



Instituto Nacional de Higiene
"Rafael Rangel"



Resúmenes de Pósters Científicos Presentados en las XL Jornadas Científicas "Dra. Rosa Alba Salas Mora", 2017 del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"

Summaries of Scientific Posters Exhibited in the XL Scientific Meeting "Dra. Rosa Alba Salas Mora" Held in the National Institute of Hygiene "Rafael Rangel" in 2017.

- **Aislamiento del Virus Varicela Zoster (VVZ) mediante la Técnica de Shell Vial en muestras de pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"**

Escalante A¹, Useche S¹, Ruíz Y³, Hernández R³, Carrero D³, Guevara R², Porras N², D'Angelo P^{2, 3}, Gutiérrez C¹

Escuela de Bioanálisis-Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela ¹
Laboratorio de Inmunoserología Viral-Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel ² Laboratorio de Aislamiento Viral-Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel ³

INTRODUCCIÓN: Para el diagnóstico se ha utilizado de forma más frecuente una variación del cultivo celular conocido como Shell Vial, ha permitido obviar alguno de los inconvenientes del cultivo convencional y representa un avance innegable en el diagnóstico virológico. Esta técnica consiste en inocular la muestra en líneas celulares susceptibles y posteriormente la monocapa es sometida a un proceso de centrifugación aumentando la sensibilidad del método, permite resultados más rápidos, es decir, que haya un mayor

contacto en las células y el virus, produciendo que el efecto citopático comience a observarse a las 24-48 horas aproximadamente. (1)

La técnica de Shell Vial ha demostrado una sensibilidad superior incluso al cultivo convencional, permitiendo ampliar el diagnóstico virológico en un 15- 20% de las muestras y la especificidad es del casi 100%. La sensibilidad del Shell vial varía con el tipo de muestra, longitud y temperatura de centrifugación. (2).

Las células VERO son derivadas de riñón mono verde africano, ésta es una línea celular con el recuento de cromosomas hipodiploides, las células presentan forma poligonales y elongadas, y de mamífero más comúnmente utilizadas en estudios virológicos (2, 3).

OBJETIVO: Aislar e identificar el VVZ en muestras de hisopado y/o líquido vesicular provenientes de pacientes con diagnóstico presuntivo de Varicela y/o Herpes Zoster.

METODOLOGÍA: Se emplearon seis muestras de líquido y/o raspado vesicular de pacientes con sospecha clínica de varicela y/o Herpes Zóster.



PROCEDIMIENTO: Método de cultivo por centrifugación o Shell vial.



Se agrega 1 mL de la suspensión celular en los pozos de la placa y se incuba a 37°C



Centrifugar a 2000 rpm por 35 min a 15°C

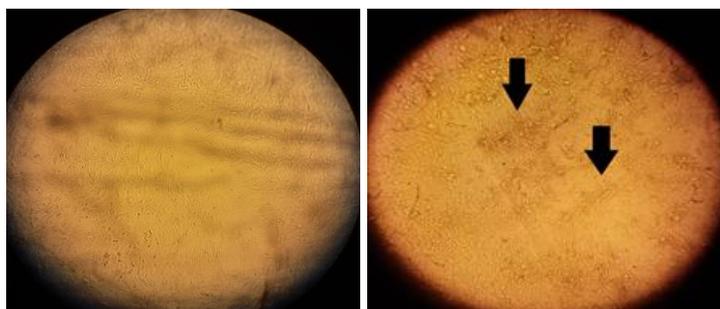


Se agrega 1 mL de medio de crecimiento y se incuba a 37°C. Se realiza seguimiento y se inocula 0.1 mL de muestra



RESULTADOS

Se evidenció el efecto citopático en el total de las muestras procesadas, en periodos de tiempos comprendidos entre 9 a 14 días. La confirmación del aislado viral permitió corroborar la presencia del VVZ y descartando la presencia de otros Herpesvirus.



Efecto citopático del VVZ en la línea celular Vero ATCC en Shell Vial. (A) Monocapa de células Vero ATCC no infectadas; (B) Formación de placas y agrupamiento celular (flechas).

CONCLUSIÓN

- Se obtuvo por primera vez el aislamiento del VVZ en la línea celular Vero ATCC, siendo ésta no solo susceptible y permisiva para el Virus Herpes Simplex sino que además puede ser utilizada a fines de obtener aislamiento de VVZ

- La obtención de la semilla viral (VVZ) en el INHRR, permitirá la realización de estandarizaciones de futuros protocolos de investigación.
- La técnica de Shell Vial es de gran utilidad para el diagnóstico virológico.
- Se logró el aislamiento viral del VVZ en la línea celular Vero ATCC mediante la técnica de Shell vial.

REFERENCIAS

1. Pérez J. et al. Comparison of Techniques and Evaluation of Three Commercial Monoclonal Antibodies for Laboratory Diagnosis of Varicella-Zoster Virus in Mucocutaneous Specimens. [Revista en Internet]. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 32, No. 6, June 1994, p. 1610-1613.
2. Landry M. et al. Chapter 3: Primary Isolation of Viruses. American Society for Microbiology. 2009. URL Disponible:
<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555815974.ch03>
3. Ammerman N. et al. Growth and Maintenance of Vero Cell Lines. [Revista en Internet]. National Institute of Health. 2008 Noviembre.

- **Carga viral del virus de la Hepatitis "C" mediante PCR en tiempo real, en pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Caracas - Venezuela**

Sánchez Partidas DA, Gudiño Sánchez EA, Ameli Marcozzi GI, Ariza Jaspe HE, Martínez Ron JR

Laboratorio de Programas Especiales (Hepatitis y SIDA). Departamento de Virología. Gerencia Sectorial de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica. INHRR

INTRODUCCIÓN: El Virus de la Hepatitis C (VHC), es un virus de ARN, perteneciente a la familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*. La vía de transmisión principal es parenteral. La evolución de la enfermedad es el desarrollo de cirrosis y el riesgo de hepatocarcinoma. Aproximadamente 185 millones de personas (2,8 % de la población mundial) presentan anticuerpos anti-VHC y el 80-90 % desarrollan cronicidad¹. Desde su descubrimiento en 1989, el VHC ha demostrado ser la mayor causa de hepatitis crónica en el mundo. La cuantificación de los niveles de ARN en plasma se ha convertido en una herramienta importante en el manejo de pacientes con Hepatitis C crónica, ya que su valor se utiliza como un factor predictivo de respuesta antiviral y como herramienta de evaluación de la cinética de replicación viral intratratamiento². El presente trabajo constituye el primer estudio molecular de cuantificación de carga viral en tiempo real del VHC en pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", con resultados previos al ensayo de anticuerpos y a la prueba de detección de ARN viral.

OBJETIVO: Determinar la carga viral del VHC mediante PCR en Tiempo Real en muestras de pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) y correlacionar los valores obtenidos con los resultados de PCR en punto final, la historia clínica del paciente y del agente viral.

METODOLOGÍA: Población: Se evaluaron 42 muestras de pacientes de ambos sexos, los cuales fueron remitidos al INHRR durante los meses enero-diciembre del periodo 2005 al 2016 para el despistaje de Hepatitis C (IgG) y la detección del ARN viral. Se emplearon 31 muestras con resultado de PCR VHC positivo y 11 con resultado de PCR VHC negativo. Evaluación Serológica: Los anticuerpos anti-VHC IgG, se determinaron cualitativamente mediante ensayos Inmunoenzimáticos tipo ELISA. Evaluación Molecular: A.- PCR Punto Final: Se realizó la extracción del ARN del VHC, empleando columnas de sílica gel, según especificaciones del estuche comercial QIAmp Viral ARN (QIAGEN, Alemania). Posteriormente, la detección del ARN Viral se realizó mediante el empleo de un ensayo de PCR anidada de Punto Final, en el cual se utilizaron iniciadores altamente conservados de la Región 5' No Codificante. B.- Genotipificación: Se genotipificaron 19 muestras mediante el ensayo de sonda lineal (LiPA), según especificaciones del estuche comercial VERSANT HCV Genotype 2.0 (SIEMENS, USA). C.- PCR en Tiempo Real: Se realizó la extracción viral empleando un método de extracción manual con perlas magnéticas, según especificaciones del estuche diagnóstico SUMASIGNAL VHC. La cuantificación se determinó mediante PCR en tiempo real, con cebadores que rodean una secuencia conservada en el genoma (Región 5' No Codificante) y una sonda fluorescente específica que permite la detección cuantitativa. El rango dinámico de detección es de 25-100.000.000 UI/ml.

RESULTADOS

1.- CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y GENOTIPOS

Tabla 1. Distribución de los pacientes con Hepatitis C según las características demográficas y de la infección

VARIABLE	Nº	%
SEXO		
Femenino	25	60
Masculino	17	40
EDAD		
< 15	7	17
15 - 44	10	24
45 - 64	19	45
> 65	6	14
PROCEDENCIA		
Distrito Capital	18	43
Miranda	12	29
Bolívar	2	5
Vargas	2	5
Guárico	1	2
Trujillo	1	2
Desconocido	6	14
VÍAS DE TRANSMISIÓN		
Transfusión	16	38
Sexual	12	28
Diálisis	10	24
Uso Drogas Endovenosas	2	5
Vertical	2	5
GENOTIPOS		
1a	7	37
1b	8	42
1a/1b	1	5
2a/2c	2	11
3a	1	5
MONOINFECCIÓN	30	72
COINFECCIÓN		
VHB	3	7

- La mayoría de los pacientes estudiados fueron del sexo femenino.
- La frecuencia más alta en el rango de 45-64 años, provenientes del Distrito Capital.
- Las transfusiones son la vía de transmisión con mayor incidencia en la población evaluada.
- El análisis genómico muestra que es más frecuente la **monoinfección** por el **Genotipo 1** (84%) del VHC en la población estudiada (16/42).
- La **confección** con VHB y VIH fue observada en el 28% de la población, con mayor frecuencia en pacientes masculinos.

2.- CARGA Y GENOTIPO VIRAL

Tabla 2.- Resultado Promedio de Carga Viral en base al Genotipo del VHC

	GENOTIPOS		
	1	2	3
CARGA VIRAL	1.470.153	878.250	340.000
UI/ml (Log₁₀)	(6.16 Log₁₀)	(5.94 Log₁₀)	(5.53 Log₁₀)

- El valor de la mediana de carga viral del VHC fue de 493.400UI/ml, con un promedio de Log₁₀ de 5.4, y un rango entre 151 UI/ml (2.17Log₁₀) – 11.060.000UI/ml (7.04 Log₁₀). El 43% de los pacientes presentaron resultados de carga viral baja (<800.000 UI/ml), 21%
- Al comparar la mediana de la carga viral de los pacientes monoinfectados por VHC, con los pacientes coinfectados VHC/VHB no se observaron diferencias importantes 440.850UI/ml / 340.500UI/ml respectivamente. Sin embargo, en la confección VHC/VIH se observó una mayor diferencia en los valores de carga viral 440.850 UI/ml / 2.569.633 UI/ml respectivamente.
- Se encontraron mayores valores de carga viral en pacientes con el Genotipo 1a en comparación con los otros genotipos virales.

3. - SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL ENSAYO:

El Estuche Diagnóstico SUMASIGNAL VHC presentó una sensibilidad y especificidad del 87.8% y 87.5% respectivamente, con un índice de kappa de 0.65. Los resultados de los parámetros de probabilidad Valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) obtenidos fueron 92.6% y 70.3% respectivamente.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al igual que en otros estudios³, los resultados obtenidos podemos observar concordancia en el porcentaje de mujeres infectadas, y el rango de edad entre 44 y 65 años, lo cual es importante para las consideraciones terapéuticas, ya que se conoce que la terapia es menos eficiente en pacientes de edad avanzada, debido a la progresión de la enfermedad hepática³.

En nuestro estudio se encontró el Genotipo 1 como el más frecuente en la población analizada (84%), siendo el subtipo 1b el causante de mayor número de infecciones, seguido por los genotipos 2 y 3; lo cual coincide con hallazgos reportados por Burguete-García y col 2011 en México y por Sulbarán y col 2010 en Venezuela. La tasa de progresión a la cronicidad es significativamente más alta en los pacientes infectados por el subtipo 1b, debido a la baja respuesta a la terapia con IFN pegilado y ribavirina⁴⁻⁵.

La importancia de conocer la carga viral del paciente infectado se debe al monitoreo del tratamiento antiviral. Nuestros resultados indican que el 43% de los pacientes manejaban cargas virales bajas (< 800.000 UI/ml) en el momento de realizarse la detección del ARN viral, considerando la carga viral como un predictor de respuesta al tratamiento; se infiere que estos pacientes responderán favorablemente al antiviral.

Este trabajo evidencia la importancia de la implementación de la cuantificación viral dentro del algoritmo diagnóstico del VHC del Instituto, como herramienta de utilidad clínica dada su indicación para el monitoreo de los pacientes antes, durante y después de la terapia. Su inclusión contribuye a que la infección sea tratada de forma temprana, evitando la progresión a cirrosis con descompensación hepática, el desarrollo de hepatocarcinoma y mejorar la calidad de vida del paciente.

REFERENCIAS

1. González Y. Estandarización y Evaluación de Ensayos Moleculares para la Detección y Cuantificación Del ARN del Virus de La Hepatitis C en suero Y plasma humano (Tesis Doctoral) Centro Nacional de Investigaciones y de Inmunoensayo. 2013; 17-20. La Habana. Cuba.
2. Fabian Fay, et al. Diferentes estratificaciones de carga viral de Hepatitis C: Comparación de resultados por dos métodos comerciales. Anuario de la Fundación Dr. J.R. Villavicencio 2006; XIV: 093-096.
3. Arias Y, R et al. Frecuencia de Genotipos y Subtipos de Virus de la Hepatitis C en Pacientes Colombianos con Infección Crónica. *Rev.Medica.Sanitas.* 2010; 13(3):10-19.
4. Burguete-García A, et al. Hepatitis C seroprevalence and correlation between viral load and viral genotype among primary care clients in Mexico. *Salud pública México.* 2011; 53. (1).7-12. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-36342011000700003>
5. Sulbarán M, et al. Genetic History of Hepatitis C in Venezuela: High Diversity and long time of evolution of HCV Genotype 2. *PLoS ONE* 5(12): e14315. doi: 10.1371/journal.pone.0014315

- **La Citología como herramienta diagnostica en animales de laboratorio**

Molina Sosa MJ¹ · Morales Briceño A¹ Moya Acosta M², Esteves C² Suniaga E²

¹Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Caracas Venezuela. Ciudad Universitaria, UCV, Caracas.

