prueba de Chi-cuadrado. Se encontró presencia de *C. pneumoniae* en válvulas aórticas y mitrales, con una prevalencia general del 25% y prevalencias parciales en válvulas aórticas enfermas de 47%, en válvulas mitrales enfermas de 15.2%, en válvulas aórticas sanas de 4.2% y en válvulas mitrales sanas de 0.0%. Se encontró correlación entre las variables calcificaciones, capa lipídica y fibrosis ($p=0.009$, $p=0.0002$ y $p=0.001$) y la presencia de *C. pneumoniae*. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en la literatura mundial. El hallazgo de *C. pneumoniae* en válvulas mitrales no había sido reportado anteriormente. Se encontraron algunas asociaciones con patologías anatómicas (calcificación, capa lipídica y fibrosis), las cuales deben ser estudiadas con mayor detenimiento.

D-14. Descripción de las variables indicadoras de riesgo para la exposición a la enfermedad de Chagas en el instrumento de tamizaje de los bancos de sangre de Bogotá

S.L. Gómez, E.C. Leal, F.D. Garzón. Secretaría de Salud de Bogotá.

Resumen: la transmisión de la enfermedad de Chagas por vía transfusional es la segunda causa más frecuente de infección, en áreas endémicas y urbanas, debido al fenómeno de urbanización de la endemia, como consecuencia de las migraciones internas. Se realizó un estudio descriptivo, longitudinal, retrospectivo, donde se compararon dos subpoblaciones: seropositivos y seronegativos para la enfermedad de chagas, seleccionados de 11 bancos de sangre de Bogotá. Se seleccionaron cinco variables del instrumento de tamizaje en los bancos de sangre de Bogotá que podían sugerir el riesgo a la infección de Chagas, además de las variables de persona, para establecer su pertinencia como identificadoras del riesgo de infección a la enfermedad, durante el período comprendido entre 1997 y el año 2000. Se utilizó un muestreo bioetápico para la selección de los bancos de sangre y de la subpoblación seronegativa. Se revisaron en total 4372 formularios y se encontró predominio del sexo masculino en un 62.6%, con promedio de edad de la subpoblación seronegativa de 32.4 años y de la seropositiva de 35.1 años. El 17.89% de los seropositivos reportó como sitio de residencia ciudades ubicadas en zona endémica y el 80.85% de éstos, correspondió a donantes procedentes de Bogotá. Hubo mayor proporción de seropositivos en las variables de sitio de residencia endémica para chagas, transfusiones previas, enfermedad cardíaca y conocimiento del vector. Se realizó un análisis exploratorio, buscando posibles asociaciones entre las variables estudiadas como factor de riesgo y la serorreactividad como efecto. En general se encontró que sexo, sitio de residencia, transfusiones previas, enfermedades cardíacas y conocimiento del vector, se podrían comportar como indicadores de riesgo para la serorreactividad de la enfermedad de Chagas. Se encontró que no hay un instrumento de tamizaje estandarizado para todos los bancos de sangre de Bogotá por lo cual se sugiere diseñar un instrumento único y adecuado para todos los bancos de sangre, que a su vez pondere las preguntas para un análisis en conjunto y evite que el encuestador sea quien tome la decisión de aceptar o rechazar el donante.

E - Micología

E-1. Paracoccidioidomicosis pulmonar experimental: análisis tridimensional del colágeno en la formación secuencial del granuloma.

A. González (1), H.L. Lenzi (2), L. Caputo (2), J.H. Sahaza (1), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1,3).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Departamento de Patología, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; 3. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia. Colombia.

Introducción: el granuloma se caracteriza por la presencia de células mononucleares organizadas y células epitelioides. El desarrollo del granuloma depende del agente etiológico, el cual puede ser intracelular obligatorio (*Mycobacterium tuberculosis*) o facultativo (*Paracoccidioides brasiliensis*). **Objetivo:** el presente trabajo pretende analizar tridimensionalmente las estructuras de colágeno en la formación secuencial in situ del granuloma en la paracoccidioidomicosis. **Metodología:** ratones machos BALB/c, inoculados intranasalmente con 4×10^6 conidias de *P. brasiliensis*, fueron sacrificados a los 0, 1, 2, 3, 4 días y 1, 2, 4, 8 y 12 semanas post-infección. Cortes de tejido pulmonar de 30 micras fueron coloreados con ácido fosfomolibdico-rojo picrosirius (PMA-PSR) para el estudio tridimensional de colágeno por microscopia laser confocal (CLSM). Otros cortes fueron desparafinados, desecados a 56°C para análisis en microscopia electrónica de barrido (SEM), y adicionalmente, cortes de cinco micras fueron coloreados con reticulina, tricrómico de Masson y PMA-PSR para análisis por microscopia convencional y de luz polarizada. **Resultados:** el granuloma comenzó a formarse a partir de la segunda semana; las estructuras granulomatosas estuvieron caracterizadas por residuos de colágeno vascular y por puntos de anclaje o centros de radiación de fibras. Las fibras reticulares estuvieron constituidas principalmente por colágeno tipo I. Estas fibras estuvieron centradas y distribuidas de preferencia en la periferia del granuloma. **Conclusiones:** este estudio sugiere que el granuloma paracoccidioidomítico es una estructura bien organizada, donde el arreglo tridimensional de las fibras parte de un punto de anclaje que provee integridad estructural y dinámica al tejido.

E-2. Participación del óxido nítrico en la respuesta granulomatosa y en el control de la infección en la paracoccidioidomicosis pulmonar experimental.

Barrera (2), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1, 3).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). 2. Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. 3. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia.

Resumen: se considera que la respuesta inmune celular es el mecanismo de defensa más importante en la Paracoccidioidomicosis (PCM). Trabajos previos demostraron que el Óxido Nítrico (ON) participa en el mecanismo fungicida in vitro contra conidias de *P. brasiliensis*. También se demostró que la inhibición in vivo del ON por el tratamiento con aminoguanidina (AG) induce una disminución significativa en el tiempo de sobrevida de los animales infectados con el hongo y tratados con el inhibidor; sugiriendo un papel protector in vivo del ON en la PCM experimental. El presente trabajo determinó el efecto del tratamiento con AG sobre: i) expresión de la iNOS y de algunas citoquinas a nivel pulmonar, ii) número de unidades formadoras de colonia, iii) respuesta histopatológica pulmonar y iv) comportamiento del peso corporal de los animales. Los resultados muestran que el tratamiento con AG indujo en los animales infectados pérdida significativa del peso corporal, incremento del grado de infección pulmonar y extrapulmonar, alteración del perfil de citoquinas e incremento de la expresión de iNOS. Se observó también una alteración en la constitución del granuloma de los animales tratados con AG con predominio de necrosis coagulativa, no observada en las lesiones de los animales no tratados. Estos datos sugieren que el ON participa de los mecanismos inmunes que juegan un papel importante en la PCM, como son: a) mecanismo fungicida, encargado de controlar la infección y de evitar la diseminación extrapulmonar, b) mecanismo inductor de la formación y composición celular del granuloma y c) mecanismo regulador de la producción de citoquinas.

E-3. Expresión pulmonar de la Sintasa Inducible del Óxido Nítrico (iNOS) en la Paracoccidioidomicosis Murina (PCM).
E. Caro (1), A.M. Cock (2), A.C. Ruíz (3), R. Jiménez (4), D.L. Álvarez (4), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1,5).

