

M6 Determinación de la actividad bactericida de ocho productos genéricos (PG) de Ampicilina (AMP) comparados con el compuesto original (CO) en el modelo murino neutropénico de infección del muslo (MMNIM).

Zuluaga AF, Salazar B, Rodríguez CA, Agudelo M, Vesga O. *GRIFE: Grupo Investigador de Problemas en Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.*

Introducción: la OMS y agencias reguladoras del mundo aceptan la equivalencia farmacéutica (EF) como prueba de equivalencia terapéutica (ET) para PG parenterales, presunción nunca demostrada. Comparamos la magnitud de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los PG de AMP con el CO mediante determinación de su eficacia bactericida in vitro e in vivo. **Materiales y métodos:** para probar la EF se compararon curvas estándar tras ensayo microbiológico (EM) con *Difco Antibiotic Medium 11 + M. luteus* ATCC 9341 y se determinó la susceptibilidad por microdilución en caldo. Para probar la ET el MMNIM empleó ratones hembra MPF inoculadas con *E. coli* SIG-1. AMP q1h via SC se inició 2h post-infección, cinco ó más dosis totales, 2.34-600 mg/kg/24h. Los parámetros farmacodinámicos efecto máximo (E_{max}), dosis bacteriostática in vivo (BD), y dosis bactericida de 1 (1LKD) ó 2 (2LKD) \log_{10} CFU/g sirvieron para comparar in vivo la eficacia de cada genérico con la del original. **Resultados:** se realizó EM para siete de ocho PG de CRO, y tres fallaron EF por análisis de ajuste de curvas (CFA) al contener 252-519% mayor concentración de AMP ($P < 0.0087$), pero todos fueron inferiores in vivo, al igual que otros tres que fueron EF del CO: 1LKD=95-295 vs 72; 2LKD=188 a >600 vs 117 mg/kg/24h; $P < 0.004$ por CFA. La carga bacteriana en los muslos de los ratones era 7.02-7.49 \log_{10} CFU/g al momento de iniciar el tratamiento con AMP. Los 2 PG restantes también mostraron menor eficacia bactericida in vivo frente al CO, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. **Conclusión:** la EF no predice la ET de todos los PG de AMP, pues su eficacia bactericida in vivo es inferior a la del CO independientemente de si contienen igual o mayor concentración de principio activo. La magnitud de la ineficacia de los PG equivaldría a tener que emplear dosis 32 a 700% mayores para matar 1-2 logaritmos de bacterias. Dicho concepto no tiene aplicación clínica, pues elevando la dosis de los PG de AMP no incrementa su eficacia antibacteriana in vivo.

N. Micología

N1 Purificación y caracterización parcial de una proteína de *Paracoccidioides brasiliensis* con capacidad de unión a Proteínas de Matriz Extracelular.

González, MA, Hernández, O, Restrepo Moreno, A, Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB. Gómez G, BL, Díez Posada, S, Hamilton, AJ, Dermatology Department, Guy's and St. Thomas Hospital, King's College, London University. Cano, LE, Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia y Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

Objetivo: determinar la presencia de moléculas con capacidad de unión a proteínas de matriz extracelular (PMEC) en el hongo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb), y posteriormente lograr su purificación y caracterización. **Materiales y métodos:** se analizaron diferentes extractos de micelio y levaduras de Pb (homogenizados totales, tratados con b-mercaptoetanol y SDS) por ensayos de afinidad de ligando para fibronectina, fibrinógeno y laminina. La proteína de unión a PMEC fue purificada utilizando electroforesis en gel preparativo. Adicionalmente, se realizó secuencia de aminoácidos de la región N-terminal y se produjo un anticuerpo monoclonal (AcM) el cual se utilizó en técnicas de western blot (WB), inmunofluorescencia (IF) e inmunomicroscopía electrónica (IME). Por otro lado, se realizaron ensayos de inhibición de la adherencia de conidias del hongo a PMEC inmovilizadas usando el AcM y la proteína purificada. **Resultados y discusión:** dos polipéptidos presentes en los extractos con SDS y con masas moleculares de 19 y 32-KDa, reaccionaron con las tres PMEC. Análisis de la región N-terminal de la proteína de 32-KDa, revelaron una homología sustancial con proteínas de *Histoplasma capsulatum* y *Neurospora crassa*. Adicionalmente, esta proteína fue reconocida por el AcM en los extractos con SDS vía WB. La IF mostró que este AcM reaccionó con las diferentes formas del hongo. Igualmente, la IME mostró la localización de esta proteína entre la membrana citoplasmática y la capa interna de la pared. En ensayos de inhibición, el AcM inhibió la adherencia de las conidias a las tres PMEC, mientras la proteína purificada solo inhibió la adherencia de las propágulas a laminina y fibronectina. **Conclusiones:** estos resultados demuestran la presencia de dos polipéptidos en la superficie del *P. brasiliensis* que interactúan con PMEC, lo que indica su posible papel como receptores comunes para las tres PMEC. Además, estas proteínas podrían ser claves en el proceso inicial de adherencia a las PMEC y células del hospedero, así como también en la diseminación de la paracoccidioidomicosis.