Mj.molin4@gmail.com

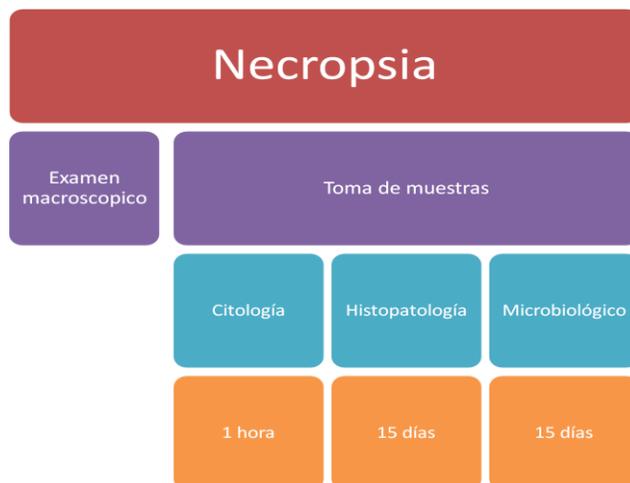
INTRODUCCIÓN

El estudio de la patología veterinaria involucra la identificación de las alteraciones que las enfermedades producen sobre la estructura y la función de un órgano, tejido, aparato o sistema. El conocimiento de la anatomía se obtiene principalmente mediante realización de necropsias, macropatología, toma de muestras para el estudio microscópico que permiten obtener un diagnóstico de la enfermedad. Una de las herramientas más utilizadas corresponde al estudio citológico que permite un diagnóstico rápido y específico. Mediante el estudio de las células podemos determinar la etiología de procesos patológicos inflamatorios, infecciosos, neoplásicos, así como la detección de agentes implicados, permitiendo iniciar una línea de diagnóstico adecuada para establecer la causa de los diferentes procesos.



Imagen 1 : Conejo (*Oryctolagus cuniculus*) hembra raza Nueva Zelanda

Se plantea como objetivo demostrar la ventajas que ofrece la toma de muestras citológicas durante la necropsias con ejemplos de campo.



METODOLOGÍA

Se realizó un estudio clínico-patológico incluyendo la técnica de necropsia a una coneja hembra, adulta, proveniente de la Granja Experimental “La Torcaz”, que presentaba una descarga vulvar serosa, amarillenta de mal olor. Durante el proceso de necropsia se realizó la impronta de órganos blanco (hígado, bazo, riñón y útero), las láminas fueron fijadas con metanol y teñidas con H&E. Adicionalmente fueron colectadas muestras de los tejidos descritos previamente, fueron fijadas en formol y procesadas por los métodos convencionales histológicos, se tiñeron con H&E y se observaron al microscopio óptico.

RESULTADOS

Macroscópicamente se observó Hiperplasia endometrial quísticas, quistes ováricos, con exudado sero-hemorrágico, degeneración grasa hepática. La citología evidenció Piometra sero-hemorrágica, macrófagos reactivos fagocitando bacterias, degeneración hepatocelular grasa y absceso esplénico. Los resultados fueron confirmados mediante el estudio histopatológico. Lo que concuerda con una septicemia.



Imagen 2 : Examen macroscópico de conejo hembra durante la necropsia

CONCLUSIÓN

La toma de muestras citológicas como parte del procedimiento de necropsia permitió obtener resultados presuntivos que apoyan el diagnóstico clínico de manera rápida, para la toma de decisiones profilácticas inmediatas, frente a otras técnicas que requieren de al menos 15 días para arrojar resultados. La citología es una técnica sencilla y económica, sin embargo es necesario que sea acompañada con otras técnicas diagnósticas como la histopatología y pruebas microbiológicas, que confirmen el diagnóstico presuntivo.



REFERENCIAS

1. Morales Briceño A, Méndez A, Morales M. Atlas clínico patológico digital de anatomía patológica comparativa en los animales domésticos. Depósito Legal N° lfx25220146361623 ISBN: 978-980-12-7406-3. 2014.
2. Aluja, A., Constantino, F. Técnicas de necropsia en animales domésticos. 2da edición. Editorial Manual Moderno. México. 2002.
3. Percy, D., Barthold, S. Pathology of laboratory rodents and rabbits. 3 ed. Iowa, USA. 2007

• **Comparación del Cultivo Convencional y Shell Vial para el Aislamiento de Virus Varicela Zoster (VVZ) en muestras de pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"**

Escalante A¹, Useche S¹, Ruíz Y³, Guevara R², Porras N², Hernández R³, Carrero D³, D'Angelo P^{2, 3}, Gutiérrez C¹

Escuela de Bioanálisis-Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela ¹
Laboratorio de Inmunoserología Viral-Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel ² Laboratorio de Aislamiento Viral-Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel ³

INTRODUCCIÓN

Convencionalmente el cultivo celular ha sido el método utilizado para el diagnóstico e investigación del VVZ, éste se puede aislar a partir del líquido vesicular y/o hisopado vesicular en las primeras etapas de la evolución de la enfermedad la cual se empleó diferentes líneas celulares como: las Vero E6, Vero ATCC y A549, se esperaría observar el efecto citopático en aproximadamente 21 días. (1,3).

La línea celular Vero es derivada del riñón mono verde africano, son células de forma poligonales y elongadas. Mientras que la línea A549 se basa en células epiteliales de carcinoma de pulmón humano, ambas líneas son ampliamente usadas para el aislamiento del VVZ. La detección de efectos inducidos por un virus, permite la identificación de los mismos en los cultivos celulares, esto también es conocido como efectos citopáticos, un término que va referido a que muchos virus pueden ser identificados por la característica celular y/o cambios que inducen en cultivos celulares susceptibles. (3)

El método por centrifugación ó Shell Vial, ésta técnica consiste en inocular la muestra en líneas celulares susceptibles y posteriormente la monocapa es sometida a un proceso de centrifugación aumentando la sensibilidad del método, permite resultados más rápidos, es decir, que haya un mayor contacto en las células y el virus, produciendo que el efecto citopático comience a observarse a las 24-48 horas aproximadamente. (2)

OBJETIVO

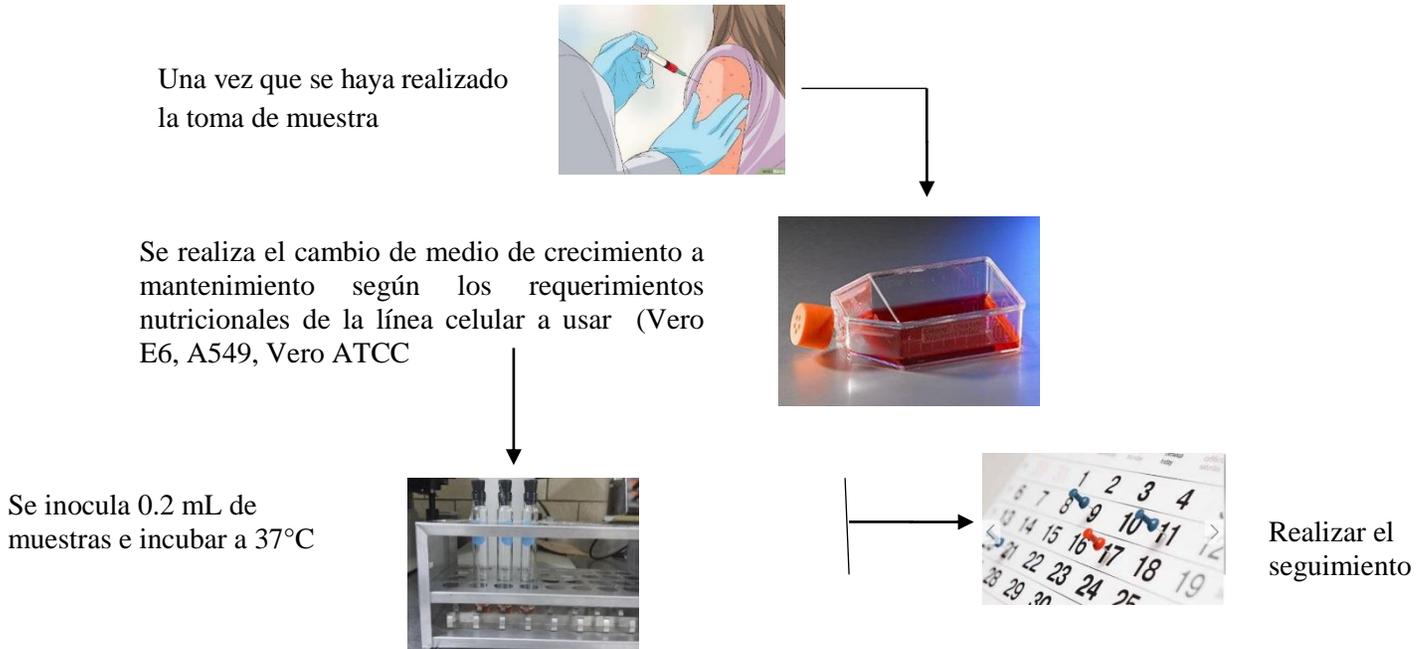
Comparar el método del cultivo convencional y Shell Vial para el aislamiento del VVZ en líneas celulares susceptibles.

METODOLOGÍA

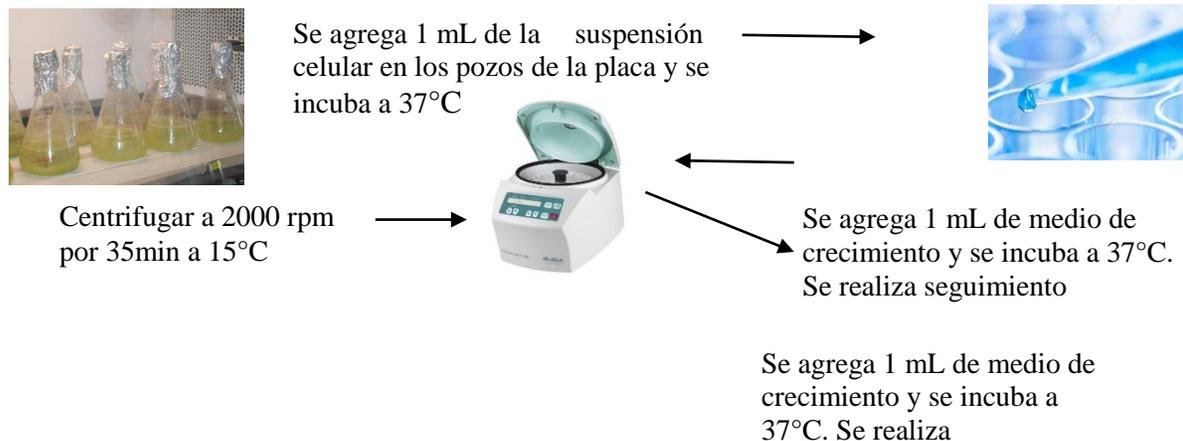
Muestras:

Se emplearon 10 muestras de líquido y/o raspado vesicular de pacientes con sospecha clínica de Varicela y/o Herpes Zóster.

Procedimiento: Método de cultivo convencional

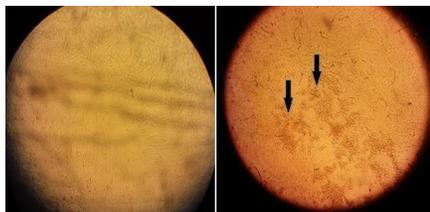


Procedimiento: Método de cultivo por centrifugación o Shell vial



RESULTADOS

En las muestras inoculadas en las líneas celulares Vero E6, Vero ATCC y A549, mediante el método de cultivo convencional, no se observaron efecto citopático luego de 21 días de incubación. Estos resultados conllevaron a la realización del método Shell Vial en Vero ATCC, en donde se inocularon 6 muestras, observándose el efecto citopático en 5 muestras, en un promedio entre 9 y 14 días.



Efecto citopático del VVZ en la línea celular Vero ATCC en Shell Vial. (A) Monocapa de células Vero ATCC no infectadas; (B) Formación de placas y agrupamiento celular (flechas).

CONCLUSIÓN

- Se logró el aislamiento viral del VVZ en la línea celular Vero ATCC mediante la técnica de Shell vial. Demostrando que éste método de aislamiento rápido es más efectivo que el método de cultivo convencional.
- Se obtuvo por primera vez el aislamiento del VVZ en la línea celular Vero ATCC, siendo ésta no solo susceptible y permisiva para el Virus Herpes Simplex sino que además puede ser utilizada a fines de obtener aislamiento de VVZ.
- Se demostró que la técnica de Shell vial es más sensible que el método de cultivo convencional.

REFERENCIAS

1. Ammerman N. et al. Growth and Maintenance of Vero Cell Lines. [Revista en Internet]. National Institute of Health. 2008 Noviembre.
2. Pérez J. et al. Comparison of Techniques and Evaluation of Three Commercial Monoclonal Antibodies for Laboratory Diagnosis of Varicella-Zoster Virus in Mucocutaneous Specimens. [Revista en Internet]. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 32, No. 6, June 1994, p. 1610-1613.
3. Landry M. et al. Chapter 3: Primary Isolation of Viruses. American Society for Microbiology. 2009. URL Disponible: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555815974.ch03>.

• **Dermatosis Nutricional en Cobayo (*Cavia Porcellus*): Caso clínico**

Méndez Briñez O¹, Morales Briceño A², Moyá Acosta M², Esteves C²; Suniaga E²

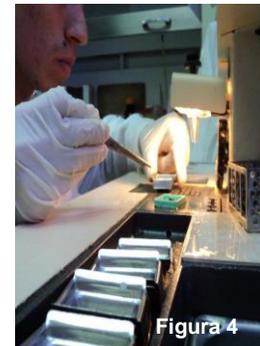
¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" olivermendez58@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las dermatopatías nutricionales en animales de experimentación son multifactoriales, asociadas a síndromes de mal absorción intestinal, por disminución de la concentración de nutrientes en la dieta o por predisposición genética. En general están asociadas a vitaminas liposolubles A, D, E y hidrosolubles C, ácidos grasos, aminoácidos y minerales como el Zinc. Los signos clínicos se manifiestan por: seborreas, descamación, alopecias, ictiosis, pelo hirsuto, comedones, entre otros.

MATERIALES Y MÉTODOS

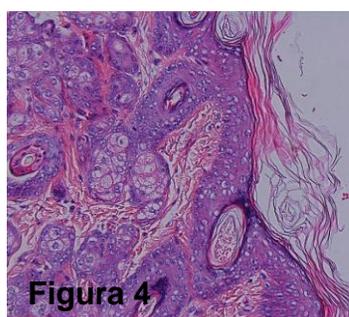
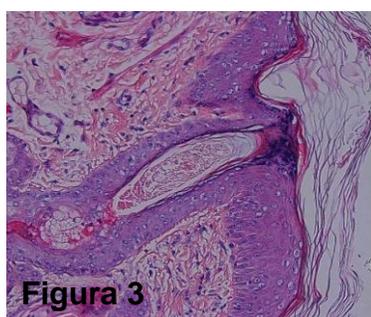
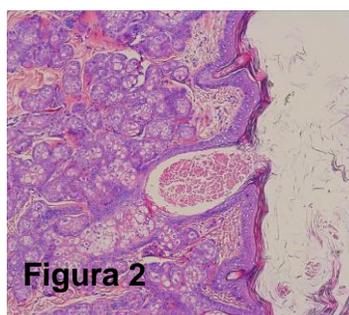
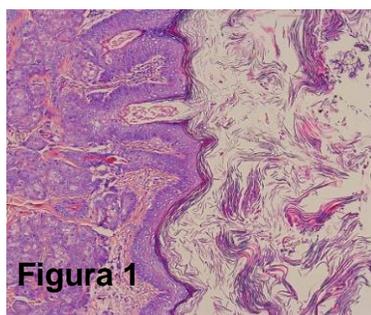
Se realizó un estudio clínico-patológico y necropsia a un cobayo macho, adulto, completo, con lesiones dérmicas caracterizadas por alopecia y seborrea, proveniente de la granja "La Torcaz", Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Fueron colectadas muestras de piel, las cuales se fijaron en formalina al 10%, se procesaron por los métodos convencionales histológicos, se tiñeron con H&E y se observaron al microscopio óptico en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".