1. Corporación para Investigaciones Biológicas-CIB; 2. Clínica Las Vegas; 3. Clínica Medellín; 4. Universidad Pontificia Bolivariana; 5. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Medellín.

Introducción: la Paracoccidioidomicosis (PCM) es adquirida por la inhalación de conidias de *Paracoccidioides brasiliensis* (Pbc). La respuesta inmune celular es crucial en el control de esta micosis, en la cual el macrófago (Mφ) activado con IFN-γ cumple un papel importante. Estudios in vitro han mostrado que el óxido nítrico (ON) participa en el mecanismo fungicida del Mφ contra las conidias del hongo. **Objetivo:** determinar la expresión de la iNOS a nivel pulmonar en el modelo de PCM experimental murina. **Metodología:** ratones BALB/c machos (4 animales controles inoculados con PBS y 6 con 4X10⁶ Pbc), fueron sacrificados a las 24, 48, 72 horas; 1, 2, 4, 8 y 12 semanas postinfección, evaluando la formación del granuloma y la expresión de iNOS por H&E e inmunohistoquímica, respectivamente. **Resultados:** ningún animal inoculado con PBS presentó reacción inflamatoria o células iNOS+, mientras los ratones infectados presentaron formación temprana de granulomas (2da semana) con incremento significativo en el tiempo, alcanzando los valores máximos entre las 8-12 semanas (26,8±11,9 y 26,0±8,2/ratón respectivamente). La expresión de iNOS fue detectada desde las 24h (6,7±5,4 células iNOS+/ratón), observándose la máxima expresión a las 12 semanas (116,8±100,4) (p<0,01). Adicionalmente, se estableció una correlación significativa (r=0,77891) entre número de granulomas y número de células iNOS+. **Conclusiones:** este modelo de PCM experimental ha permitido caracterizar ciertos mecanismos de defensa del hospedero contra las conidias de *P.brasiliensis* mediados por el ON, constituyendo una herramienta valiosa que facilitaría la evaluación de nuevos compuestos terapéuticos con capacidad inmunomoduladora (inductores o donadores de ON).

E-4. Caracterización de la afinidad específica por 17β-estradiol durante la transición dimórfica de micelio a levadura (M-L) en aislamientos clínicos y ambientales de *Paracoccidioides brasiliensis*.

M. Soto, L.E. Cano, D. Stevens, K.V. Clemons.
Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Universidad de Antioquia, Universidad Pontificia Bolivariana, Centro de Estudios de la Salud, Stanford University.

Introducción: la paracoccidioidomicosis es 13 veces más frecuente en hombres que en mujeres. Esta resistencia parece ser debida en parte a la unión de 17β-estradiol con ligandos específicos que median el bloqueo del dimorfismo M-L y de síntesis de proteínas. La presencia de estos ligandos durante la transición dimórfica no ha sido caracterizada. **Objetivos:** 1. Analizar si durante la transición M-L la afinidad por 17β-estradiol sufre alguna variación en aislados clínicos y ambientales. 2. Identificar inicio y duración del efecto de bloqueo por 17β-estradiol. **Métodos:** cultivos miceliales de *P.brasiliensis* procedentes de aislamientos clínicos y ambientales fueron incubados a 36°C y tratados o no con estradiol. Después de iniciada la transición las proteínas citosólicas totales fueron extraídas y analizadas para afinidad con 3H-17β-estradiol y electroforesis unidimensional. **Resultados:** el bloqueo en el dimorfismo y en la síntesis de proteínas en *P.brasiliensis*, se inicia en las primeras 24h después del cambio de temperatura y es un efecto que permanece de manera indefinida. El bloqueo de este evento es mediado por sitios proteicos de alta afinidad al 17β-estradiol, que permanecen activos durante la transición M-L. **Conclusiones:** estos nuevos hallazgos permiten sugerir que el contacto temprano del hongo con estrógenos mamíferos es un factor clave en el bloqueo de la transición dimórfica M-L y en la síntesis de proteínas. El hallazgo de estos sitios en un aislamiento ambiental, sugiere igualmente que la expresión de esta proteína por el hongo no necesita ser inducida por el contacto con el medio hormonal mamífero.

E-5. Transformación genética de *Paracoccidioides brasiliensis* mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

A. Mesa-Arango, C. Leal, M. Corredor, J. McEwen, A. Restrepo.
Universidad de Antioquia, Universidad Pontificia Bolivariana, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB).

Resumen: la transformación genética es una alternativa para conocer genes involucrados en la patogenicidad de los hongos. Recientemente se ha logrado la transformación de algunos hongos mediante la transferencia del T-ADN del plásmido Ti del bacilo gram negativo *A.tumefaciens*. En *P.brasiliensis* aun no se dispone de un modelo de transformación que permita estudiar genes involucrados en su patogenicidad. Aquí se presentan resultados preliminares de un modelo de transformación genética para este hongo mediada por *A.tumefaciens*. Se empleo *A.tumefaciens* GV-1040 transformado con el plásmido pAD-1625. Este contiene clonados dentro del T-DNA genes casete con la higromicina fosfotransferasa (hph). Se utilizó *P.brasiliensis* ATCC-60855 en forma de levadura. Las bacterias se crecieron en 2 ml de LB-tetraciclina-ampicilina a 28°C, y se diluyeron de 15 a 20 veces en LB a una D.O.600 0.5-1.0, se concentraron por centrifugación y resuspendieron en LB+MES luego se incubaron con las levaduras en filtros de nitrocelulosa por 48 h a 28°C. Post-Incubación los filtros se lavaron con 1 ml de solución salina y se sembraron en BHI-Cefotaxime-higromicina a 37°C hasta que aparecieron colonias. Post-cocultivo se obtuvieron células transformadas mitóticamente estables. El ADN genómico del hongo se analizó por PCR usando iniciadores específicos para el gen hph y se obtuvo un amplicón de 220 pb en la mayoría de las colonias resistentes a higromicina. Lo que sugiere que *P.brasiliensis* adquirió el gen que le confiere resistencia a este antibiótico. Este sistema será empleado para introducir disrupción en genes de interés y así develar su función.

E-6. Expresión de citoquinas Th1-Th2 y su relación con la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en los pulmones de ratones BALB/c infectados intranasalmente con conidias de *Paracoccidioides brasiliensis*.

M.E. Urán (1), E. Caro (1), A. González (1), L.F. Barrera (2), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1, 3).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). 2. Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. 3. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia. Medellín - Colombia.