N2 Diversidad genética de aislamientos clínicos y ambientales de *Cryptococcus neoformans* en Colombia.

Escandón, P, Instituto Nacional de Salud; Meyer, W, Molecular Mycology Laboratory, CIDM, ICPMR, University of Sydney at Westmead Hospital, Westmead, NSW, Australia; Castañeda, E, Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: estudiar la diversidad genética y la epidemiología de los aislamientos clínicos y ambientales de *C. neoformans* recuperados en Norte de Santander, Cundinamarca y Bogotá. **Materiales y métodos:** se empleó como técnica de tipificación molecular la huella digital por PCR con los iniciadores M13 y (GTG)5. Con el iniciador M13 se estudiaron 89 aislamientos clínicos y 176 aislamientos ambientales. De los aislamientos clínicos, 89,9% pertenecía al serotipo A y 10,1% al serotipo B, mientras que en los aislamientos ambientales, 47,7% correspondía al serotipo B, 6,9% al serotipo C y 45,4% al serotipo A. Con el iniciador (GTG)5 se estudiaron 63 aislamientos clínicos de los cuales 95,2% correspondía al serotipo A y 4,8% al serotipo B y 78 aislamientos ambientales de los cuales 29,5% correspondía al serotipo A y 70,5% a los serotipos B y C. **Resultados y discusión:** la huella digital con el iniciador M13 agrupó los aislamientos clínicos en los tipos moleculares VNI (87,6%), VNII (3,4%), VGI (1,1%) y VGII (7,9%). Los aislamientos ambientales se agruparon en los patrones VNI (41%), VNII (0,5%), VGI (1,1%), VGII (56,2%) y VGIV (1,2%). El iniciador (GTG)5 agrupó los aislamientos clínicos en los patrones: VNI (92,1%), VNII (3,1%), VGI (1,6%) y VGII (3,2%). Con este iniciador, los aislamientos ambientales fueron agrupados en los patrones VNI (30%), VGII (60%) y VGIV (10%). Se puede observar que los patrones VNI y VGII predominan tanto en aislamientos clínicos como ambientales, sugiriendo que el paciente puede adquirir la infección de la fuente ambiental. **Conclusiones:** los resultados concuerdan con los estudios realizados previamente en los cuales la mayoría de los aislamientos serotipo A corresponde al tipo molecular VNI y se asocia con el hecho de que el serotipo A causa el mayor número de infecciones a nivel mundial. Nuestros resultados aportan nueva e importante información a los datos que hasta el momento se tiene en cuanto a la epidemiología, distribución y ecología de *C. neoformans* en Colombia. Código Colciencias: 2104-04-11802.

N3 Caracterización de los agentes causales de micosis superficiales en caninos en Manizales.

Aricapa, HJ, Serna, RD, Dussan, C, Sánchez, CA, Universidad de Caldas.

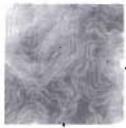
Objetivo: el conocimiento de la epidemiología de las micosis superficiales en Manizales, la identificación de sus agentes etiológicos, su prevalencia y relación con el hábitat, edad y sexo de los perros que acuden a la consulta en dicha ciudad son el objetivo fundamental de este trabajo de investigación. **Materiales y métodos:** investigación de tipo descriptivo, se determinó la prevalencia de micosis superficiales en caninos y su relación con edad, sexo y hábitat, con un tamaño de muestra de 150 perros. Durante tres meses en 17 consultorios de Manizales a los caninos que acudieron a consulta, se les realizó un examen clínico completo y aquellos perros que presentaron lesiones dermatológicas se les realizó raspado de piel e improntas con cinta de acetato en láminas portaobjetos en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Caldas se procedió al análisis respectivo (Visualización directa con KOH al 10%, cultivos en agar Sabouraud y Micocell). **Resultados y discusión:** 62 caninos (41,3%) con problemas dérmicos. en 14 (9,3%), se aislaron hongos, 7 Mohos, 5 Dermatofitos y 2 Levaduras, principal hongo aislado: *Cladosporium* spp. Chi2 para razas, mostró relación entre Labrador y