Figuras 1 y 2.- Cobayos de la Granja Experimental "La Torcaz" INH "RR", los cuales presentan descamación, alopecia areata y pelo hirsuto. **Figura 3.-** Procesador de tejidos para estudios histopatológicos del Departamento de Patología INH "RR". **Figura 4.-** Confección del bloque histológico con la muestra de tejido para su posterior corte y coloración.

RESULTADOS

Las lesiones dérmicas macroscópicas observadas fueron: pelo hirsuto, zonas alopécicas areatas, seboreicas y descamadas. Los cortes histológicos de piel evidencian hiperqueratosis paraqueratótica, abundante perlas corneas, incontinencia pigmentaria, acantosis, hiperplasia de las glándulas sebáceas, pérdida de la continuidad de la epidermis y queratosis folicular.



Figuras 1, 2, 3 y 4.- Los cortes histológicos de piel evidencian hiperqueratosis paraqueratótica en todos los campos (punta de flecha), perlas corneas (flecha), incontinencia pigmentaria (asterisco), hiperplasia de las glándulas sebáceas (circulo) y queratosis folicular (triangulo), principalmente.

CONCLUSIONES

Los hallazgos clínicos, macroscópicos e histológicos son sugestivos de una dermatosis nutricional, es necesario considerar un patrón clínico-histológico para el diagnóstico precoz de este tipo de patologías. Se debe hacer énfasis en establecer herramientas que permitan una suplementación nutricional estratégica en este tipo de animales, ya que pueden presentar susceptibilidad a dietas deficientes de minerales, vitaminas y fibra cruda.

REFERENCIAS

1. Menné, T; Maibach, H. (1990). Exogenous Dermatoses: Environmental Dermatitis.
2. Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board and Agriculture, National Research Council. (1995). Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Fourth Revised Edition.
3. Urbach, E; Lewinn, E. (1946). Skin Diseases Nutrition and Metabolism.
4. Witkowska A, Price J, Hughes C, Smith D, White K, Alibhai A. (2017). The effects of diet on anatomy, physiology and health in the Guinea Pig. J Anim Health Behav Sci. 1:1.

- **Determinación del contenido de gluten en alimentos (nacionales e importados), comercializados en el país, destinados a la población celíaca**

Moreno Mata G*.

Laboratorio de Investigación. Unidad de Contaminantes y Residuos Químicos.
División de Productos Alimenticios. Gerencia Sectorial de Registro y Control.
Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"
gilma.moreno@inhrr.gob.ve, gilmamoreno@hotmail.com

RESUMEN

La enfermedad celíaca es una intolerancia a las proláminas, que constituyen la fracción proteica del gluten de algunos cereales. El consumo de gluten en individuos celíacos produce atrofia de las vellosidades intestinales y conlleva a la malabsorción de nutrientes, cuyo único tratamiento es la eliminación del gluten de la dieta, por lo que la declaración de su presencia en las etiquetas de los productos es la manera más efectiva para evitar la ingestión. En este proyecto el objetivo fue determinar el contenido de gluten presente en diversos rubros alimenticios comercializados en el país para la población celíaca y compararlos con la información declarada en sus etiquetas. Se utilizó la técnica de referencia del Codex Alimentarius y la AOAC 2012.01 como el método para cuantificación de gluten en alimentos, denominado el inmunoensayo ELISA R-5, a través del uso de los kits RIDASCREEN®GLIADIN, para analizar las muestras. Se evaluaron solo los alimentos rotulados "libres de gluten" de un total de 28 muestras y con esta información se construyó una tabla de datos para el laboratorio. Los resultados del ELISA R-5 indicaron que 26 de 28 (92,86%) de los alimentos "libres de gluten", no presentaron contaminación con gluten y 2 de 28 (7,14%) de los alimentos especiales para celíacos presentaron contaminación con más de 20 ppm de gluten, no coincidiendo con lo declarado en sus etiquetas. Entregando toda la información recaudada a través de un informe a las autoridades del FONACIT y INHRR, con la finalidad de establecer controles sanitarios de los productos alimenticios destinados a esta población y proporcionarles seguridad alimentaria para cuidar su salud a través del personal entrenado de los Laboratorios de Alimentos del INHRR. Culminando el financiamiento del Proyecto a través del programa de apoyo al sector salud de MPPEUCT/FONACIT.

INTRODUCCIÓN

La presencia de gluten en los alimentos representa un problema de salud para la población celíaca. El consumo de gluten por estas personas sensibles produce atrofia de las vellosidades intestinales y conlleva a la malabsorción de nutrientes. En Venezuela, el gluten se encuentra entre los principales alérgenos alimentarios (el huevo, la leche, la soya, los cereales que contienen gluten, el maní, las frutas secas de árboles, los pescados, los crustáceos y el sulfito (1)), en donde el contenido de gluten en algunos cereales desencadena la enfermedad celíaca o intolerancia al gluten en personas sensibles. Los cereales que contienen gluten son: trigo, cebada, centeno, espelta, kamut, triticale y posiblemente avena, combinada con almidón (2). Dependiendo del cereal, las prolaminas del gluten reciben una denominación particular como: gliadina en el trigo, secalina en el centeno, hordeina en la cebada y avenina en la avena (3). Los individuos con condición celíaca necesitan mantener una dieta libre de gluten constituida por alimentos de regímenes especiales, destinados para esta población. Sin embargo, existe la posibilidad que estos alimentos libres de gluten posean ciertos niveles de este alérgeno, producto de una contaminación cruzada durante la fabricación, empaclado o almacenamiento, lo que conllevaría a un peligro para estas personas (4). **El objetivo** de este trabajo es comprobar el contenido de gluten presente en diversos rubros alimenticios comercializados en el país para la población celíaca, que permitirá mejorar su salud y calidad de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se evaluaron un total de 28 muestras de productos nacionales e importados que correspondían a las siguientes categorías: condimentos y aderezos, alimentos deshidratados, harinas, pasta y galletas nacionales e importadas. El criterio de selección se basó en los productos alimenticios destinados para celíacos ingresados a través del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" para ensayos de registros y especiales en el Laboratorio de Investigación de la División de Productos Alimenticios, Gerencia de Registro y Control.
- Metodología de la AOAC (Oficial Method 2012.01 (5)).
- Utilizando el kit comercial RIDASCREEN®GLIADIN (R-Biopharm AG - AOAC 2012.01) para la extracción y cuantificación de las prolaminas.

Resultados y Discusión:

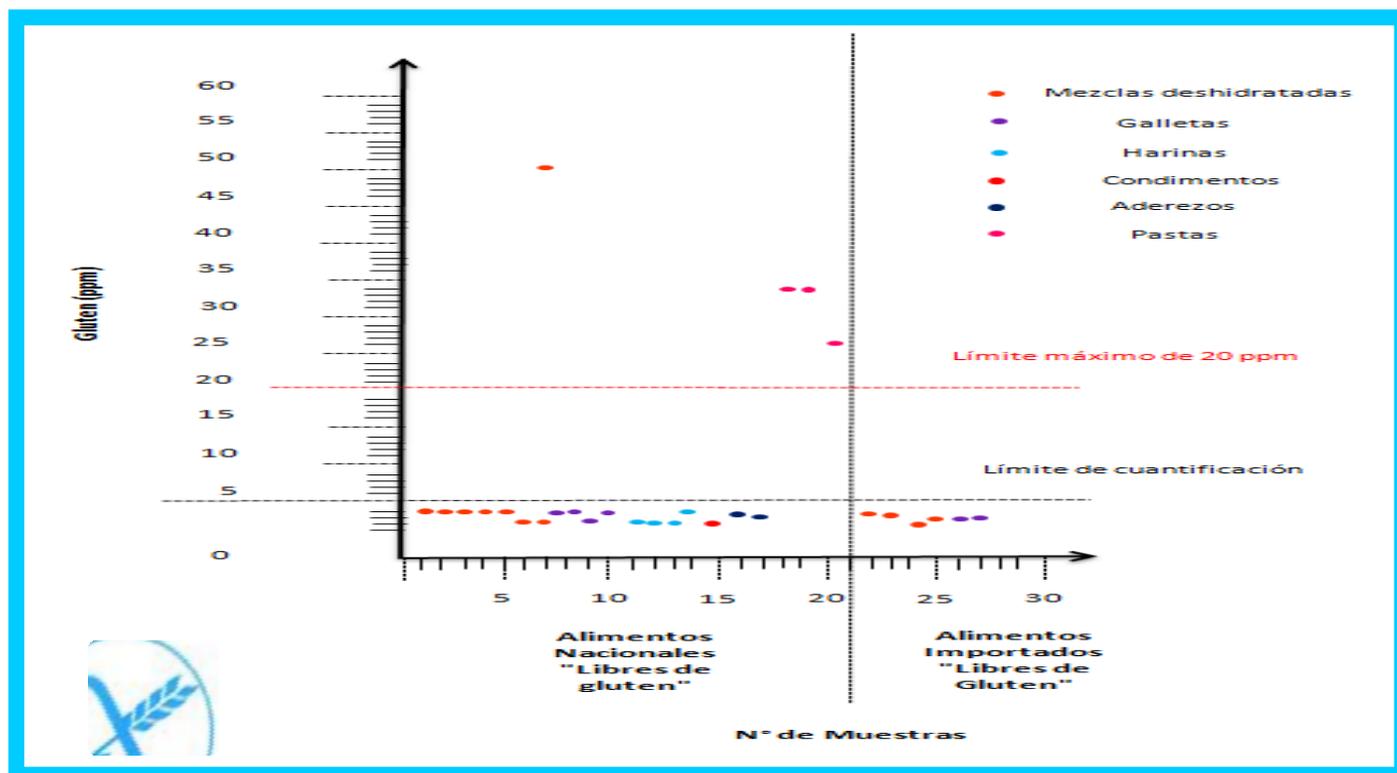


Gráfico 1. Niveles de gluten en alimentos (nacionales e importados) comercializados en el país para celíacos.

En el Gráfico 1 se evaluó para los alimentos nacionales que 4 muestras de 22 obtuvieron valores superiores de 20 mg/Kg. A diferencia de los alimentos importados 6 muestras de 6 estuvieron conforme con su declarado, libres de gluten.

Sin embargo, las diferentes concentraciones de gluten cuantificadas pueden o no afectar a las personas con condición celíaca ya que el nivel de tolerancia varía de una persona a otra y también dependerá de la severidad inicial de la enfermedad celíaca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	ACTIVIDADES	RESULTADOS PREVISTOS	RESULTADOS OBTENIDOS
Estandarizar la metodología analítica inmunoenzayo sándwich ELISA R5 para determinar el contenido de gluten en los diferentes rubros alimenticios analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"	Ubicación de fuentes de información	Desarrollo e implementación de la metodología para la detección de gluten en diferentes rubros alimenticio	 <p>Se tiene una técnica analítica para la detección de gluten en el Laboratorio de Aditivos y Alergenos de la Unidad de Macronutrientes</p>
	Establecimiento de las condiciones de análisis en el equipo		
	Verificación mediante kit de controles		
	Extracción y preparación de las muestras alimenticias		
	Sembrado de las muestras		
	Detección del contenido de gliadina		
	Conversión del contenido de gliadina a gluten		
Evaluar el contenido de gluten encontrado en los diferentes rubros alimenticios.	Comparación de los valores obtenidos con lo establecido en la Norma Codex Alimentarius de Alimentos para regímenes especiales	Base de datos generada de productos analizados por los laboratorios	Se creó base de datos a partir de los 28 productos analizados por el responsable técnico
	Análisis de los resultados obtenidos		
Establecer la base de datos del contenido de gluten encontrado por rubros alimenticios	Elaboración del instrumento de recolección de información	Vigilancia y control del contenido de gluten en productos alimenticios, garantizando confianza y seguridad a grupos susceptibles	Tabla en Excel de Alimentos Libres de Gluten analizados para verificar y garantizar a la población celíaca del país su la seguridad alimentaria
	Llenado del instrumento para conformación de la base de datos de todos los productos analizados		Se tienen las referencias bibliográficas en teoría de gluten, métodos de detección y cuantificación, normas y leyes
	Elaboración de conclusiones		Personal profesional y técnico del INHRR capacitado en la técnica
	Elaboración del Informe de Investigación		Finalización y entrega del informe de investigación del proyecto al FONACIT y al INHRR
Proponer el control sanitario de los productos alimenticios para la población de la institución	Proponer el control sanitario de los		Se cuenta con una técnica de referencia internacional del Codex Alimentarius y AOAC en el INHRR para proporcionar a la población celíaca del país la seguridad alimentaria que necesita para cuidar su salud
			Desarrollar por el personal capacitado nuevas metodologías analíticas en lo que se optimizar cada vez
RESÚMENES DE POSTERS CIENTÍFICOS PRESENTADOS EN LAS XL JORNADAS CIENTÍFICAS "Dra. ROSA ALBA SALAS MORA", 2017 DEL INHRR. Rev. Inst. Nac. Hig. "Rafael Rangel", 2017; 48 (1-2): 173- 239			males y ministeriales, para establecer un sistema de vigilancia sanitaria eficaz y eficiente en la toma de decisiones referentes a los productos alimenticios exentos a gluten y otros alérgenos

Tabla 1. Resultados obtenidos en función de los términos del contrato de financiamiento y el cronograma de actividades

En la tabla 1 se observa los objetivos específicos establecidos en el proyecto acompañado de las actividades que se necesitaron para conseguirlos y lograr culminar el proyecto FONACIT para determinar el contenido de gluten en diversos rubros nacionales e importados financiado por el programa de apoyo al sector salud de MPPEUCT/FONACIT.

CONCLUSIÓN

- Se evaluó el contenido de gluten de 28 muestras alimenticias, clasificadas en alimentos Nacionales 22 y Importadas 6 mediante el uso del inmunoensayo ELISA R-5, logrando la estandarización y capacitación del método para detectar los distintos niveles de gluten. Las muestras analizadas eran productos no altamente procesados o hidrolizados.
- Los alimentos Nacionales 2 de 28 (92,86%) mostraron una contaminación de trigo, cebada y centeno > 20mg/Kg no cumpliendo con la información declarada en sus etiquetas y por ende con lo establecido por el Codex Alimentarius para regímenes especiales. Es de hacer notar que estos alimentos pertenecían a las categorías de cereales: a base de maíz, arroz y mezclas de maíz, papa, arroz y yuca. Por otro lado se obtuvo que 26 de 28 (7,14%) muestras analizadas si cumplieron con la información declarada en sus etiquetas.

AGRADECIMIENTOS

- A mi tutora Lorena Reverol por haber creído en mí y apoyarme en este proyecto que comenzó como una tesis de postgrado.
- Al personal de los Laboratorios de Alimentos de la División de Productos Alimenticios del INHRR.
- A el Departamento de Control de Hemoderivados y Afines adscrito a la División Nacional de Productos Biológicos del INHRR.
- A la Coordinación de Investigación de la Gerencia de Docencia e Investigación del INHRR.

REFERENCIAS

1. Norma venezolana Covenin 2952:2001 Norma general para el rotulado de los alimentos envasados (1^{ra} revisión).
2. Federación de la asociación de celíacos de España. Enfermedad celíaca. 2008. Disponible en: www.celiacos.org. Consultado: 31-10-2016.
3. Fernández M. Ampliación de tecnología de los alimentos. Tema 3: estructura y función de proteínas. 2010. Disponible en: www.ual.es. Consultado: 05-02-2016.
4. Federación de la asociación de celíacos de España. Manual del celíaco. 1ra edición. España: Real Patronata sobre Discapacidad. 2002.
5. Official Methods of Analysis (AOAC) 2012.01 Año 2012.