Introducción: se conoce que en la PCM suelen presentarse diferentes patrones de susceptibilidad. Es así como al inocular cepas de ratones resistentes y susceptibles con levaduras del hongo *P. brasiliensis* se desarrollan patrones opuestos de respuesta inmune; los ratones resistentes muestran una respuesta inmune predominante tipo 1 (Th1), mientras que los ratones susceptibles presentan un patrón tipo 2 (Th2) (Calich et al., 1994; Cano et al., 1995). **Metodología:** se determinó la expresión de las citoquinas por medio de RT-PCR, según las especificaciones del fabricante (GibcoBRL) a partir de homogenizado de pulmones de ratones infectados y controles. El análisis de los productos fue realizada por medio de densitometría y se expresó como la relación de la intensidad neta existente entre el gen constitutivo y su correspondiente citoquina. **Resultados:** el análisis de los perfiles de las citoquinas permitió su agrupación de acuerdo con el tiempo post-inoculación: Período Inflamatorio (24 horas - 1 semana): predominio de citoquinas proinflamatorias (IL-6, IL-1β y TNF-α). Período de transición (1 a 4 semanas): patrón mixto con diferentes tipos de citoquinas. Período granulomatoso (8 - 16 semanas): expresión considerable de iNOS, y de algunas citoquinas tipo th2 (IL-4, TGF-β, IL-10) y también proinflamatorias (TNF-α). **Discusión:** la expresión del RNAm de las diferentes citoquinas se correlacionó con los hallazgos descritos previamente para la infección experimental, tanto histopatológicos como de expresión de proteínas.



E-7. Expresión de lisozima en pulmones de ratones infectados con conidias de *Paracoccidioides brasiliensis*.

A. González (1), H.L. Lenzi (2), J.H. Sahaza (1), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1,3).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Departamento de Patología, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; 3. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Colombia.

Introducción: *in vitro*, las conidias de *Paracoccidioides brasiliensis* (cPb) son sensibles al óxido nítrico (NO), pero no a los productos del estallido respiratorio provenientes de fagocitos profesionales. La lisozima producida por estas células, tiene una amplia capacidad microbicida y generalmente ataca membrana celular o pared de algunos microorganismos, incluyendo hongos, donde destruye las uniones 1-3,β-glucan. **Objetivo:** determinar la expresión de lisozima y la producción de NO en pulmones de animales infectados con cPb. **Metodología:** ratones machos BALB/c, inoculados intranasalmente con PBS o con 4×10^6 cPb fueron sacrificados a los 0,1,2,3,4,7 y 14 días post-infección. Los pulmones fueron embebidos en parafina para determinar la respuesta inflamatoria, la expresión de lisozima y recuento del número de propágulas del hongo; y se realizó lavado broncoalveolar (LBA) para determinar la producción de NO (reacción de Griess). **Resultados:** durante los primeros 4 días post-infección el infiltrado inflamatorio estuvo conformado principalmente por neutrófilos y en menor proporción por macrófagos. Se observó un aumento marcado en la expresión de lisozima en los fagocitos (PMN y Macrófago) de animales infectados. En estos animales, por el contrario, no se detectó producción de NO en los LBAs. Adicionalmente, se observó una disminución significativa ($p < 0.001$) en el número de propágulas de *P. brasiliensis* a partir del 2 día post-infección. **Conclusiones:** estos resultados sugieren que la lisozima podría participar en alguno de los posibles mecanismos microbicidas ejercidos contra *P. brasiliensis*; igualmente, que el óxido nítrico no estaría participando *in vivo* en el control de la infección durante los estadios iniciales del proceso.

E-8. Regulación por estradiol de la expresión de proteínas de choque térmico y del citoesqueleto que participan en la transición de micelio a levadura.

M. Soto, L.E. Cano, D. Stevens, K.V. Clemons.

Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Universidad de Antioquia, Universidad Pontificia Bolivariana, Centro de Estudios de la Salud, Stanford University.

Introducción: la infección por *Paracoccidioides brasiliensis* causa paracoccidioidomicosis clínica 13 veces más frecuente en hombres que en mujeres. La transformación de micelio a levadura incrementa la resistencia del hongo al estrés ambiental garantizando la sobrevivencia del parásito en el hospedero y el establecimiento de la infección. *In vitro*, la exposición del hongo a concentraciones fisiológicas de estradiol inhibe la transformación de micelio y conidia a levadura y altera el patrón general de síntesis de proteínas. **Objetivo:** analizar si la adición de estradiol a cultivos de *P. brasiliensis* durante la transición de micelio a levadura, altera la expresión temporal de proteínas involucradas en el proceso de diferenciación celular tales como hsp70, α-tubulina y actina y de antígenos como p87, gp43 y p27. **Métodos:** cultivos miceliales de *P. brasiliensis* fueron incubados a 36°C y tratados o no con estradiol. Durante la transición termodependiente se extrajeron proteínas citosólicas totales y fueron analizadas por electroforesis uni y bidimensional y Western Blot. **Resultados:** en los cultivos incubados con estradiol, concomitantemente con el bloqueo del dimorfismo la expresión de Hsp70, tubulina y actina fue reducida y finalmente bloqueada entre los días 3 a 10. La expresión de antígenos inmunodominantes no fue afectada. **Conclusiones:** estos datos soportan la hipótesis de que la resistencia de las mujeres a la paracoccidioidomicosis está relacionada con la acción del estradiol sobre el hongo a través de su unión con una proteína ligadora que regula negativamente la expresión de hsp70, α-tubulina y actina, las cuales parecen ser necesarias para completar la transición celular.

E-9. Producción de citoquinas pro-inflamatorias y expresión de moléculas de adhesión durante los estadios tempranos de la paracoccidioidomicosis pulmonar experimental.

A. González (1), H.L. Lenzi (2), E.M. Motta (2), J.H. Sahaza (1), A.M. Cock (3), A.C. Ruiz (4), A. Restrepo (1), L. E. Cano (1,5).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Departamento de Patología, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil; 3. Clínica las Vegas, Medellín, Colombia; 4. Clínica Medellín; Medellín, Colombia; 5. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Introducción: el reclutamiento de leucocitos a los sitios inflamatorios es mediado por moléculas de adhesión celular (MACs) inducidas por citoquinas pro-inflamatorias. **Objetivo:** determinar la producción de citoquinas pro-inflamatorias y la expresión de MACs durante la infección experimental con conidias de *Paracoccidioides brasiliensis* (cPb) y su relación con el reclutamiento leucocitario al sitio inflamatorio.

Metodología: ratones machos BALB/c inoculados intranasalmente con PBS o 4×10^6 cPb, fueron sacrificados al 0,1,2,3,4,7 y 14 días post-infección para determinar celularidad en lavado broncoalveolar (LBA); producción de IL-1β, IL-6, TNF-α, MIP-2 en LBA, homogenizado pulmonar y suero; respuesta inflamatoria y expresión de MACs (ICAM-1, VCAM-1, CD-18, LFA-1, Mac-1) en pulmón. **Resultados:** en relación con los controles, los animales infectados mostraron un incremento de leucocitos en pulmón, con niveles máximos de dos días post-infección ($4.81 \pm 0.30 \times 10^6$ vs $0.29 \pm 0.03 \times 10^6$ células) ($p < 0.000001$). Los PMN predominaron (90.8%) y el área inflamatoria comprometió 40.3 a 41.8% del pulmón. Durante los primeros cuatro días post-infección, se observaron neutrófilos y células mononucleares. Las citoquinas pro-inflamatorias presentaron altos niveles durante los cuatro primeros días post-infección, con niveles máximos en los dos primeros días (1732.2 ± 33.0 , 1230.3 ± 9.1 , 660 ± 4.5 , 1305.8 ± 8.2 pg/ml para IL-1β, IL-6, TNF-α y MIP-2, respectivamente, siendo producidas predominantemente a nivel pulmonar ($p < 0.000001$). En la misma época, las MACs (ICAM-1, b2-integrinas) estuvieron también aumentadas, excepto VCAM-1, expresada en endotelio vascular y solo durante los dos primeros días. **Conclusiones:** estos resultados sugieren que en el pulmón, el reclutamiento de leucocitos en ratones infectados con cPb, está mediado por citoquinas pro-inflamatorias (TNF-α, IL-1β, IL-6, MIP-2) y por MACs (ICAM-1, VCAM-1, b2-integrinas). Este proceso podría participar no solo en la interacción hospedero-parásito, sino también en el control inicial de la infección.