enfermedad dérmica; relacionando hongos y hábitat 7 (50 %) en piso de cemento, 4 (28,6%) ambientes mixtos. 4 positivos en hábitat cemento, tenían *Cladosporium* spp. Guzmán y Otalvaro, 1986 hallaron 8,0% de micosis en caninos en Manizales, problemas dérmicos han aumentado. Cabanes, 1997 cultivos positivos en perros con o sin hongos, no superan 10%; en cinco caninos se aisló Dermatofitos, acorde con rango de 4-50% reportado por Foil, 1998, teniendo Manizales alta prevalencia de dermatofitosis canina. **Conclusiones:** la prevalencia de micosis superficiales en caninos que acuden a consulta en la ciudad de Manizales, es alta, destacándose como principales agentes aislados hongos dermatofitos y hongos del género *Cladosporium* spp.

N4 Susceptibilidad al fluconazol de aislamientos clínicos de *Cryptococcus neoformans*.

De Bedout Gómez, C, Restrepo Moreno, A, Corporación para Investigaciones Biológicas. Arango Arteaga, M, Corporación para Investigaciones Biológicas y Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Objetivo: el objetivo de este trabajo fue conocer la susceptibilidad al fluconazol de diferentes aislamientos clínicos de *Cryptococcus neoformans*. **Materiales y métodos:** en este trabajo se estudió la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el fluconazol de 84 aislamientos clínicos de *C. neoformans*, por el método M44P de difusión en disco y lectura computarizada, propuesto por la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). De estos aislamientos, 72 correspondían a un número igual de pacientes al momento del diagnóstico (primarios) mientras que 12 habían sido obtenidos de algunos de los casos anteriores durante el seguimiento de su terapia antifúngica. **Resultados y discusión:** la gran mayoría de los pacientes, 47 (65,3%), estaban infectados por el VIH, 9 (12,5%) tenían otros factores de riesgo, mientras que 16 (22,2%) carecían de datos. De los aislamientos al diagnóstico, 58,3% fueron sensibles, 26,4% sensibles dosis dependientes (SDD) y 15,3% resistentes. Al analizar la sensibilidad de los aislamientos recuperados durante el seguimiento de los pacientes, se observó que de seis *C. neoformans* que habían sido sensibles al inicio, dos se habían vuelto SDD. En dos pacientes cuyos aislamientos iniciales habían sido SDD, los nuevos cultivos obtenidos durante la terapia experimentaron un cambio a resistencia. **Conclusiones:** estos resultados corresponden a una población seleccionada por pobre respuesta a la terapia, los datos ponen en alerta sobre la presión que se está ejerciendo sobre *C. neoformans* y la presencia de aislamientos SDD y resistentes, sugiriendo la importancia de las pruebas de susceptibilidad para conocer las características de los aislamientos que están circulando de manera de predecir la respuesta a la terapia.



N5 Aislamiento y caracterización de las variedades de *Cryptococcus neoformans* aisladas de fuentes ambientales en Bogotá, Colombia, y estudio de condiciones ecológicas en el área.

Granados, DP, Castañeda, E, Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: obtener y caracterizar fenotípicamente aislamientos ambientales de *C. neoformans* a partir de material vegetal de árboles usados como percha por aves, de árboles con madera en descomposición y de excrementos de palomas, en diferentes zonas urbanas de Bogotá, Colombia. Estudiar algunas condiciones ecológicas que podrían estar relacionadas con su hábitat.