- **Estabilidad y reactividad de Colorantes de Fite-Faraco y Colorante de Wright, preparados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"**

Suniaga Pino E¹⁻³, Morales Briceño A², Cisneros Herrera M¹, Moreno Sánchez Y¹, Moya Acosta M¹⁻⁴

¹Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Caracas, Venezuela. ² Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba, Universidad de Córdoba, España.

³Instituto de Oncología y Hematología, Caracas Venezuela. ⁴Instituto de Medicina Experimental "Dr. José Gregorio Hernández, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

esuniagapino@mail.ru

INTRODUCCIÓN

Los colorantes, reactivos y sustancias utilizadas en los procesos y protocolos histotecnológicos, dentro del área de anatomía patológica; requieren ser: elaborados, controlados y probados por personal calificado, esto motivado a lo complejo de su utilización dentro de las diversas rutina histotecnológicas para el posterior diagnóstico de láminas histológicas y procesos de investigación. Es de esta manera se tomaron lotes almacenados por un periodo de dos (2) años para realizar pruebas de estabilidad y reactividad a colorantes de Fite-Faraco y colorante de Wright. Ver Fig. 1.

OBJETIVO GENERAL

Realizar pruebas de estabilidad y reactividad de colorantes de Fite-Faraco y colorante de Wright almacenados por dos (2) años en el Laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Revisar apariencia física de colorantes almacenados.

Seleccionar laminas control positivo para bacilos ácido resistentes (B.A.R). Realizar protocolo de Fite-Faraco a láminas control y coloración de Wright a los aspirados de médula ósea. Ver Fig.2, según manual del AFIP. Evaluar microscópicamente láminas protocolizadas con Fite-Faraco y coloración de Wright.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar apariencia física de colorantes almacenados.
- Seleccionar laminas control positivo para bacilos ácido resistentes (B.A.R).
- Realizar protocolo de Fite-Faraco a láminas control y coloración de Wright a los aspirados de médula ósea. Ver Fig.2, según manual del AFIP.
- Evaluar microscópicamente laminas protocolizadas con Fite-Faraco y coloración de Wright.



Fig.1: Fucsina fenicada y colorante de Wright, Almacenada fecha agosto 2015

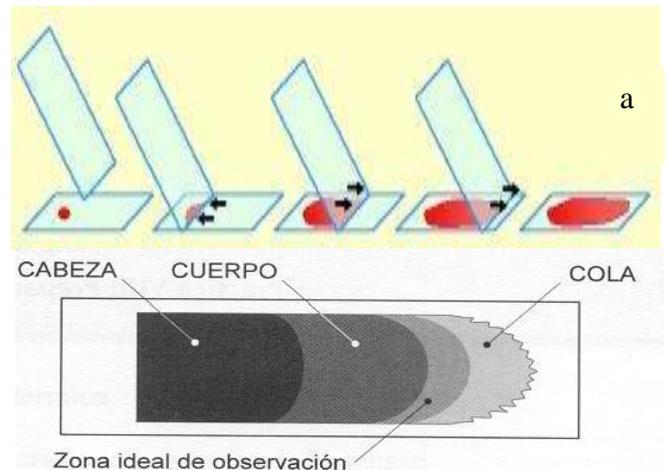


Fig.2 a: Técnica de elaboración de frotis sanguíneo, b. Zona de Observación

METODOLOGÍA

Esta investigación se fundamentó en los principios básicos de formulaciones químicas y técnicas histotecnológicas: una coloración de rutina: WRIGHT, una coloración especial: FITE FARACO dichos protocolos tienen una gran relevancia al momento de realizar diagnósticos, por la contundencia que ofrecen su aplicación a los resultados citohistopatológicos.

Fueron sacados de almacenaje lotes reservados de la preparación de fucsina fenicada y colorante de Wright, elaborados hace dos años, donde se evaluó primeramente su aspecto físico y cantidad de residuos existentes en los envases contenedores. Luego se seleccionaron laminas control positivo de (B.A.R) y aspirados de médula ósea, que serán utilizadas en la corrida los protocolos de Fite-Faraco y Wright respectivamente. Se realiza

el protocolo de coloración de Fite-Faraco, según manual de coloraciones y técnicas del AFIP; siguiendo y verificando cada paso además de los tiempos de la técnica expuesta en dicho manual. Ver Fig. 3-4-5

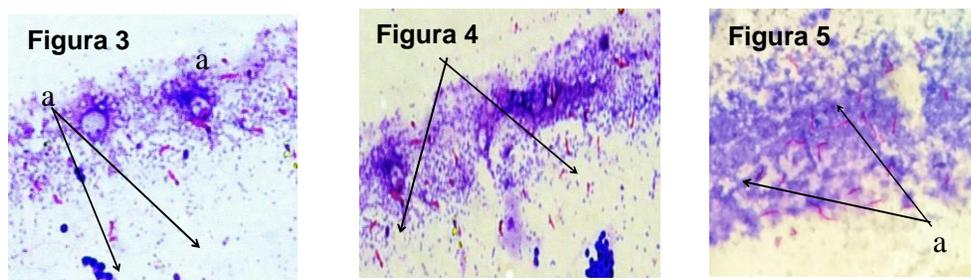


Fig. 3-4-5: Coloración de FITE-FARACO. (a) Bacilos ácido resistentes 40X inmersión

Posteriormente se realiza la corrida del protocolo de Wright en seis (6) aspirados de médula ósea de animales experimentales, siguiendo de la misma forma la técnica descrita en el manual de coloraciones y técnicas del AFIP, verificando los tiempos de realización de la coloración mencionada. Ver Fig. 6-7. Ambas coloraciones luego fueron revisadas microscópicamente y se realiza evaluación de los resultados obtenidos.

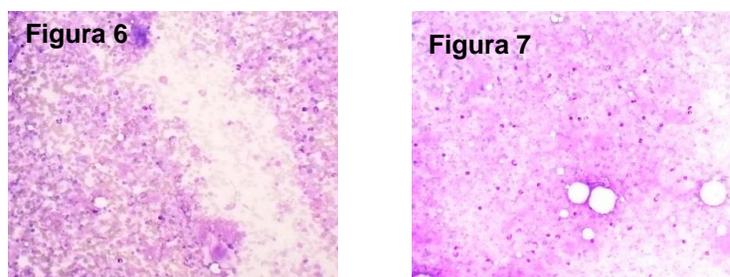


Fig. 6-7: Coloración de Wright. 10X inmersión

RESULTADOS

- Los colorantes de Fite-Faraco y Wright, conservan sus características físicas luego de un almacenaje de dos años, con un grado muy bajo de precipitación en su envasado.
- La revisión y evaluación microscópica evidencia los bacilos ácido resistentes (B.A.R) con un color rojo. Como resultado de la técnica seguida según literatura especializada; por otro lado la coloración de Wright, evidencia las distintas series hematopoyéticas, en sus distintos estados de maduración. Ver Fig. 8-9.

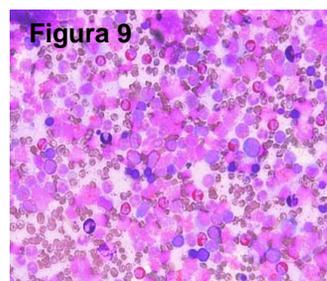
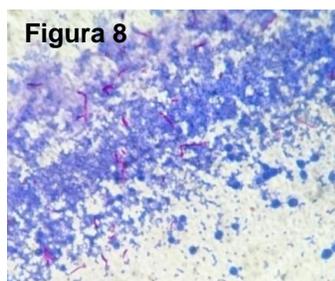


Fig. 8-9: Coloración de FITE-FARACO (a), Coloración de Wright (b).
40X inmersión

CONCLUSIONES

- Los colorantes de Fite-Faraco y Wright, almacenados durante dos años mantienen su aspecto físico y químico y pueden ser utilizados para la evidencia de bacilos ácido resistentes y distintas series hematopoyéticas respectivamente, según técnicas establecidas en Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América.
- Se evidencia que los tiempos requeridos para la realización de dichos protocolos son correspondientes a las técnicas, sin haber degradación de la efectividad de los colorantes por el largo tiempo de almacenaje.
- Es importante resaltar que dicho almacenaje se realiza en frascos ámbar sellados con parafilm y resguardados de la luz directa y otras condiciones ambientales.

REFERENCIAS

1. Luna, Lee. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill, 1968.

• **Estandarización de la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para la detección de Anticuerpos IgG específicos contra el Virus Varicela Zoster (VVZ)**

Useche S¹, Escalante A¹, Guevara R², Porras N², D'Angelo P², Gutierrez C¹.

Escuela de Bioanálisis-Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela¹
Laboratorio de Inmunoserología Viral-Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel²

INTRODUCCIÓN

El VVZ pertenece a la familia *Herpesviridae*, y como es característico en los miembros de ésta familia, tiene la capacidad de permanecer latente en los ganglios dorsales luego de producir la primo infección, la cual, se manifiesta como una patología benigna propia de la infancia conocida como Varicela. Como consecuencia de diferentes estímulos (disminución de la inmunidad celular frente al agente infeccioso por tratamientos específicos, enfermedades inmunosupresoras, edad avanzada) el provirus latente puede reactivarse ocasionando la aparición de Herpes Zoster. Ambas infecciones generan una erupción cutánea característica fácilmente reconocible desde el punto de vista clínico, que es la principal forma de diagnóstico.^{1,2} En la mayoría de los niños la varicela suele ser una infección autolimitada, siendo la sobreinfección bacteriana de las vesículas la complicación más común en este grupo etario. Por su parte, en adultos inmunocompetentes la infección y reactivación viral puede acarrear serias complicaciones que van desde neumonías y hepatitis hasta afección en el Sistema Nervioso Central llegando a causar encefalitis.^{1,3}

Sin embargo, la población de mayor vulnerabilidad ante las complicaciones originadas por VVZ y en los que su efecto puede ser fatal son los pacientes inmunosuprimidos (infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), tratamiento con drogas inmunosupresoras o antiinflamatorios, trasplantados) y las embarazadas donde se puede originar infección neonatal y causar afecciones congénitas. Ante estos casos en los que la etiología viral es incierta al igual que la evolución y pronóstico de la enfermedad se hace necesario el uso de técnicas de laboratorio para el diagnóstico eficaz y oportuno. ^{1,4.}

OBJETIVO

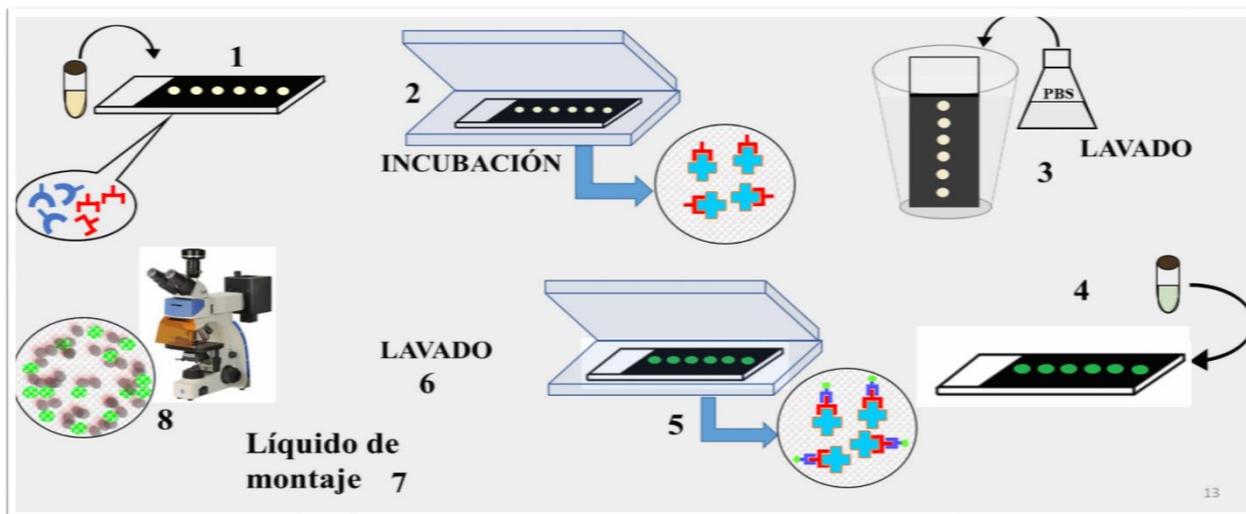
Estandarizar la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos IgG específicos contra VVZ, en muestras clínicas referidas al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"

METODOLOGÍA

Muestras: Se emplearon 43 sueros pertenecientes a la Seroteca del Laboratorio de Inmunoserología Viral, previamente caracterizados mediante técnicas de ELISA. 20 de ellos eran negativos para anticuerpos IgG contra VVZ y positivos para otros virus; por su parte, los 23 restantes eran positivos para IgG contra VVZ.

Procedimientos y Materiales

- Aislamiento y Obtención de la Semilla Viral mediante Shell Vial.
- Comprobación del aislamiento viral mediante Técnicas de Biología Molecular (PCR Multiplex)
- Elaboración de 40 láminas sensibilizadas con células infectadas y no infectadas.
- Titulación de Conjugado (diluido 1:320 y 1:640)



Esquema de la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

• **Evaluación de Reactividad Cruzada.**

* Análisis de la totalidad de los sueros IgG negativos contra VVZ y positivos para otros Herpesvirus, Arbovirus, Rubéola, Sarampión y Parotiditis, siguiendo las indicaciones antes descritas.

• **Evaluación de Sensibilidad y Especificidad.**

* Análisis de los 43 sueros seleccionados siguiendo el protocolo descrito anteriormente.

* Calcular los porcentajes de Sensibilidad y Especificidad que obtiene la Técnica Estandarizada al compararla con la Técnica de Referencia.

RESULTADOS

Según los resultados obtenidos en la prueba de titulación del conjugado se decidió que la dilución óptima para realizar la prueba es la de 1:320.

En la evaluación de reactividad cruzada, se obtuvo un caso positivo para IgG contra el Virus Dengue (Negativo para IgG contra VVZ) que en la técnica estandarizada arrojó resultado Positivo. Todo esto se refleja en la Tabla de resultados.

Luego de la comparación de los resultados obtenidos por la Técnica de **ELISA** con los aportados por la técnica IFI estandarizada, se obtiene que esta última posee un 82% de Sensibilidad y 95% de Especificidad.

Características de las Muestras	Resultados obtenidos en la IFI para VVZ. Titulación de Conjugado (FITC)			
	Diluido 1:640		Diluido 1:320	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivas para Herpesvirus. Negativas IgG VVZ (n=5)	0	5	0	5
Positivas para Arbovirus. Negativas IgG VVZ (n=10)	0	10	1	9
Positivas para Rubéola, Sarampión y Parotiditis. Negativas IgG VVZ (n=5)	0	5	0	5
Positivas para IgG VVZ (n=23)	12	11	19	4

Tabla de Resultados de los ensayos N° 1: Titulación del conjugado

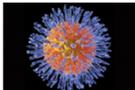
Familia Viral probada	Resultado obtenido para IFI de VVZ	
	Positivo	Negativo
 Herpesvirus	0	5
 Arbovirus	1	9
 Rubeola, Sarampión y Parotiditis	0	5

Tabla de Resultados de los ensayos N° 2: Reactividad cruzada

Técnica de Inmunofluorescencia	
Sensibilidad	82%
Especificidad	95%

Tabla de Resultados de los ensayos N° 3: Sensibilidad y Especificidad

CONCLUSIÓN

- Se estandarizó una técnica de IFI para determinación de anticuerpos del tipo IgG contra el VVZ con una sensibilidad 82% y especificidad de 95%.
- En líneas generales, la técnica estandarizada no mostró reactividad cruzada frente a otros agentes virales.
- Queda implementado en el laboratorio el protocolo para la realización de láminas de IFI para la detección de anticuerpos del tipo IgG contra el VVZ, técnica que permite diagnosticar de manera eficaz los casos de complicación por reactivación de VVZ.