E-10. Adherencia de las conidias y levaduras de *Paracoccidioides brasiliensis* a proteínas de matriz extracelular.

E. Caro (1,2), A. González (1), A. Hamilton (3), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1,4).

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas, U de A; 3. Guy's King's and St. Thomas Medical School, King College, Londres; 4. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia.

Resumen: los ensayos de IFI realizados con preparaciones de fragmentos miceliales, ricos en conidias de *P. brasiliensis* revelaron que las propágulas mostraban capacidad de unión a la laminina, fibronectina y fibrinógeno. Por el contrario, las levaduras del hongo solo mostraron capacidad para interactuar con el fibrinógeno. Estos hallazgos sugieren que *P. brasiliensis* en su fase miceliana posee moléculas que le permiten interactuar con algunas de las proteínas más importantes de MEC (laminina, fibronectina y fibrinógeno), mientras las levaduras del hongo solo se unen al fibrinógeno, indicando entonces que la expresión de estas moléculas podría estar regulada durante el proceso de transformación micelio-levadura y relacionada, de alguna manera, con la capacidad patogénica de cada fase del hongo.

E-11. Importancia del índice terapéutico (IQ) cuando se juzga la sensibilidad de especies de *Cándida* al fluconazol.

C. De Bedout, D.S. Rosero, A. Restrepo, M. Arango.
Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

Resumen: recientemente, se ha demostrado que los hongos vienen incrementando su capacidad para desarrollar resistencia a los antimicóticos y por ello, se han estandarizado pruebas de sensibilidad in vitro. Existe una prueba rápida de difusión en agar para el fluconazol la cual se lee electrónicamente (BIOMIC), y que además de proporcionar la concentración inhibitoria mínima (CIM), correlaciona estos resultados con los niveles alcanzados por el fluconazol en suero (IQ). Lo anterior permite al médico escoger racionalmente la dosis que le permitiría lograr una terapia exitosa. En este trabajo se compararon la CIM y el IQ de 626 aislamientos clínicos de *Candida* spp. recibidos en la CIB entre 1999 y 2001. La CIM demostró que el 87.4% (547) de ellos eran sensibles al fluconazol, 4.8% (30) sensibles dosis dependiente y 7.8% (49) resistentes. Sin embargo, los valores del IQ de los aislamientos sensibles revelaron que no en todos los casos, se alcanzaría éxito terapéutico con dosis bajas de fluconazol (200mg/ml). En efecto, según el IQ sólo 79% de los aislamientos de *C. albicans* consideradas sensibles podrían ser inhibidas por las concentraciones séricas alcanzadas con el fármaco. Las especies de *Candida* diferente a *albicans* presentaron una mayor discrepancia entre una CIM sensible y el valor IQ (14.8 - 50%). Se demuestra así la importancia del IQ para evaluar con más precisión los resultados de la terapia.

E-12. Patrones de sensibilidad y resistencia de aislamientos de *Cándida* en pacientes críticos de la ciudad de Bucaramanga.

L.A. Villar, F.A. Díaz, J.I. Céspedes, A. Torres, C. de Bedout.
Sociedad Colombiana de Medicina Crítica, Capítulo de Santander; Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Corporación de Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín.

Objetivo: determinar la sensibilidad microbiológica al fluconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes en Unidades de Cuidado Intensivo (UCI) de Bucaramanga. **Diseño:** estudio de corte transversal. **Población:** pacientes de UCIs (niños y adultos) con Candidemia, Candiduria o aislamientos en otros sitios anatómicos que requieran tratamiento antifúngico. **Período:** enero a noviembre del 2001. **Sitios:** UCI de hospitales de tercer nivel de la ciudad. **Métodos:** recolección de aislamientos e información clínica correspondiente. Clasificación de género y especie por técnicas de referencia, y estudio de la sensibilidad in vitro al fluconazol por método de Difusión de Disco determinando la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM). **Resultados:** 38 aislamientos de 35 pacientes: 13 urocultivos, 12 hemocultivos, 10 provenientes de vías respiratorias y 3 de otros sitios. 17 (45%) de los aislamientos fueron de *C. albicans*, igual número de *C. tropicalis*, 3 de *C. glabrata* y 1 de *C. parasilopsis*. No se detectó resistencia in vitro al fluconazol (CIM>32 microgramos/mL). Los aislamientos de *C. albicans* mostraron CIMs significativamente más bajas que los de las no-*albicans* ($p=0.004$). Esta diferencia fue independiente del sitio de infección, del empleo de procedimientos invasivos y del uso de antimicrobianos. **Conclusiones:** no hay evidencia de cepas de *Candida* resistentes en las UCI estudiadas. La *Candida albicans* muestra la mayor sensibilidad in vitro al fluconazol, independientemente de la forma de infección y de otras variables clínicas.

E-13. Factores inmunológicos implicados en la resistencia o susceptibilidad a la infección por *Cryptococcus neoformans* en modelos murinos.

C.M. Parra, J.M. González, E. Castañeda, S. Fiorentino.
Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Nacional de Salud(INS).

Resumen: *Cryptococcus neoformans* es un hongo oportunista que produce infecciones en pacientes inmunocomprometidos como en VIH/SIDA. Lo anterior demuestra que la inmunidad celular juega un papel importante en la protección. Igualmente, los anticuerpos dirigidos contra el glucuronoxilomanano o GXM (su principal factor de virulencia), se relacionan con una recuperación, o un mejor pronóstico. El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta inmune humoral y celular específica contra el GXM en ratones infectados con *C. neoformans*. Se utilizaron cepas de ratones susceptibles (C57BL/6), medianamente resistentes (BALB/c) y altamente resistentes (CBA/J) a *C. neoformans*. Los ratones se infectaron con la levadura por vía traqueal y se obtuvieron muestra de suero. Se evaluó por ELISA la presencia de anticuerpos IgG totales y subclases (IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3) anti-GXM y se determinó la reactividad cruzada frente al polisacárido de *Streptococcus pneumoniae*. Adicionalmente, se evaluó la capacidad de proliferación de células de bazo y de factores solubles producidas en respuesta al GXM. En conclusión, se encontró que los ratones susceptibles presentaron en respuesta al GXM: a) la menor producción de IgG1, b) la mayor respuesta de proliferación celular, c) la mayor producción de IL-10 por macrófagos estimulados y d) la mayor respuesta de reactividad cruzada frente al polisacárido de *S. pneumoniae*. En contraste, los ratones resistentes presentaron: a) la mayor producción de IgG1, b) la menor respuesta de proliferación celular c) la más alta producción de TGF- β 1 por parte de los macrófagos y d) la menor respuesta de reactividad cruzada. Se encontró en los ratones susceptibles que los linfocitos B esplénicos predominante en bazo fueron del fenotipo B220bajo/CD5+. En contraste, los ratones resistentes la población predominante fue B220bajo/CD43+. Estos hallazgos indican que una respuesta diferencial contra los polisacáridos pueden estar implicados en la inducción de una respuesta protectora contra esta infección.