Materiales y métodos: durante cinco meses se recolectaron 480 muestras de corteza, suelo y detritos en oquedades de 32 árboles ubicados en tres parques, y 89 muestras de excrementos aviares en 12 lugares en Bogotá. Se registró el estado fenológico de los árboles, la humedad y la temperatura del ambiente y del sustrato, y se tuvieron en cuenta los registros ambientales del IDEAM. En las muestras de excrementos, se registró el grado de humedad. Se evaluó el pH y el contenido de agua de las muestras. Las muestras se procesaron por el método tradicional y los aislamientos se confirmaron y serotipificaron. **Resultados y discusión:** se aisló *C. neoformans* del 6,7% de las muestras tomadas de nueve especies de árboles; el 99% fue serotipo B y el 1% serotipo A. *C. neoformans* se aisló con mayor frecuencia de la corteza que del suelo o detritos; de árboles con madera en descomposición que de árboles percha, y en época lluviosa que en seca. La temperatura y la humedad del microhábitat se relacionaron con la presencia del hongo, no así el estado fenológico del árbol. *C. neoformans* serotipo A se recuperó en 7,9% de las muestras de excrementos y se aisló con mayor frecuencia de heces secas que de húmedas. La densidad de la población fue mayor en muestras de excrementos que en vegetales. El pH y el contenido de agua fue similar en las muestras positivas y negativas. **Conclusiones:** se logró el aislamiento de *C. neoformans* serotipos A y B de árboles y excrementos de aves en Bogotá. Se encontró una asociación del hongo con ocho nuevas especies de árboles y su preferencia por la corteza y la madera. La presencia del hongo en el ambiente estuvo relacionada con las condiciones abióticas del ambiente y del microhábitat, como la temperatura y la humedad.

N6 Evaluación de la variabilidad genética de aislamientos ambientales de *Cryptococcus neoformans* mediante la técnica de la huella digital del ADN.

Sánchez, A, Escandón, P, Castañeda, E, Grupo de Microbiología Instituto Nacional de Salud.

Objetivo: determinar la variabilidad genética de aislamientos ambientales de *Cryptococcus neoformans* recuperados en Bogotá, D. C., estableciendo los patrones moleculares que presentan.

Materiales y métodos: se estudiaron 37 aislamientos previamente recuperados por el Grupo de Microbiología, los cuales fueron confirmados por métodos bioquímicos y serotipificados por aglutinación en lámina; 15 aislamientos correspondían a *C. neoformans* var. *grubii* serotipo A recuperados de excrementos de palomas y 22 aislamientos a la var. *gattii* serotipo B recuperado de detritos de árboles, cortezas y oquedades. Se determinó la huella digital del ADN mediante PCR con el iniciador microsatélite (GACA)₄. Los resultados se analizaron con el programa fingerprinting. **Resultados y discusión:** el patrón molecular VN I predominó en los aislamientos de la var. *grubii* en 14 de 15 (93,3%), mientras que el VN II se presentó únicamente en 1 de 15 (6,6%) aislamiento. Para la var. *gattii* 21 de 22 (95,5%) aislamientos correspondieron al patrón molecular VG II y 1 de 22 (4,5%) al VG I. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores que estudiaron aislamientos latinoamericanos. **Conclusiones:** la caracterización molecular de los aislamientos ambientales de *C. neoformans* permitió establecer la circulación en Bogotá de los patrones moleculares VN I y VG II. Proyecto COLCIENCIAS código 2104-04-11802.

N7 Sensibilidad al fluconazol por el método de difusión de disco en aislamientos clínicos de hongos obtenidos en pacientes con cáncer.

Rivas P, Cuervo S, Cortés, J, Instituto Nacional de Cancerología - Universidad Nacional de Colombia. Arroyo, P, Paredes, C, Instituto Nacional de Cancerología.

Objetivo: determinar la sensibilidad al fluconazol de los aislamientos clínicos de hongos levaduriformes de pacientes del Instituto Nacional de Cancerología.

Materiales y métodos: se estudiaron todas las muestras clínicas de pacientes con aislamiento micótico durante el período entre mayo 15 de 2002 y diciembre 31 de 2003. La sensibilidad al fluconazol se hizo mediante el método de difusión de disco según el documento M2-A6 de la NCCLS; y se utilizó el sistema automatizado BIOMIC®.

Resultados y discusión: el 90,3 % de los aislamientos levaduriformes fueron por especies de *Candida*, donde *C. albicans* (62,6%) fue la más frecuente. Con relación al perfil de sensibilidad, 464 aislamientos levaduriformes (80%) fueron sensibles al fluconazol, 21 (4%) fueron sensibles dosis dependientes y 96 (16%) fueron resistentes. La mayor frecuencia de resistencia se observó en las muestras provenientes del tracto respiratorio y el gastrointestinal. **Conclusiones:** hay una creciente resistencia al fluconazol en especies de *Candida* aisladas de muestras clínicas en pacientes con Cáncer.