Estudio Pionero en la Estandarización de IFI para detección de IgG contra VVZ

Innovación al estandarizar la técnica con células infectadas a partir de muestras de pacientes con sospecha clínica de Varicela y/o Herpes Zoster

REFERENCIAS

1. Harris-Petousis H. Antigen Review for the New Zealand National Immunisation Schedule: Varicella-zoster virus [Internet]. New Zealand, The University of Auckland. 2013 Feb. URL Disponible en: http://www.immune.org.nz/sites/default/files/research_articles/Ebook%20Varicella.pdf.
2. Pace D. Review of Varicella zoster virus: from epidemiology to prevention [Review Article]. Malta Medical Journal Vol. 20 Issue 03 September 2008. URL Disponible en: <http://www.um.edu.mt/umms/mmj/PDF/215.pdf>
3. Arvin A. Varicella-Zoster Virus [Internet]. Clinical Microbiology Reviews, July 1996, Vol. 9, N°3, p. 361–381. URL Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172899/pdf/090361.pdf>
4. Tolosa M. et al. Varicela en adulto. Complicaciones. [Internet]. Argent. Dermatol. 2005. 55:183-187. URL Disponible en: <http://www.archivosdermato.org.ar/Uploads/Arch.%20Argent.%20Dermatol.%2055%20183-187,%202005.pdf>.

- **Estandarización de la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección del Virus de Encefalitis Equina del Este (VEEE) y Virus Madariaga (MADV)**

De Almeida Ospina K N¹, Contreras Gámez Y R¹, Moncada Escala M E², Hernández Rangel R²

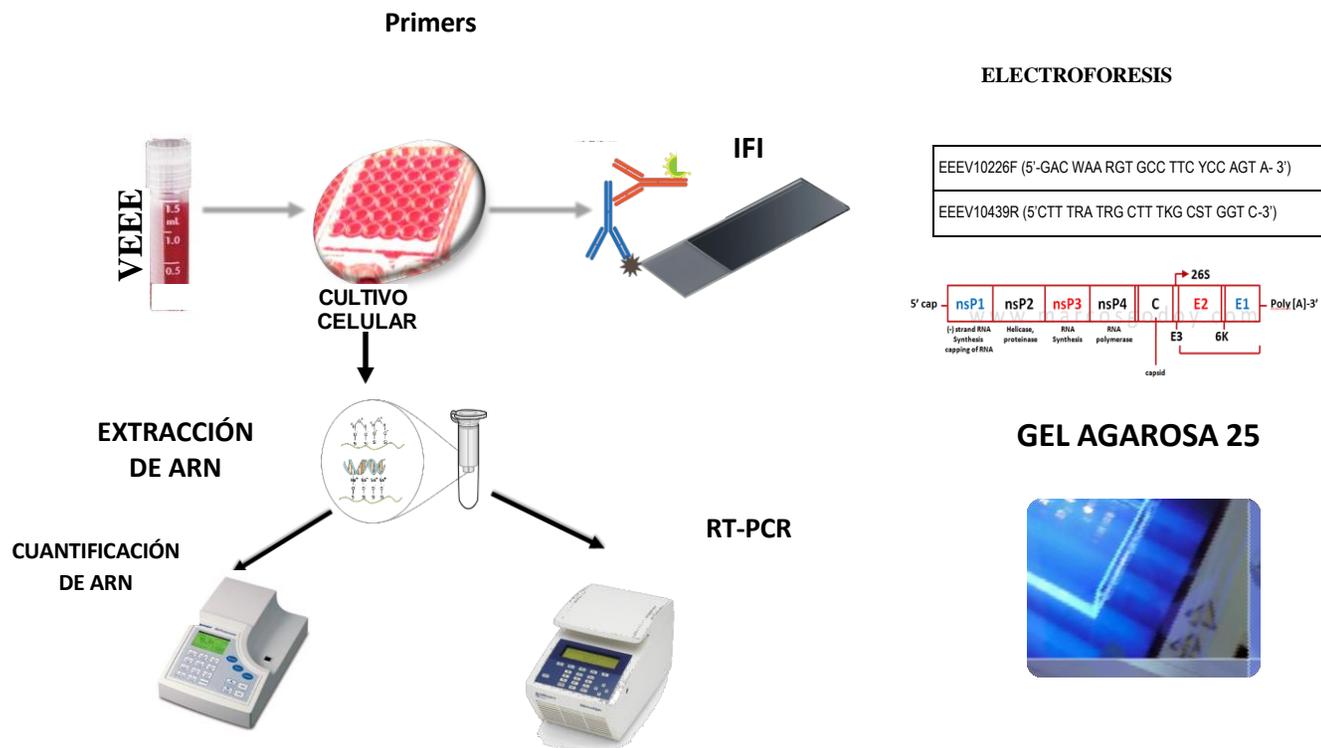
1. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Ciudad Universitaria, Caracas. 2. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Ciudad Universitaria, Caracas, Venezuela. Gerencia Sectorial de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica, Laboratorio de Aislamiento Viral. kristy_nat2@hotmail.com, kristheldealmeida@gmail.com

La encefalitis equina es una enfermedad producida por varios virus, entre ellos los pertenecientes al género *Alphavirus*, como el Virus de Madariaga (MADV) y el Virus de Encefalitis Equina del Este (VEEE). Ambos mantienen ciclos enzoóticos y esporádicamente generan focos epizooticos, caracterizados por tener altos índices de mortalidad en equinos, siendo capaces de afectar a humanos. MADV se mantiene circulante en Venezuela, lo cual constituye un potencial problema de salud pública, que requiere mantener una vigilancia epidemiológica activa.

Este estudio tiene como finalidad estandarizar la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección del Virus Encefalitis Equina del Este (VEEE) y Virus de Madariaga (MADV).

METODOLOGÍA

Se cultivó la cepa quimérica VEEE0188, en células VEROATCC. El aislamiento viral se confirmó por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). La técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) se llevó a cabo amplificando un segmento de 213 pb de la subunidad 26S. Se titularon las concentraciones de reactivos de la PCR para la determinación de las condiciones óptimas, y se realizó el análisis de un rango de temperatura (53°C- 63°C) para establecer la temperatura de alineamiento (Ta). Se evaluó la sensibilidad analítica y la especificidad de la técnica frente a otros Arbovirus.



RESULTADOS

Se aisló la cepa viral EEEV0188 en cultivos de células Vero ATCC, lo cual se evidenció mediante la observación de efecto citopático (ECP) en células infectadas, confirmándose mediante el empleo de la técnica IFI. Figura 1.

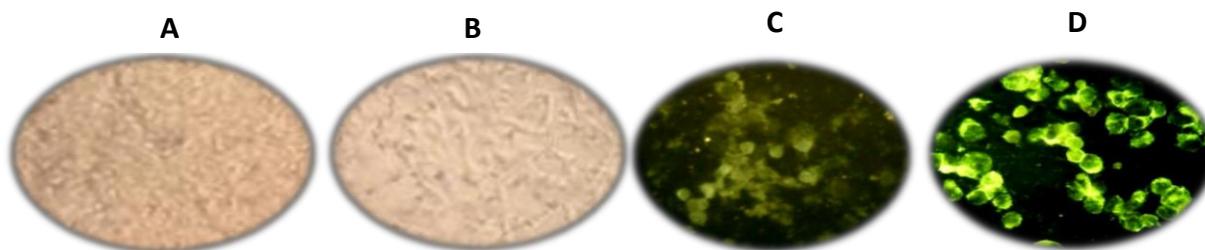


Figura 1. Cultivos en la línea celular Vero ATCC e IFI.- A. Monocapa celular de células Vero ATCC. B. Cultivos de células Vero ATCC inoculados EEEV 0188. C. IFI, control celular D. IFI de células infectadas.

Se logró la estandarización de la técnica al establecer temperatura de alineamiento de 55°C (Figura 2.); 0,6pmol/μL de primers; 1,5mM de MgCl₂ y 0,05U/μL de Taq en 50μL de reacción. Figura 3.

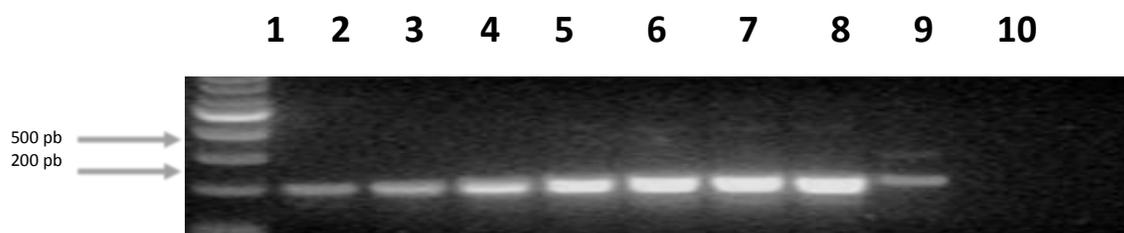
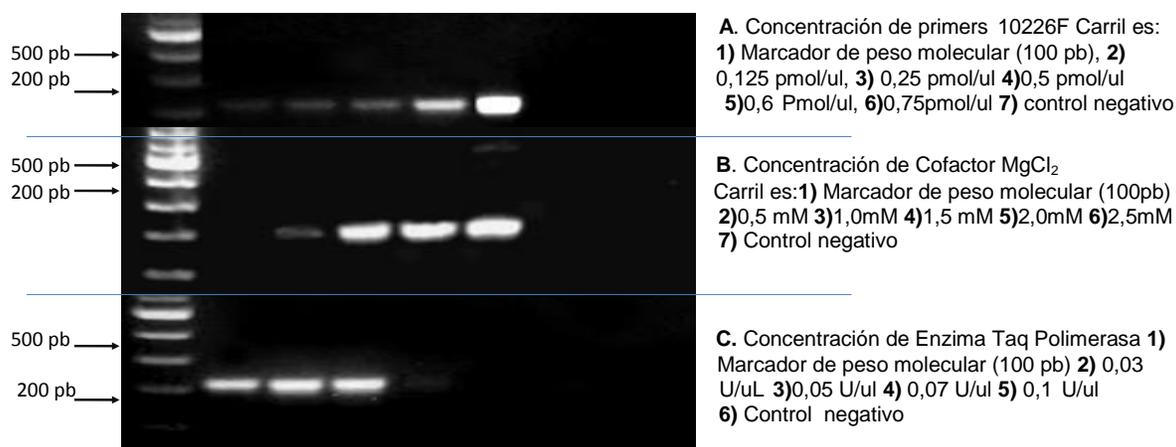


Figura 2. Titulación de concentración de reactivos de la RT-PCR. Carriles: 1 Marcador de peso molecular (100 pb), 2) 53,0 °C, 3) 53,6 °C, 4) 55,0 °C, 5) 56,9 °C, 6) 59,3 °C, 7) 61,3 °C, 8) 62,4 °C, 9) 63 °C, 10) control negativo.

Figura 3. Titulación de concentración de reactivos de la RT-PCR.



Se comprobó la especificidad de los primers para los virus estudiados, obteniéndose una concentración mínima detectable: 0,48 ng/μL. Figura 4.

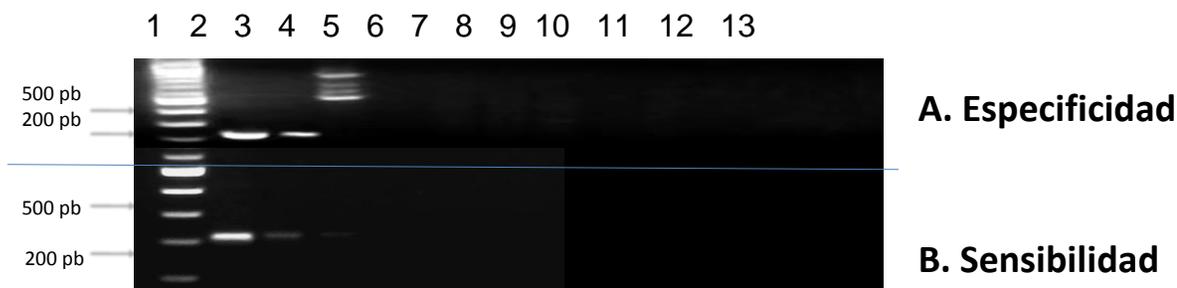


Figura 4. Especificidad y sensibilidad. A. Especificidad, Carriles: 1) Marcador de peso molecular (100 pb), 2) Quimera 0188 VEEE/MADV, 3) control positivo MADV INIA N° 237234, 4) VEEV 5) Virus de Chikungunya., 6) Virus Mayaro, 7) Virus Oropouche., 8) Virus Zika, 9) Virus Dengue 10) Virus de Fiebre Amarilla, 11) Cepa Virus San Luis, 12) Virus del Nilo Occidental, 13) control negativo **B. Sensibilidad,** Carriles: 1) Marcador de peso molecular (100 pb), 2) muestra pura, 3) dilución 10-1, 4) dilución 10-2, 5) dilución 10-3, 6) dilución 10-4, 7) dilución 10-5, 8) dilución 10-6, 9) control negativo.

DISCUSIÓN

La T_a óptima elegida a 55 °C cumple con una diferencia menor a 5°C con respecto a temperatura de melting para los primers 10226F y 10439R, lo que contribuye a un rendimiento óptimo de la PCR, asimismo la selección de 1,5 mM como concentración ideal de MgCl₂, disminuye la aparición de bandas inespecíficas, ambos parámetros elegidos coinciden con el protocolo ICA 2017. La concentración de primers (0,6 pmol/μl) aumentó la probabilidad de detección de bajas concentraciones virales (2). La concentración de la enzima Taq polimerasa seleccionada fue de 0,05U/μL permitiendo un ahorro de esta con respecto al protocolo original (1). La RT-PCR estandarizada es específica para VEEE y MADV, logrando discriminar entre nueve arbovirus, además de demostrar que es una prueba sensible, al definir como valor mínimo detectable 0,48 ng/μL para obtener un resultado positivo.

CONCLUSIÓN

Se estandarizó la RT-PCR para la detección de VEEE y MADV, demostrando ser una técnica específica y sensible, la cual constituye una herramienta de gran importancia en el diagnóstico diferencial de las arbovirosis en Venezuela.

REFERENCIAS

1. <https://portal.ica.gov.co/DocManagerSwift/User/HTMLServe.ashx?E=F286B18A1357D377E8F276410B44FAFE&PE=09C57DA5BE145FF5637DEA2CFC93475C&S=40&P=False&R=2007264752>.
2. Reyes J, Vietri M, Rivas A, Lares M. Estandarización de la Técnica de PCR para la Detección de ADN de Leishmania sp. en Muestras de Sangre de Caninos. Scielo. 2015. Diciembre.
3. Paz A, Sánchez M, Rosario D, Quiroz E. A generic nested-RT-PCR followed by sequencing for detection and identification of members of the alphavirus genus. Journal of Virological Methods - ELSEVIER. 2001. Marzo (Pág. 153-157).