E-14. Tipificación molecular de aislamientos iberoamericanos de *Cryptococcus neoformans*. Estudio piloto como parte de una vigilancia epidemiológica global.

A. Castañeda¹, W. Meyer², E. Castañeda¹ y Grupo iberoamericano de estudio en *Cryptococcus*.

¹ Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia. ² Centre for Infectious Diseases and Microbiology, Molecular Mycology Laboratory, The University of Sydney, Department of Medicine at Westmead Hospital, Sydney, Australia.

Resumen: la criptococosis es adquirida por la inhalación de los propágulos infectantes de *Cryptococcus neoformans*, que se encuentran en el medio ambiente. Este hongo ha sido clasificado en var. *grubii* (serotipo A), var. *neoformans* (serotipos D y A/D) y var. *gattii* (serotipos B y C). El objetivo del estudio fue investigar los genotipos de aislamientos iberoamericanos de *C. neoformans*. Se estudiaron 656 aislamientos clínicos, ambientales y veterinarios procedentes de Argentina, Brasil, Chile, Colombia, México, Perú, Venezuela Guatemala y España. Se extrajo el ADN genómico y se amplificó con el iniciador M13; también se realizó RFLP del gen URA5 con las enzimas HhaI y Sau 96I. Los aislamientos fueron separados en 8 tipos moleculares previamente descritos; al tipo VN pertenecieron 539, 475 (67%) al VNI y 35 al VNII (todos var. *grubii*, serotipo A), 12 al VNIII (híbrido entre var. *grubii* y var. *neoformans*, serotipo AD) y 8 al VNIV (var. *neoformans*, serotipo D). Para la var. *gattii* serotipos B y C, 13 fueron VGI, 33 VGII, 73 VGIII y 4 VGIV. Adicionalmente se estudiaron aislamientos seriados de un mismo paciente y se demostró que cada uno de ellos se había infectado con un único aislamiento. El tipo molecular más frecuente fue VNI (67%) lo cual está de acuerdo con lo informado en la literatura. En cuanto a la var. *gattii* el tipo molecular predominante fue VGIII y 78% de los aislamientos fueron ambientales serotipo C de Colombia. Con este estudio se ha logrado ampliar el conocimiento a la epidemiología molecular en criptococosis. **Nota** Este trabajo se presentó en forma de cartel en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis (marzo 3-8 de 2002) Adelaida, Australia.



E-15. Análisis de aislamientos de *Histoplasma capsulatum* de Colombia por RAPD.

M.E. Urán (1), C. De Bedout- Gómez (1), A. Restrepo (1), L.E. Cano (1,2), M. De Medeiros-Muniz (3), A.C. Leandro Silva (3), J.M. Peralta (3,4), R.M. Zancopé-Oliveira (3, 4).

1. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia; 3. Centro de Pesquisa Hospital Evandro Chagas, Serviço de Micologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e parasitologia (DMIP), Rio de Janeiro – Brasil; 4. Departamento de Imunologia do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal Do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – Brasil.

Introducción: es poco lo que se conoce sobre la epidemiología de la histoplasmosis pulmonar primaria en Colombia pero existen algunas reseñas basadas en la sensibilidad a la histoplasmina y algunos informes sobre brotes epidémicos, muchos de los cuales ocurrieron en hospederos inmunocompetentes, lo que revela la agresividad del hongo. Igualmente es poco lo que se conoce sobre la diversidad y la distribución geográfica de nuestros aislamientos. **Objetivo:** determinar la similitud genética existente entre los aislamientos colombianos de *Histoplasma capsulatum*, partiendo de cepas control previamente caracterizadas en otros países (Estados Unidos y Brasil). **Metodología:** los 34 aislamientos de *H. capsulatum* en forma micelial fueron procesado por lisis en nitrógeno líquido y sometidos a extracción enzimática para obtener el DNA; la técnica de RAPD utilizada siguió las indicaciones de "Ready-To-Go RAPD" de Amersham Pharmacia Biotech, INC., utilizando 3 primers comerciales. Para el análisis se determinó el coeficiente de similaridad o índice de Dice agrupándolos por UPGMA ("unweighted pair-group method with arithmetical means"). Así mismo se aplicó el índice numérico de la capacidad discriminatoria por medio del índice de diversidad de Simpson. **Resultados:** fue posible diferenciar 4 grupos, así: Grupo I compuesto por 18 aislamientos colombianos y la cepa clase 4 de Estados Unidos, Grupo II, seis aislamientos control del Brasil y uno solo de Colombia, Grupo III, conformado por dos aislamientos colombianos, Grupo IV que incluyó solamente 15 aislamientos de Colombia. Adicionalmente, se encontró que tres de los controles de Estados Unidos conformaban un grupo independiente. **Conclusiones:** se demostró diversidad genética significativa entre los aislamientos colombianos.

E-16. Prevalencia de especies del género *Malassezia* en aislamientos realizados en personas con y sin lesión dermatológica.

S. Rincón, A. Celis, M.C. Cepero de García.

Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC), Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Resumen: levaduras lipofílicas del género *Malassezia* forman parte de la flora normal de piel y se han relacionado con varias entidades dermatológicas, pero la reciente descripción de siete especies para este género ha planteado muchos interrogantes en su epidemiología y patogenicidad. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de especies de *Malassezia* en aislamientos de personas con y sin lesión dermatológica. Se realizaron 119 aislamientos: personas sin lesión dermatológica (40), pacientes con dermatitis atópica (19), dermatitis seborreica (20), dermatitis seborreica en pacientes HIV positivos (20), y pitiriasis versicolor (20), las muestras fueron sembradas en agar Dixon, posteriormente fueron seleccionados diferentes morfotipos de colonias para identificación hasta especie, empleando pruebas como crecimiento en agentes emulsificantes, hidrólisis de esculina, catalasa y coloración de Gram. Las especies predominantes fueron: Dermatitis atópica *M. furfur* 32 %, *M. sympodialis* 16% y *M. globosa* 5 %; dermatitis seborreica *M. furfur* 30 %, *M. globosa* 15 % y *M. sympodialis* 10%; dermatitis seborreica en pacientes HIV positivos *M. globosa* 30 % y en asociación con otras especies 55%; pitiriasis versicolor *M. globosa* 35 % y en asociación con *M. sympodialis* 10% y *M. furfur* 15% y en personas sanas *M. furfur* 27.5 %, *M. sympodialis* 27.5% y *Malassezia spp.* 0 % y *M. globosa* 5 %. Los resultados muestran una alta prevalencia de *M. furfur*, *M. sympodialis* y *M. globosa* en todos los grupos estudiados, sin embargo es necesario realizar estudios epidemiológicos con una mayor población para determinar el significado clínico de este hallazgo.

E-17. Evolución clínica de los pacientes registrados por el Grupo Colombiano de Estudio de la Criptococosis.

J. Lizarazo¹, A. Restrepo², E. Castañeda³ y el Grupo Colombiano de estudio de la criptococosis.

¹Hospital Erasmo Meoz, Cúcuta, ²Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, ³Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia.