- **Estudio retrospectivo de la casuística de muerte súbita en caballos en Almonte-Huelva, Andalucía, España**

Morales-Briceño A¹, Méndez-Sánchez A¹, Brewer K², Thomas Tobin³

¹Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba Universidad de Córdoba, España. ²1711 Lakefield North Court, FL Wellington FL 33414 USA. ³The Maxwell H. Gluck Equine Research Center, University of Kentucky, Lexington, KY 40546 USA. aamorales13@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La tradicional Romería en Almonte-Huelva, Andalucía, España, comienza el domingo antes de Pentecostés, con peregrinos procedentes de toda Andalucía, y de otras regiones de España y Europa, viajando de uno a siete días antes, ya sea a pie, a caballo o en carruajes de caballos. Este largo recorrido por los équidos representa un ejercicio de alto esfuerzo, elevada intensidad y de larga duración y, como consecuencia, muchos caballos, burros y mulas desarrollan episodios de epistaxis, hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio (EIPH) e incluso muerte súbita. Se plantea como objetivo un estudio retrospectivos de los casos de muerte súbita en caballos entre el periodo 2012- 2016 en Almonte-Huelva, Andalucía, España.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de los casos de muerte súbita durante el periodo 2012-2016, en Almonte-Huelva, Andalucía-España. Se le practicó la técnica de necropsia y se colectaron muestras para estudio histopatológico.



Figura 1. Peregrinos a caballos y en carruajes en la tradicional Romería en Almonte-Huelva, Andalucía, España.
Figura 2. Caballo Pura Española de carruaje, que presentó síndrome del caballo exhausto y muerte súbita.

RESULTADOS

La mortalidad en équidos asociada a muerte súbita y hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio fue de 0.5% (11/2000) para el año 2012, 0.7% (23/2900) para el año 2013, 0.4% (13/3100) para el año 2014, 0.2 (8/3450) para el año 2015 y por ultimo para el año 2016 fue de 0.1 (5/3300).

Los hallazgos macroscópicos fueron epistaxis en el 60% de los casos, ruptura de arterias bronquiales segmentales, y hemotórax masivo severo y edema pulmonar agudo. Hemorragia petequeial a difusa en parénquima pulmonar.

Los resultados histológicos evidenciaron edema pulmonar agudo, hemorragia pulmonar difusa masiva, por ruptura arterias bronquiales segmentales, arteriolas y capilares. Es importante considerar que ninguno de los équidos estudiados fue medicado previamente.

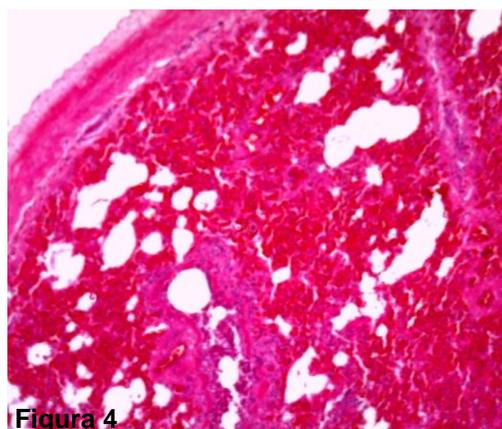
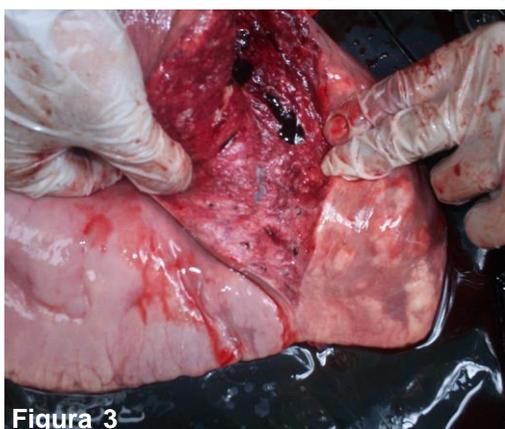


Figura 3.- Caballo Pura Raza Española, que presento muerte súbita, se observa hemorragia pulmonar masiva por ruptura de arterias bronquiales segmentales.

Figura 4.- Corte histológico de pulmón (caballo), se observa hemorragia pulmonar difusa y masiva en el espacio subpleural y parénquima pulmonar. (H&E, 10X).

CONCLUSIÓN

En conclusión se describe la casuística de muerte súbita asociada a hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio en caballos no medicados durante los años 2012-2016 en Almonte-Huelva, Andalucía, España.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por The National Horsemen's Benevolent and Protective Association and the Alabama, Arizona, Arkansas, Canada, Charles Town (West Virginia), Florida, Iowa, Indiana, Kentucky, Louisiana, Michigan, Minnesota, Nebraska, Ohio, Oklahoma, Ontario (Canada), Oregon, Pennsylvania, Tampa Bay Downs (Florida), Texas, Washington State, and West Virginia Horsemen's Benevolent and Protective Associations and the Florida Horsemen's Charitable Foundation, the Oklahoma Quarter Horse Racing Association and the Neogen Corporation. The continuing support of the Director, Faculty of the Gluck Equine Research Center, the University of Kentucky Gluck Equine Research Foundation, the administration of the College of Agriculture and the University of Kentucky are gratefully acknowledged.

REFERENCIAS

1. Morales Briceño A, Mendez Sanchez A, Brewer K, Galley R, Hughes C, Tobin T. Increased incidence of sudden death associated with exercise induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in horses racing at altitude in Venezuela. Proceeding ICRAV Mauritius, 2014.
2. Morales A, Mendez A, Brewer K, Hudges C, Tobin T. Sudden death, aortic rupture in horses, literature review, case studies reported and risk factors. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. Sao Paulo, 52; 4, 2015.

• **Hemangiosarcoma Renal en una Perra Mestiza: Caso Clínico**

Méndez Briñez O¹; Labrador Jelambi S²; Morales Briceño A³; Moya Acosta M³; Suniaga Pino E³

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Consultorio Veterinario “Labrador” Dto. Capital. ³Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” olivermendez58@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El Hemangiosarcoma (HSA), es una neoplasia maligna que se origina del endotelio vascular, siendo de mayor incidencia en el perro sobre otras especies, afectando a perros de edad avanzada. Puede aparecer en cualquier zona, pero con mayor incidencia en bazo, aurícula derecha, tejido subcutáneo/dérmico e hígado. Macroscópicamente se presentan con una apariencia hemorrágica de gris a rojo negruzco y alcanzan hasta 30 cm de diámetro. Suelen hacer metástasis, especialmente a pulmón. Las neoplasias renales son raras en perros y representan menos del 1,7 % del total de las neoplasias en esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

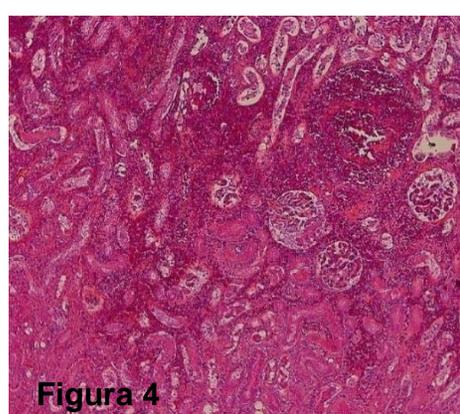
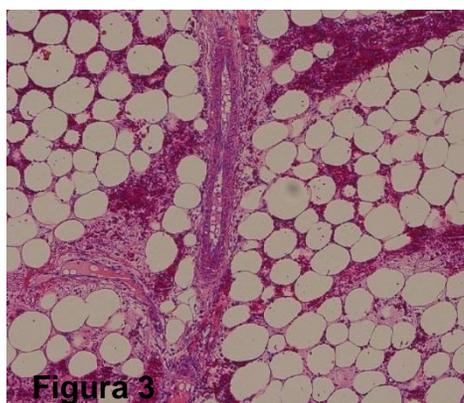
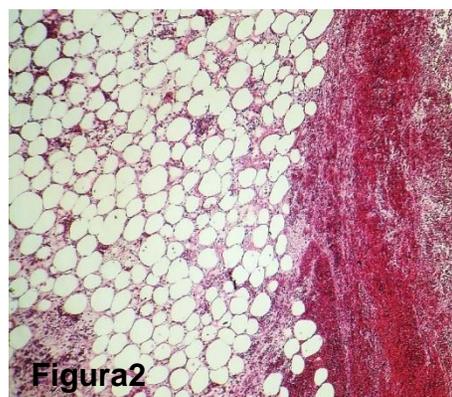
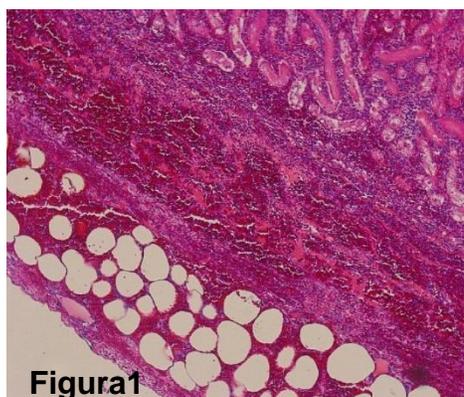
Perra mestiza, completa, de 13 años de edad asiste a consulta veterinaria presentando decaimiento, anorexia, fiebre, poliuria, polidipsia, hematuria y dolor a la palpación abdominal, es hospitalizada y fallece de forma natural posterior a un ataque convulsivo. Se procede a realizar la necropsia y se observó el riñón derecho con nefromegalia, tumefacto, friable a la palpación, de color rojo grisáceo y hemorrágico, se tomaron las muestras correspondientes, se fijaron en formalina al 10%, se procesaron por los métodos convencionales histológicos, se tiñeron con H&E y se observaron al microscopio óptico en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”.



Figura 1. Riñones del paciente fijados con Formalina al 10%. Se observa el riñón derecho (RD) con nefromegalia, hemorrágico y de color grisáceo. El riñón izquierdo (RI) se encontraba dentro de los parámetros normales para la talla del animal. **Figura 2.** Realización de los cortes histológicos con el micrótopo rotatorio del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”.

RESULTADOS

Los cortes histológicos evidenciaron una proliferación de células endoteliales con un patrón capilar de manera difusa e invasiva hacia el parénquima del órgano, hemorragia intersticial y glomerulonefritis generalizada.



CONCLUSIONES

Los signos clínicos junto a los hallazgos macroscópicos e histológicos son consistentes con un hemangiosarcoma renal, siendo esta localización muy poco frecuente así como la presentación de este tipo de tumor maligno en el riñón. El clínico veterinario en la actualidad debe apoyarse de diversos estudios complementarios, cuando se presentan este tipo de pacientes, con el fin de diferenciar afecciones locales o sistémicas y así emplear un terapia adecuada a tiempo.

REFERENCIAS

1. Cobian B, Arnaud G, Barajas I. Hemangiosarcoma y Enfermedad Renal Crónica en una Perra Labrador Hipotiroidea. [Documento en línea], Disponible: <http://www.vanguardiaveterinaria.com.mx/hemangiosarcoma-y-enfermedad-renal-> [Consulta: 2017, Agosto 21].
2. Del Castillo N, Del Portillo I. (2014). Revisión del Hemangiosarcoma Canino. [Documento en línea], Disponible: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/10415/articulos-archivo/revision-del-hemangiosarcoma-canino.html> [Consulta: 2017, Agosto 21].
3. Jubb, Kennedy and Palmer's. (2007). Pathology of Domestic Animals. Vol 2. 5th Edition. Elsevier.
4. Weinborn R, Issotta C, Agurto M, Lara J. (2015). Descripción clínica de hemangiosarcoma (HSA) cutáneo metastásico en un canino galgo: estudio clínico de un caso. Rev. Med. Vet. N°30 107-116.

- **Hepatopatía Lipídica en una Rata Wistar Kioto: Caso Clínico – Patológico**

Álvarez Duarte M¹, Morales Briceño, A²; Moya Acosta, M²; Esteves, C²; Suniaga, E²

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias ²Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"
mari.232.60@gmail.com

INTRODUCCIÓN: Las degeneraciones hepáticas pueden ser producidas por múltiples factores: genéticos, por ingestión continua de alimentos contaminados con hongos (principalmente las micotoxinas), infección por virus de hepatitis, ingesta de dietas altas en proteínas, carbohidratos, lípidos e idiosincrasia del animal.

OBJETIVO: El objetivo de este trabajo fue estudiar los factores de riesgo que pueden inducir alteraciones de los hepatocitos y de la función hepática.

METODOLOGÍA: Se practicó examen clínico, eutanasia, necropsia y toma de muestra a una rata macho de la cepa Wistar Kyoto. Las muestras fueron fijadas en formol al 10%, procesadas por los métodos convencionales histopatológicos, teñidas con H&E y observadas al microscopio óptico.



Figura 1: Rata luego del examen clínico y eutanasia, y previa a la necropsia.



Figura 2: Hígado de rata

RESULTADOS

Los hallazgos clínicos fueron pelo hirsuto, mucosas pálidas y baja condición corporal. Macroscópicamente se observó hepatomegalia, con patrón lobulillar, con un tono ligeramente pálido casi amarillento. El resto de los órganos no evidenciaron lesiones significativas. Los cortes histológicos de hígado evidenciaron hemorragia hepática difusa, degeneración lipídica microvesicular intracitoplasmática confluyente en los hepatocitos, también se observó una marcada hiperplasia ductal biliar (+ 5 por campo).

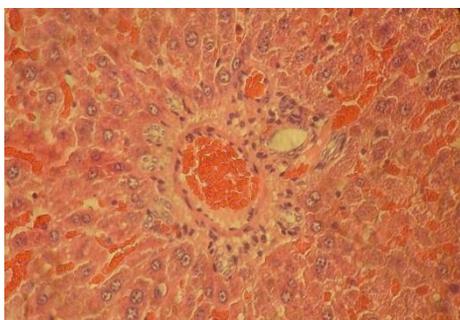


Figura 3: Hígado, triada portal con gran cantidad de conductos hepáticos.

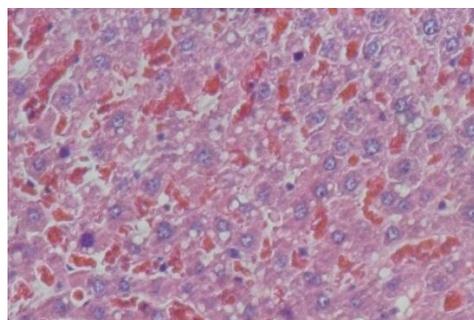


Figura 4: Hígado, parénquima con formación de vacuolas lipídicas.

CONCLUSIONES

Los hallazgos clínicos, macroscópicos e histopatológicos son sugestivos de una hepatopatía lipídica severa. Múltiples factores pueden estar asociados a este cuadro clínico-patológico, tales como presencia de hongos que producen micotoxinas o el pienso del alimento que se suministra a los animales. Se debe considerar la calidad nutricional del alimento, puesto que si se suministran alimentos con diferentes requerimientos nutricionales generalmente se ve afectado el hígado, en especial por alimentos altos en grasas. Se recomienda evaluar de manera estratégica la calidad del alimento, así como el proceso de almacenamiento de alimentos. Por último establecer herramientas de diagnóstico clínico-patológico que garanticen una identificación precoz de alteraciones hepáticas nutricionales en animales de experimentación, para establecer medidas correctivas.