Resumen: desde 1997 se viene realizando una encuesta nacional sobre la criptococosis, la que no incluía datos sobre la evolución clínica de los pacientes. El objeto del presente estudio fue complementar la información faltante. Se solicitaron datos sobre 162 pacientes diagnosticados con neurocriptococosis en 12 centros; se recibieron 113 (69,8%); 93 (82,3%) fueron hombres y 87 (77%) tenían sida. El seguimiento promedio fue de 286,4 días y el de los sobrevivientes 544,2 días. Fallecieron 64 (56,6%) pacientes, 54 (84,4%) con sida. Se registró el tiempo de supervivencia en 52 pacientes (44 con sida) de los cuales 30 murieron (57,7%) durante los primeros 30 días; 14 (26,9%) pacientes (11 con SIDA) murieron durante la primera semana. Veintidós (42,3%) murieron después del mes, la mayoría de ellos con SIDA. La mortalidad en éstos fue mayor (62,1%) que en los sin SIDA (38,5%), p<0,03. Se especificó el tratamiento inicial en 77 (68%) pacientes, 62 (80,8%) recibieron anfotericina B, 49 (63,6%) fluconazol, 3 (3,9%) itraconazol y 1 un triazol diferente. Se realizó terapia de mantenimiento con fluconazol en 34 (44,2%) pacientes, 24 de ellos con SIDA. Se informaron recaídas en 15 pacientes, 11 con SIDA, 5 de los cuales murieron posteriormente. De los 49 supervivientes, 14 (28,6%) desarrollaron secuelas neurológicas, 71% de ellos con pérdida visual (5/9 pacientes con SIDA y 5/5 pacientes sin SIDA). La severidad y alta mortalidad de la criptococosis en los pacientes colombianos que viven con sida, urgen la instauración de medidas conducentes a un diagnóstico precoz y al rápido inicio de la terapia específica. **Nota:** Este trabajo se presentó en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis, marzo 3-8 de 2002, Adelaida, Australia.

E-18. Diagnóstico temprano de la Criptococosis y la Histoplasmosis en pacientes que viven con SIDA. Informe preliminar.

J. Lizarazo¹, Y. Peña¹, O. Chaves¹, R. Omaña¹, S. Huérfano², E. Castañeda².

¹Grupo de estudio y tratamiento del VIH/sida, Hospital Erasmo Meoz, Cúcuta, ²Instituto Nacional de Salud, Bogotá (INS), Colombia.

Resumen: la criptococosis y la histoplasmosis tienen alta prevalencia y mortalidad en los pacientes con VIH, a pesar de disponer de métodos diagnósticos inmunológicos sensibles y específicos. El objetivo de este estudio fue establecer el valor de éstas pruebas en el diagnóstico temprano de ambas micosis en pacientes que viven con SIDA. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado. Se diligenció un cuestionario para tal fin y se tomó una muestra de sangre. De los 103 pacientes, en 67% el diagnóstico de infección con VIH fue realizado en los últimos dos años, 75 (72,8%) eran hombres y el 65% estaba entre los 20 y los 39 años; 12 (11,6%) eran menores de nueve años. El suero de cinco (4,8%) pacientes fue reactivo en la prueba para antígeno capsular de *C. neoformans* con títulos de 1:16 (1 caso) y 1:1024 (4 casos). Se detectaron anticuerpos contra *H. capsulatum* en 3 pacientes (banda M y títulos ³ 1:16). Los cinco pacientes con antigenemia reactiva presentaron una mediana de carga viral de 331.997 copias/ml, superior (p<0,044) a la mediana de la carga viral (64.753) de 60 pacientes no reactivos. La diferencia en la mediana de los niveles de CD4 (53 vs. 191,5) no fue significativa (p<0,069). No se establecieron diferencias entre los pacientes con histoplasmosis. Esta información preliminar sugiere que las pruebas inmunológicas pueden ser de valor en el diagnóstico temprano de estas micosis en pacientes que viven con sida, especialmente, de aquellos con altas cargas virales y bajos recuentos de CD4. **Nota:** Este trabajo se presentó en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis, Marzo 3-8 de 2002, Adelaida, Australia.



E-19. Infección experimental de *Terminalia catappa* con un aislamiento ambiental de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* Serotipo C.

P. Escandón, S. Huérfano, E. Castañeda.
Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia.

Resumen: en 1997, informamos el aislamiento de *C. neoformans* var. *gattii* serotipo C de detritus de almendros; datos preliminares revelaron la supervivencia del hongo en la planta por 120 días. El propósito de este estudio fue establecer si *C. neoformans* podría permanecer viable por un mayor período en esta planta. Se emplearon 83 almendros, inoculados con la cepa ambiental de var. *gattii*, serotipo C, realizando cinco ensayos efectuando uno o tres incisiones en los tallos y dos infectando el suelo. Se procesaron tallos, hojas, raíz y suelos y el hongo se visualizó microscópicamente en la planta. En el ensayo uno, la recuperación fue del 40%, ocho meses pos inoculación y se visualizó microscópicamente en 40% de los tallos. La recuperación en suelos fue del 20%. En el ensayo dos la recuperación fue del 33%, tres meses pos inoculación. En el ensayo tres la recuperación fue del 50%, nueve meses pos inoculación. En los ensayos cuatro y cinco, con tres incisiones, la recuperación fue del 100%, uno y tres meses pos inoculación y fue visualizado microscópicamente en 100% y 50% de los tallos, respectivamente, un mes pos inoculación. La recuperación ha sido del 100% en los ensayos uno y dos, en suelo, 12 y seis meses pos infección, respectivamente. No se observaron alteraciones microscópicas o macroscópicas en la planta. Estos resultados sugieren que *C. neoformans* puede sobrevivir en la planta hasta por 12 meses, demostrando que puede migrar desde el tallo hacia el suelo. Esto sugiere una posible asociación entre el hospedero y *Cryptococcus* sp. en el ambiente. **Nota:** este trabajo se presentó en forma de cartel en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis (marzo 3-8 de 2002) Adelaida, Australia.

E-20. Caracterización fenotípica de aislamientos ambientales de *Cryptococcus neoformans* serotipos A y C.

S. Huérfano, E. Castañeda.
Grupo de Microbiología / Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia.

Resumen: la criptococosis es causada por las dos variedades de *C. neoformans*; var. *neoformans* serotipos A, D y AD y var. *gattii* serotipos B y C. Estas variedades presentan diferencias bioquímicas, serológicas, epidemiológicas y de virulencia. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio fisiológico comparativo entre aislamientos ambientales de las dos variedades, con el fin de establecer posibles diferencias asociadas con la virulencia. Se estudiaron aislamientos serotipos A y C, 29 y 31 respectivamente. Las características evaluadas fueron: crecimiento a 37° C, producción de melanina, tamaño celular y capsular de blastoconidias y virulencia en ratones Balb/c inoculados intravenosamente. Los resultados mostraron que todos los aislamientos serotipos A y C crecieron 37° C, la producción de melanina fue intensa en 93% de los aislamientos serotipo A comparada con 61,3% del serotipo C ($p=0.03$). El tamaño celular fue similar para los aislamientos A y C ($8=5\pm 0.1$ y $8=4.81\pm 0.6$ respectivamente); igualmente el tamaño capsular ($8=0.87\pm 0.46$ y $8=1.03\pm 0.69$). En los ensayos de virulencia se observó que los ratones inoculados con los aislamientos serotipo C, sobrevivieron hasta el día 70; por el contrario los ratones inoculados con serotipo A tuvieron una sobrevida entre 0 y 100%, dependiendo del aislamiento inoculado pero independientemente de la concentración del inóculo. Estos resultados sugieren que existen diferencias fenotípicas en *C. neoformans* posiblemente relacionadas con virulencia, sin embargo otras características como producción de otras enzimas, fructificación haploide y pareja sexual deberían ser evaluadas por su posible implicación en la virulencia del hongo. **Nota:** este trabajo se presentó en forma de cartel en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis (marzo 3-8 de 2002) Adelaida, Australia.