REFERENCIAS

1. Janet. I Clifford y K. R. Rees. La acción de aflatoxinas B1 en el hígado de ratas. Disponible en: <http://www.biochemj.org/>. Revisado 3/08/2017.
2. Alberto Gimeno y María Ligia Martins. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. 2766SW Douglas Road. Miami FL33133 USA. Tercera edición (2011).
3. I, Ayala, P. Camara, J. Fernández-Pardo. Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. Disponible en: <http://revistas.um.es/>. Revisado 3/08/2017.

- **Impacto de factores ambientales seleccionados sobre la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Andalucía y Extremadura, España**

Morales-Briceño A¹, Méndez-Angulo J.L², Méndez-Sánchez A¹, Pérez-Arévalo J¹

¹Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba Universidad de Córdoba, España. ²Hospital Equino de Aznalcóllar, Sevilla, España.

aamorales13@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este estudio fue estimar el efecto de factores ambientales seleccionados sobre la deformación del borde dorsal del cuello en caballos en Andalucía y Extremadura, España.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se caracterizó el grado de deformación del cuello, diámetro del cuello, largo del cuello, peso, actividad atlética, lugar, alimentación, manejo e instalaciones, en 186 explotaciones en Andalucía y Extremadura. Se realizó un análisis estadístico descriptivo y se estimó el coeficiente de correlación entre el grado de deformidad y los factores ambientales (manejo, alimentación, altitud comederos y actividad atlética).



Figura 1. Caballo Cruzado/Lusitano, con deformación del borde dorsal del cuello (Grado 3). **Figura 2.** Medidas morfológicas del diámetro del cuello. **Figuras 3, 4, 5, 6.** Factores ambientales seleccionados (alimentación, manejo, altitud comederos, intensidad ejercicio).

RESULTADOS

La deformación del borde dorsal del cuello, se observó en 409/4651 caballos, aproximadamente 9%. Se observó mayor número de caballos con deformidad en Andalucía 73%, mientras que en Extremadura 27%. En cuanto al tipo de manejo 54% de los caballos, son manejados por un sistema tradicional, mientras que el 46% son manejados por un sistema tecnificado. La alimentación exclusiva a base de pienso concentrado se observó en 19%, mientras que a base solo de forraje un 42%, la alimentación combinada pienso y forraje 39%. El grado de deformidad en relación a la alimentación exclusiva con pienso mostro un nivel de correlación positivo de 0.058. Estos resultados sugieren que la alimentación a base de pienso, comederos con una altitud 100-160cm., con baja actividad atlética presentan una alta asociación al desarrollo de la deformación del borde dorsal del cuello.

CONCLUSIONES

En conclusión los resultados evidencian que algunos factores ambientales seleccionados (alimentación, manejo, instalaciones y ejercicio) pueden influir de manera directa sobre la deformación del borde dorsal del cuello en el caballo.



Esquema N° 1. Factores que influyen directamente sobre la deformación del borde dorsal del cuello en caballos y parénquima pulmonar.

REFERENCIAS

1. Morales A, Escamilla Sánchez A, Méndez Sánchez A, Méndez J, Pérez Arévalo J. 2017. Histopathological pattern recognition of cresty neck in horses in Spain. Volumen: Braz J Vet Pathol. 10(1).170-174.
2. Morales Briceño A, Méndez Sánchez A, Méndez-Angulo J, Escamilla-Sánchez A, Pérez-Arévalo J. 2017. Diagnostic tools for the study of the cresty neck in horses. Intern J Appl Res Vet Med. 15:1. 52-60.

• **Inducción de la Fase Proliferativa en Úteros de Rata Impúberes Cepa Sprague Dawley (Índice De Mcphail)**

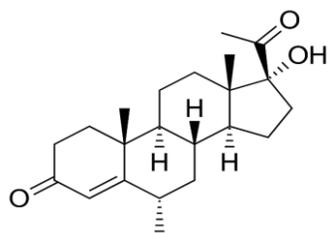
Segovia-Viloria, O¹; Morales-Briceño, A⁴; Álvarez-Duarte, M²; Solarte-Atacho, E³; Marcano-Díaz, A¹; Méndez-Briñez, O²; Suniaga, E¹; Rengel, L¹.

Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" – Departamento de Farmacotoxicología y Departamento de Patología¹. Universidad Central de Venezuela – Facultad de Ciencias Veterinarias². Universidad de Los Andes – Facultad de Farmacia y Bioanálisis³. Universidad de Córdoba – Facultad de Veterinaria - Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada⁴.

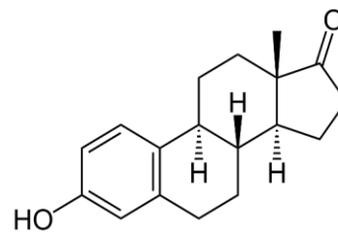
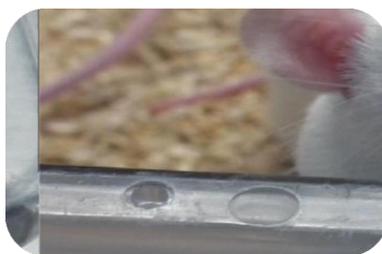
INTRODUCCIÓN

La progesterona y estrógeno son hormonas endógenas que intervienen en el desarrollo del útero de los mamíferos. Cuando son empleadas de forma terapéutica se emplea principios activos sintéticos similares a estas hormonas, con el fin de corregir el defecto o patología que se presenta.

El fundamento es demostrar de manera experimental el efecto de las hormonas Inducción de la fase proliferativa en úteros de rata impúberes cepa Sprague Dawley, fundamentados en los estudios realizados por Clauberg quien describió los cambios histológicos en el endometrio de conejos pretratados con estrógeno y después de la administración de progesterona, esta prueba fue estudiada más a fondo por Butenandt y sistemáticamente examinados por McPhail, quien introdujo los resultados cambios en el endometrio¹⁻⁶.



Medroxyprogesterona



Estrona

Peso de Aparato Reproductivo			
Grupo	n	Ovarios (Media \pm DS mg de ovarios / 100 g)	Úteros (Media \pm DS mg de úteros / 100 g)
Control	4	61.890 \pm 6.061*	53.170 \pm 4.143***
Estrona	4	67.105 \pm 4.331*	437.66 \pm 8.735***
Medroxy progesterona	4	72.778 \pm 4.815*	364.41 \pm 13.238***
Estrona-Medroxy progesterona	4	77.593 \pm 4.815*	455.13 \pm 8.735***
		*P>0.05 no significativo	*** P<0.001 significativo

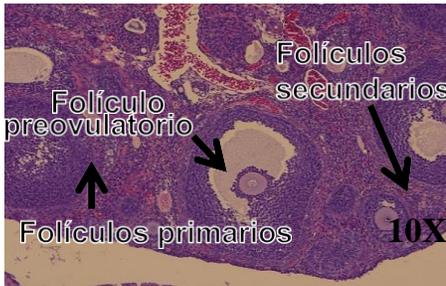


Descripción de los Úteros



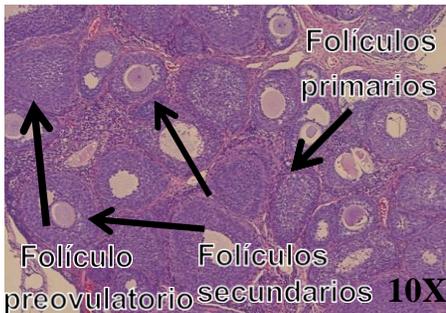
CONTROL PT-184-17: En los cortes histológicos de ovario se evidenció:

- actividad folicular compatible con proestro
 - abundantes folículos primarios
 - presencia de folículo preovulatorio y folículos secundarios
- el ovario se observó una importante cobertura de grasa.



ESTRONA PT-185-17: En los cortes histológicos de ovario no se evidenció cambios patológicos significativos:

- alta actividad folicular compatible con estro
- abundantes folículos primarios y folículos secundarios
- presencia de folículos preovulatorio se observó una importante cobertura de grasa en el ovario.

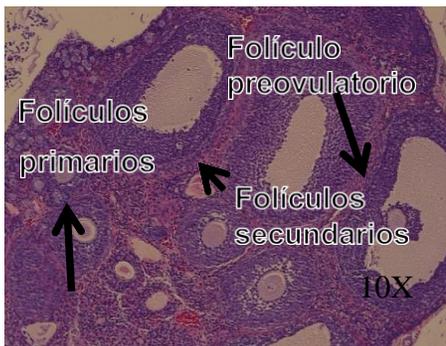


MEDROXIPROGESTERONA PT-186-

17: En los cortes histológicos de ovario no se evidenció cambios patológicos significativos:

- alta actividad folicular compatible con el meta-estro
- abundantes folículos secundarios
- presencia de folículos primarios, folículos preovulatorio

se observó una importante cobertura de grasa en el ovario.

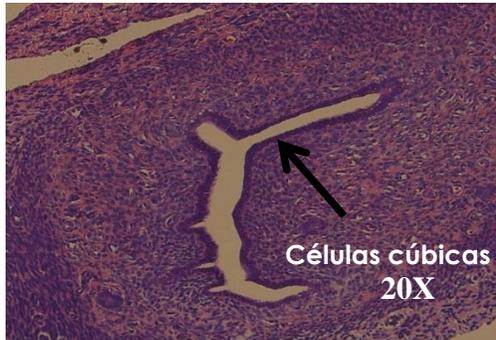


ESTRONA + MEDROXIPROGESTERONA

PT-187-17: En los cortes histológicos de ovario no evidenció cambios patológicos significativos:

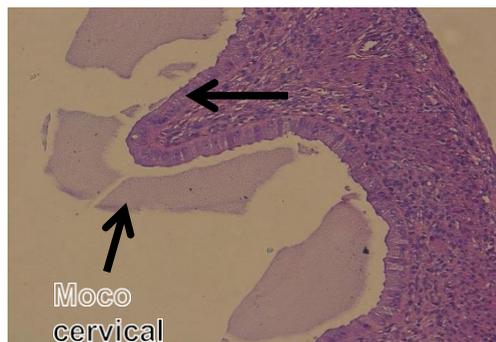
- alta actividad folicular compatible con el estro
 - abundantes folículos secundarios
 - presencia de folículos primarios, folículos preovulatorios
- se observó una importante cobertura de grasa en el ovario.

Descripción de los Ovarios



CONTROL PT-184-17: En los cortes histológicos se evidenció:

- mucosa uterina activa
- escaso contenido de moco
- predominio de células cúbicas previo al estro
- actividad folicular compatible con el pro-estro



ESTRONA PT-185-17: En los cortes histológicos de útero tratado con Estrona se evidenció:

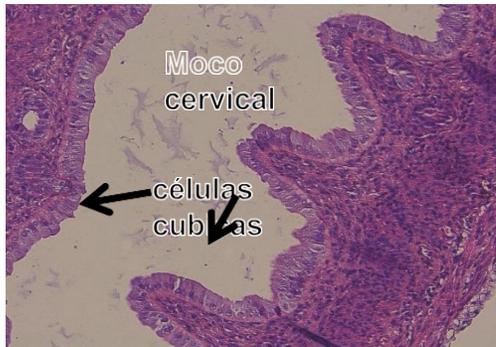
- mucosa uterina activa
- abundante contenido de moco
- predominio de células cubicas desarrolladas
- actividad folicular compatible con el estro



MEDROXIPROGESTERONA

PT-186-17: En los cortes histológicos de útero se observó:

- mucosa uterina activa
- contenido de moco
- moderadas células cúbicas
- actividad folicular compatible con el meta-estro.



ESTRONA + MEDROXIPROGESTERONA PT-187-17: En los cortes histológicos de útero se observó:

- mucosa uterina activa
- abundante contenido de moco
- abundantes células cubicas actividad folicular compatible con el estro

OBJETIVO

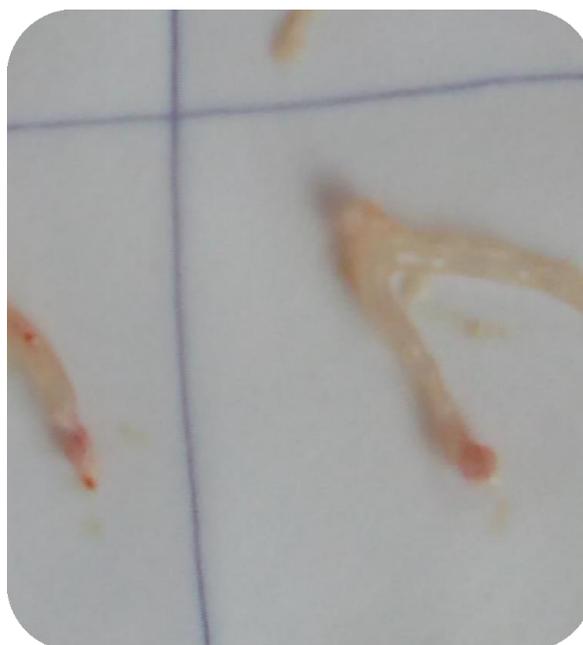
Estudiar los cambios macroscópicos y microscópicos productos de la inducción de hormonas gonadotropicas en ratas impúberes Sprague Dawley.

METODOLOGÍA

Se dispuso de 4 grupos de experimentales de ratas impúberes Cepa Sprague Dawley entre 40-60 g a los cuales se les administro: 1. Control, 2. Estrona (50 U.I/100 g p.c) 3. Medroxyprogesterona (25mg/Kg p.c.) 4. Estrona-Medroxyprogesterona (50 U.I/100 g p.c) / 25 mg/Kg p.c.), por vía subcutánea por 3 días consecutivos, donde al 4 día se le realiza eutanasia por dislocación cervical, procediendo a la extracción y pesada de los cuernos del úteros y ovarios colocándolos en Formol al 10% y remitido a Patología para los estudios microscópicos.

RESULTADOS

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los pesos de los órganos de animales tratados comparado con el control. En los animales tratados solamente con Estrona presentaron ramificación de la mucosa uterina, sin proliferación y las tratadas: Estrona- Medroxyprogesterona y Medroxyprogesterona presentaron proliferación media a pronunciada de la mucosa del útero y ramificación adicional con respecto a los controles.



CONCLUSIONES

Finalmente estos resultados son similares a los obtenidos en conejas impúberes por McPhail, por lo tanto podríamos sustituir el animal en este ensayo.

REFERENCIAS

1. Clauberg C (1930 a) Der biologische Test für das Corpus luteum- Hormon. *Klin Wschr* 9:2004–2005
2. Clauberg C (1930 b) Das Hormon des Corpus luteum. *Zentralbl Gynäkol* 54:7–19
3. Clauberg C (1930 c) Experimentelle Untersuchungen zur Frage eine Mäusetestes für das Hormon des Corpus luteum. *Zentralbl Gynäkol* 54:1154–1164
4. Clauberg C (1930 d) Zur Physiologie und Pathologie der Sexualhormone, im besonderen des Hormons des Corpus luteum. 1. Mitteilung: Der biologische Test für das Luteohormon (das spezifische Hormon des Corpus luteum) am infantilen Kaninchen. *Zentralbl Gynäkol* 54:2757–2770
5. Butenandt A, Westphal U, Hohlweg W (1943) Über das Hormon des Corpus luteum. *Hoppe-Seyler's Zeitschr Biol Chem* 227:84–98

● **Neumonitis intersticial en un Ratón (NIH): caso Clínico-patológico**

Brito-Mendoza Y¹, Morales Briceño A^{1 2}, Moya Acosta M¹³, Esteves C¹, Suniaga E.¹

¹Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel» Caracas Venezuela. ²Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. De Madrid Km 396, 14071 Córdoba Universidad de Córdoba, España.