E-21. Determinación de la seroprevalencia de anticuerpos contra *Histoplasma capsulatum* y *Paracoccidioides brasiliensis* en pacientes sintomáticos respiratorios con baciloscopia seriada negativa, mediante el método de inmunodifusión doble.

J.E. Pérez.
Universidad de Caldas, Instituto Nacional de Salud (INS).

Introducción: la histoplasmosis y la Paracoccidioidomycosis son dos enfermedades endémicas de América Latina, en Caldas se han descrito varios casos de ambas enfermedades; las manifestaciones clínicas de estas enfermedades son muy semejantes a la tuberculosis. **Objetivos:** determinar la prevalencia serológica de anticuerpos contra *Histoplasma capsulatum* y *Paracoccidioides brasiliensis*, utilizando el método de inmunodifusión doble; establecer el título de anticuerpos por medio de la inmunodifusión en los sueros positivos con el fin de valorar su utilidad en el diagnóstico y manejo de ambas enfermedades micóticas. **Materiales y métodos:** se obtuvieron 500 muestras de suero entre los años de 1998 y 2001; de personas mayores de 15 años de edad, con baciloscopia seriada negativa y sintomatología respiratoria; también se aplicó una entrevista dirigida en la que se obtuvo datos como: la edad, la procedencia, el motivo principal de consulta y los principales hallazgos clínicos y radiológicos. Las muestras de suero fueron procesadas por inmunodifusión doble; aquellas que fueron positivas se les determinó el título de anticuerpos por este mismo método; todas las muestras positivas fueron confirmadas por fijación del complemento. **Resultados:** se encontró un porcentaje de seropositividad del 0,66% para ambos hongos; los títulos de anticuerpos no fueron mayores de 1:4 para la Histoplasmina y de 1:8 para la paracoccidioidina; la edad de las personas positivas para anticuerpos contra *Histoplasma* estuvo entre los 20 y 49 años, mientras que para *Paracoccidioides* fue entre los 40 y 69 años; hubo predominio del sexo masculino en los pacientes positivos para *Paracoccidioides*, mientras que los positivos para *Histoplasma* fueron en su mayoría del sexo femenino; se observó un predominio de los pacientes provenientes del área rural para ambos hongos. **Discusión:** la distribución por edad, sexo y área de los anticuerpos contra ambos hongos fue similar; es el primer reporte encontrado en la literatura relacionado con personas sintomáticas respiratorias; los niveles de anticuerpos encontrados por inmunodifusión son muy bajos para ser utilizados como confirmatorios del diagnóstico o en el seguimiento del tratamiento; pueden haber otros municipios de Caldas donde la enfermedad está presente según se desprende de la procedencia de los pacientes positivos.

E-22. Sinusitis por *Schizophyllum commune*: informe de nueve casos.

R. Jiménez^{1,2}, C. Rodríguez¹, M. Arango¹, C. De Bedout¹, A. Restrepo¹.

1. Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 2. Investigador Joven de COLCIENCIAS.

Introducción: *Schizophyllum commune*, un basidiomiceto de la familia Schizophyllaceae, es un hongo ampliamente distribuido en el ambiente. En los últimos años ha sido informado como agente patógeno en el humano, especialmente de sinusitis. Las basidiosporas constituyen las propágulas infectantes que son transportadas por el aire, alcanzando fácilmente los senos paranasales. Los síntomas del proceso micótico no se diferencian claramente de los de otras sinusitis, especialmente si se trata de formas crónicas por lo que el diagnóstico clínico no es fácilmente establecido. **Objetivo:** describir y analizar nueve casos diagnosticados en el laboratorio de Micología de la CIB. **Metodología:** a partir de material obtenido quirúrgicamente, se realizaron estudios micológicos y se caracterizaron los elementos micóticos, hifas hialinas, septadas, provistas de conexiones en asa. La presencia de estos últimos elementos en los cultivos fue decisivo para la clasificación. Se llevó a cabo la revisión de las historias clínicas y se entrevistaron todos los pacientes. **Resultados:** 78% fueron mujeres; todos los pacientes tenían antecedentes de rinitis alérgica y de ellos, 60% eran formas crónicas con pólipos. Los TC mostraron masas que ocupaban gran espacio y erosión ósea. En 22% se encontró historia de obstrucción por desviación del tabique nasal; la rinorrea, la tos y la cacosmia fueron síntomas importantes. Todos los pacientes fueron tratados quirúrgicamente por endoscopia, curando 78% de ellos y siendo re-intervenidos los restantes. Igualmente, 3 pacientes recibieron itraconazol después de la cirugía. **Conclusiones:** el diagnóstico etiológico podría contribuir a evitar tratamientos no específicos y a limitar el uso de esteroides, evitando así el progreso de la afección micótica.

E-23. ¿Es *Paracoccidioides brasiliensis* monofilético?

B. Montes, A. Restrepo, J. Taylor, J. McEwen.
Unidad de Biología Molecular, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia (CODI), Departamento de Plantas y Microbiología, Universidad de California.

Introducción: *P. brasiliensis* es el agente de la paracoccidioidomicosis, micosis de alta prevalencia en América Latina. Morfológicamente se ha identificado la especie *brasiliensis* como única. Sin embargo, algunos estudios han demostrado variaciones genéticas que han permitido agrupar los aislamientos de acuerdo a su origen geográfico, pero se desconoce si estas variaciones son el producto de un proceso de especiación alopatrica. Adicionalmente diferencias genotípicas (RAPD) se han correlacionado con la habilidad para causar enfermedad experimental de diferente severidad. Estos hallazgos sugieren que *P. brasiliensis* podría estar distribuido en grupos monofiléticos. Por lo tanto el objetivo de nuestro estudio es determinar si *P. brasiliensis* es un grupo monofilético. **Metodología:** 1. Extracción de ADN: usando células levaduriformes del hongo. 2. Hallazgo de loci polimórfico: secuenciando (ABI/Perking-Elmer 377) los fragmentos amplificados. 3. Análisis filogenético: alineamiento y comparación de secuencias utilizando el software (Sequence Navigator V.1.01; Applied biosystems). El análisis se realizó con parsimonia (PAUP versión 4.0.0d62). La matriz fue construida con caracteres de igual peso. La búsqueda del árbol más parsimonioso se realizó por heurística. **Resultados preliminares:** el análisis filogenético se realizó con datos obtenidos del exon2GP43 ya que en los fragmentos amplificados de quitina sintetasa, ITS, glucano sintetasa, GP43 promotor y P27 el polimorfismo fue insuficiente para el análisis filogenético. El árbol obtenido del análisis demuestra la existencia de clados que agrupan los aislamientos por regiones geográficas con un bootstrap alto. Estos datos son promisorios pero la robustez de las hipótesis filogenéticas se consigue con la congruencia de filogenias obtenidas de varios genes. Es necesario estudiar otros genes para obtener nuevas hipótesis.

E-24. Estudio clínico y epidemiológico de la criptococosis en Colombia.

J. Lizarazo¹, A. Restrepo², E. Castañeda³ y el Grupo Colombiano de estudio de la criptococosis.
¹Hospital Erasmo Meoz, Cúcuta, ²Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, ³Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia.

Resumen: desde 1997 se viene realizando un estudio nacional de los pacientes con criptococosis. La información sobre los pacientes se obtuvo utilizando un cuestionario. Adicionalmente, se determinó la variedad y el serotipo de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans*. Hasta noviembre de 2001 se habían reunido 404 cuestionarios de 64 centros en 15 departamentos y el distrito capital. El 83,2% fueron hombres; el 58,7% estaban entre los 20 y los 39 años de edad y el 94,9% fueron casos nuevos. La infección por el VIH fue el factor de riesgo predominante (74,8%). La incidencia anual promedio de criptococosis fue de 2,3 por 10⁶ habitantes, pero en los pacientes que vivían con sida esta cifra fue de 4,7 por 10⁴ habitantes. En el 22,8% la criptococosis definió el sida. Se identificaron otros factores de riesgo en 8,4% de los casos. Los síntomas más frecuentes fueron cefalea (82,2%), fiebre (56,5%) y vómito (53,8%). Se informaron también disminución de la capacidad mental, signos meníngeos, tos y alteraciones de la visión en el 36,6%, 31,4%, 22,1% y 20,8% de los casos. El tratamiento se inició con anfotericina B en 79,5%. El examen directo del LCR fue positivo en el 94,2%, recuperando *C. neoformans* en 92,5% de las muestras; la antigenemia fue determinada en 45,5% con una reactividad de 96,7%. De un total de 333 aislamientos, 92,5% fueron variedad *neoformans*, serotipo A; 7,2% variedad *gattii*, serotipo B y 0,3% variedad *gattii*, serotipo C. Esta información proporciona un acercamiento más sólido al problema de la criptococosis en Colombia. **Nota:** este trabajo se presentó en la 5ta Conferencia de *Cryptococcus* y criptococosis, marzo 3-8 de 2002, Adelaida, Australia.

F - Virología

F-1. Comparación del comportamiento clínico del dengue en el menor de un año, según presencia de anticuerpos IgG contra el dengue en madre e hijo. Antioquia, Colombia. Informe preliminar.

B.N. Restrepo¹, D.M. Isaza¹, C.L. Salazar¹, G.E. Upeguí², J.L. Ramírez³, M. Ospina⁴, R. Ramírez¹.

¹Instituto Colombiano de Medicina Tropical, ²Metrosalud, ³Universidad de Antioquia, ⁴Dirección Seccional de Salud de Antioquia, Medellín.

Introducción: la infección por dengue en el menor de un año tiene características inmunológicas que la hacen más severa. Una de ellas es la transferencia pasiva de anticuerpos IgG de la madre al feto en el embarazo, los cuales al caer a niveles subneutralizantes en la vida extrauterina amplifican una segunda infección por otro serotipo. **Objetivo:** comparar el comportamiento clínico del dengue en el menor de un año cuando hay presencia simultánea de anticuerpos IgG contra el dengue en madre e hijo, frente a los que no la tienen. **Tipo de estudio:** descriptivo, prospectivo. **Materiales y métodos:** a todo menor de un año con diagnóstico de dengue confirmado por UMELESA® Dengue IgM o aislamiento viral o RT-PCR, se le determinaron anticuerpos IgG contra dengue por UMELESA® tanto al paciente como a la madre y se recolectó información clínica. **Resultados:** han sido evaluados 15 menores de un año. Cinco con dengue clásico. Siete con dengue clásico más manifestaciones hemorrágicas y tres con dengue hemorrágico. El 100% presentó fiebre; erupción el 60%; petequias el 53.3%; púrpura el 20%; hematemesis y melenas un paciente. Requirieron hospitalización 10 y un niño falleció. Fueron IgG positivos para dengue nueve niños y ocho madres. Concordaron ocho parejas (madre e hijo) en ser IgG positivos y 2 en ser IgG negativas. Al comparar dichas parejas se encontró una mayor proporción de dengue hemorrágico y de dengue con manifestaciones hemorrágicas en las parejas concordantes positivas 75% (p=0.33). Se requiere una mayor muestra para dar resultados concluyentes.

F-2. Respuesta de anticuerpos Inmunoglobulinas M (IgM) anti-dengue en casos con síndrome febril y su utilidad en la vigilancia serológica del dengue.

R. Fábregas, F. Cortés, R. Ocazonez, A. Álvarez.
Laboratorio de Virología CINROP-UIS.

Introducción: la detección de anticuerpos IgM es el método más usado para establecer el diagnóstico de casos de dengue. El resultado positivo en suero no-pareado se utiliza para determinar la prevalencia e incidencia de la enfermedad y por ende definir las medidas de control. Esto tiene implicaciones al estimar la magnitud del problema por no incluir los casos en los que la IgM no se detecta antes del 6º día de síntomas. **Objetivo:** evaluar la respuesta de anticuerpos IgM anti-dengue en pacientes con síndrome febril trombocitopénico y su aplicación en la vigilancia serológica del dengue. **Metodología:** la detección de IgM se realizó en suero no-pareado de 742 casos febriles con trombocitopenia <100.000/mm³, colectados en diferentes días después del inicio de síntomas, usando el Kit UMELESA (Instituto Pedro Kourí, La Habana, Cuba). Un resultado fue considerado positivo cuando el valor de la D.O. fue igual o mayor a 0.300. Adicionalmente, a 291 sueros se les intentó aislamiento viral en cultivos celulares de *Aedes albopictus* (clon C6/36-HT). **Resultados:** la IgM se detectó en 73% y 81% de casos antes y después del 6º día de síntomas, respectivamente, observándose aumento de positividad en relación con el transcurso de la enfermedad. Considerando el día de colecta del suero el diagnóstico se estableció como probable, inconcluso y no-probable en 76% (564), 17.4% (129) y 6.6% (49), respectivamente. El virus se aisló de 17 (3%) casos con IgM positiva y 18 (14%) con IgM negativa, uno de los cuales fue un caso fatal. Considerando el resultado de la IgM y del aislamiento viral, se detectaron 547 (73.7%), 111 (14.9%), 35 (4.7%) y 49 (6.6%) casos probables, inconclusos, confirmados y no-probables de dengue. Este resultado contrasta con 564 (76%) y 178 (24%) probables y no-probables reportado por la Secretaría de Salud, mostrando que el número de casos no-probables es 3.6 veces menor. **Conclusiones:** la cantidad de casos falsos negativos puede incrementarse en 3.6 veces al no incluir el criterio de fecha de toma de muestra para interpretación de la prueba serológica. La IgM puede detectarse hasta en 73% de casos sospechosos de dengue durante la fase aguda, pero la probabilidad es mayor en fase convaleciente. **Nota:** Este trabajo fue financiado por COLCIENCIAS y la Secretaría de Salud Departamental de Santander.