³Instituto de Medicina Experimental «Dr. José Gregorio Hernández Facultad de Medicina UCV». 4 Instituto de Oncología y Hematología, Caracas Venezuela.

yonelsi_b@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La Neumonitis Intersticial es una enfermedad multifactorial que afecta a los animales de laboratorio a nivel mundial, produciendo daños a nivel del intersticio pulmonar, comprometiendo las vías aéreas inferiores. Factores físicos, químicos y biológicos incrementan la susceptibilidad a las enfermedades, desencadenando un proceso inflamatorio con fibrosis y muerte del animal. Se plantea como objetivo describir un caso de neumonitis intersticial en un ratón (*Mus musculus*)., cepa NIH.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se le practicó la técnica de necropsia, fueron colectadas muestras pulmón, las mismas fueron fijadas en formol al 10%, se procesaron por los métodos convencionales histológicos, se tiñeron con H&E y se microscopio óptico. Las lesiones macroscópicas observadas fueron: neumonitis intersticial difusa, adherencia de lóbulos pulmonares caudo-dorsales, hemorragia petequial, con áreas de necrosis de coagulación. Los cortes histológicos de pulmón evidencian una proliferación intersticial difusa caracterizada por un infiltrado inflamatorio mixto mononuclear linfocitario y plasmocitario, así como áreas de congestión y hemorragia.



Figura 1. Ratón cepa NIH con signos de dolor, pelo hirsuto.

Figura 2. Evaluación de pulmón con neumonitis intersticial.

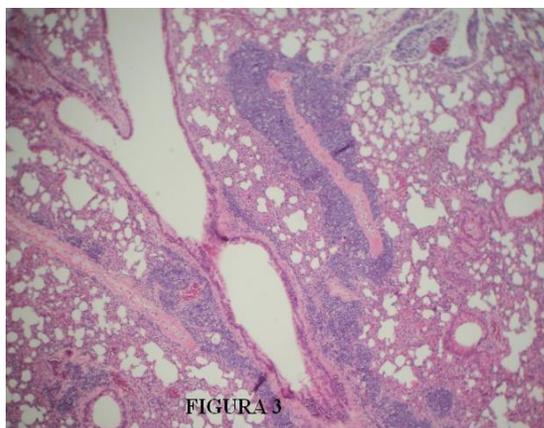


Figura 3. Infiltrado inflamatorio a nivel del intersticio.

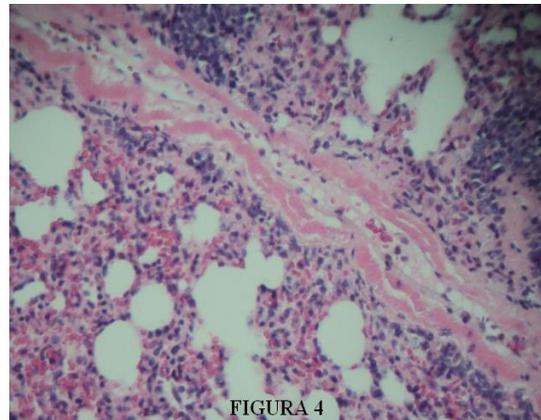


Figura 4. Infiltrado mixto de tipo mononuclear linfocitario y plasmocitario

Los hallazgos clínicos, macroscópicos e histológicos son sugestivos de una neumonitis intersticial difusa, es necesario considerar un patrón clínico-histológico para estandarizar las lesiones pulmonares, así como el diagnóstico precoz de este tipo de patologías.

RECOMENDACIONES

Podemos sugerir mejorar el ambiente haciendo énfasis en las variables de temperatura y humedad, establecer medidas de manejo como incrementar los cambios de cama, cernir y esterilizar lecho sanitario, realizar revisiones periódicas de los controladores de temperatura y humedad, control sanitario.

REFERENCIAS

1. Trigo, F. (1998). Patología Sistémica Veterinaria. Mc Graw-Hill Interamericana.
2. Timothy, P. (1999). ALAT Manual de Entrenamiento. Asociación Americana de las Ciencias del Animal de Laboratorio.

- **Prevalencia de lesiones del cérvix uterino asociadas al VPH y su correlación con la carga viral en los genotipos VPH-16/18, en pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante el periodo 2010-2013. Caracas - Venezuela**

Ramírez Orduz J D¹, Gudiño Sánchez E A¹, Aguilar Mejías MS¹.

1 Laboratorio de Programas Especiales (Hepatitis y SIDA). Departamento de Virología. Gerencia Sectorial de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica. jesus.ramirez@inhrr.gob.ve

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por Virus del Papiloma Humano (VPH) representan una de las infecciones de transmisión sexual más comunes en la mayor parte del mundo. En los últimos años se ha podido identificar más de 200 tipos de VPH; sin embargo uno de los mayores intereses esta en los tipos de VPH que están asociados con el carcinoma de cuello uterino y con otros tumores del tracto genital y perianal masculino como femenino. El carcinoma de células escamosas del cérvix surge de las lesiones escamosas intraepiteliales (LIE). Dependiendo de la intensidad y espesor de estos cambios epiteliales el LIE es clasificado en dos subgrupos designados como Lesiones intraepiteliales de bajo grado (LIEbg) y lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEag). LIEbg (VPH y/o NIC-I), infección activa producida por algunos de los tipos de VPH, frecuentemente asociados al tracto genital femenino y LIEag (NIC-II, NIC-III), a genotipos restringidos de VPH, usualmente VPH 16 y VPH 18. Frecuentemente, las LIEbg regresan ó persisten, mientras que la mayoría de los LIEag progresan a neoplasia cervical^{1, 2}.

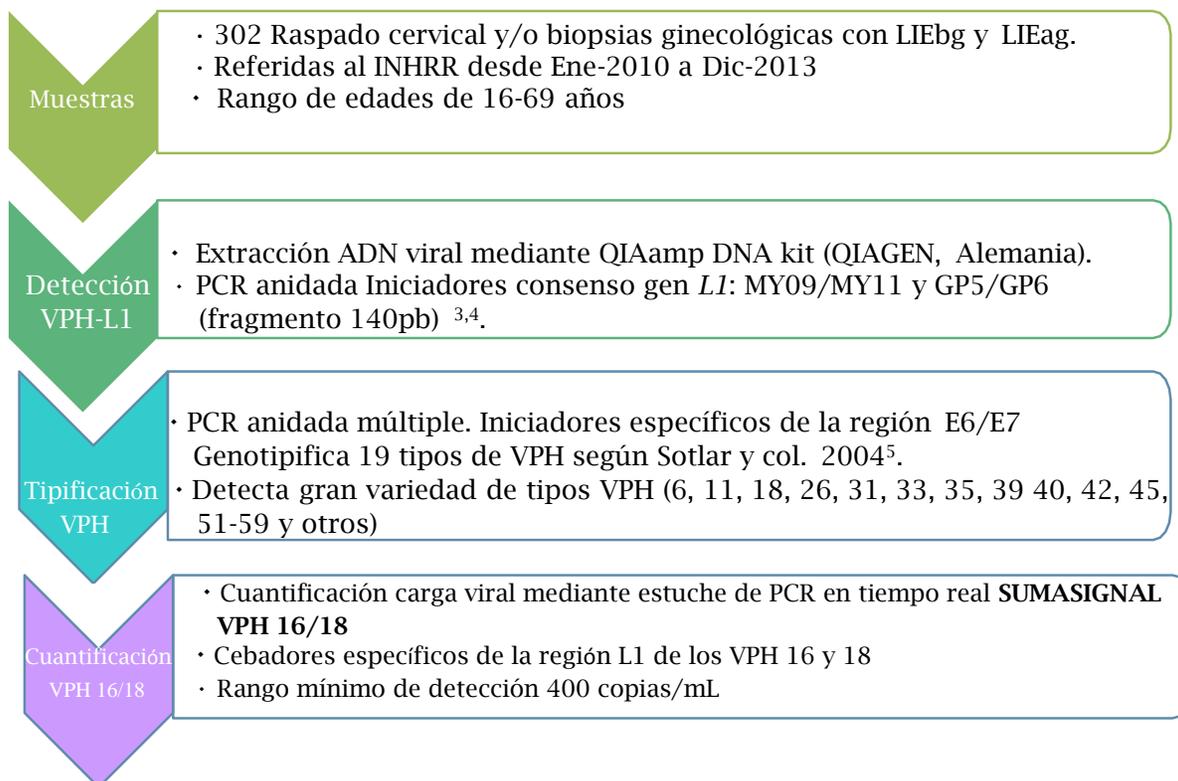
La determinación de la carga viral se ha convertido en una necesidad debido a que los diferentes estudios realizados indican que un alto número de copias de ADN viral, o al menos de VPH del tipo 16, está relacionado con el incremento en el riesgo del desarrollo de una lesión cervical asociada a VPH.

En Venezuela, el VPH constituye un problema de salud pública, encontrándose un 54,7% de casos positivos entre 2010-2013, por tal motivo el Instituto Nacional de Higiene (INHRR), Centro de Referencia Nacional, emplea de rutina la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual posee una sensibilidad y especificidad cercanas al 98% para su detección y tipificación.

OBJETIVO

Conocer la prevalencia de los genotipos de VPH circulantes y relacionar el valor de la carga viral del VPH-16/18 con las lesiones escamosas del cérvix y el riesgo de desarrollar carcinoma invasor.

METODOLOGÍA



El gel de electroforesis muestra control negativo, positivo y resultados positivos para VPH de pacientes (1, 2 y 3)

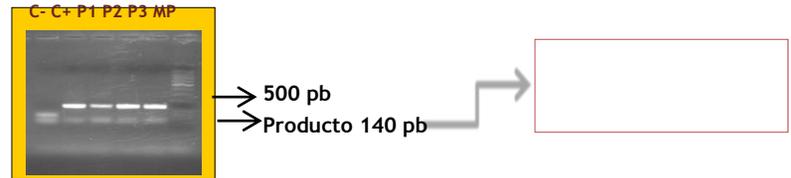


Figura 1. Geles de electroforesis de productos de las reacciones del PCR de L1, así como los fragmentos obtenidos para la detección del Virus del Papiloma Humano (VPH)

Tipificación de VPH a partir del ADN extraído

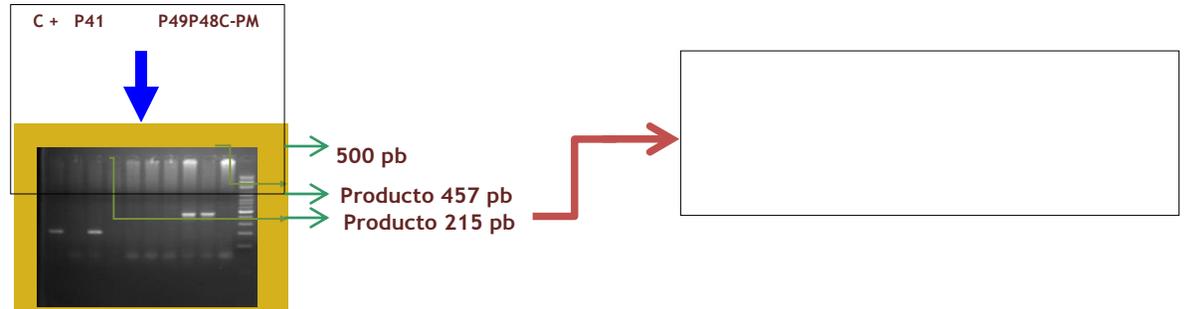


Figura 2. Geles de electroforesis de productos de las reacciones del PCR múltiple, así como los fragmentos obtenidos para la detección y tipificación del Virus del Papiloma Humano (VPH).

RESULTADOS

De las 302 pacientes analizadas, 73 obtuvieron resultado positivo para VPH. 59/73 tenían diagnóstico de LIEbg (81%), 12/73 casos de LIEag (16%) y 2/73 casos de carcinoma (3%) [Tabla 1].

De los 59 casos con diagnóstico de LIEbg, 86% (49/59) de los casos fueron positivos para VPH de riesgo oncogénico bajo (6, 11, 42, 43, 44) y 14% (10/59) para los de riesgo oncogénico alto (16, 18, 33, 51, 68).

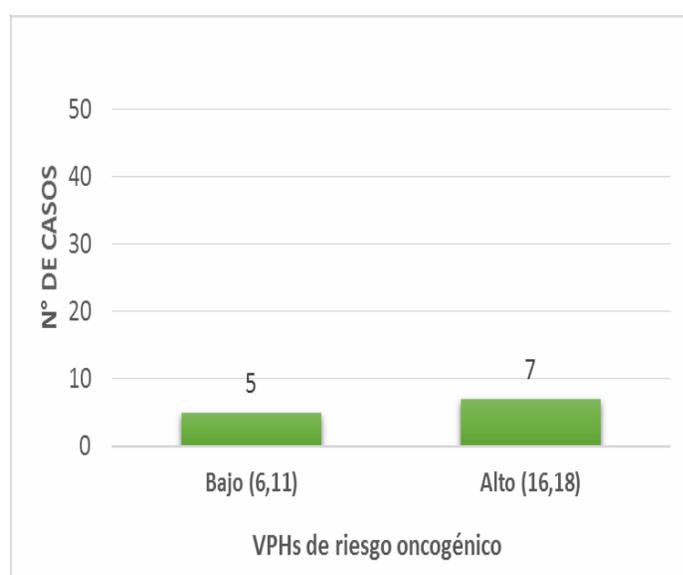
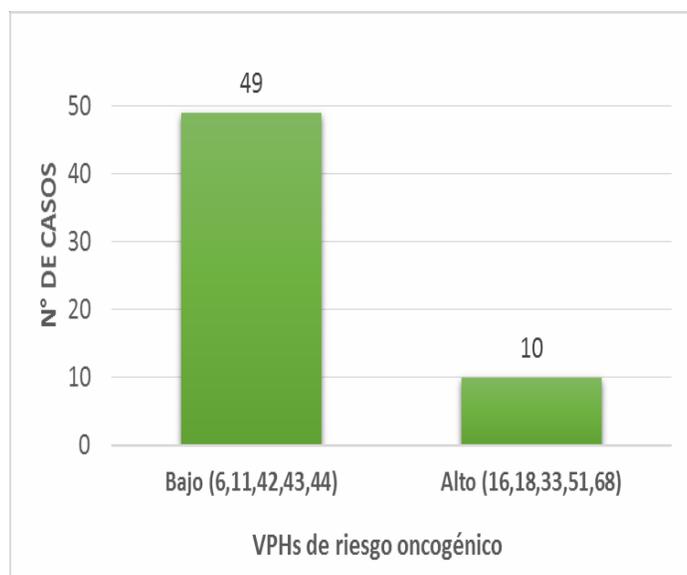
De los 12 casos con diagnóstico de LIEag, 42% (5/12) eran positivos para los VPHs de

bajo riesgo oncogénico (6,11) y 58% (7/12) casos para los de alto riesgo (16,18). En los 2 casos con diagnóstico de carcinoma el 100% fueron positivos para VPH de riesgo alto (16,18), las cuales se encuentra en estudios de análisis de secuencia [Figura 3A Y 3B].

En nuestro estudio los virus de riesgo oncogénico alto (16, 18) son los más frecuentemente implicados en las lesiones escamosas, tanto de bajo como de alto grado, así como en el carcinoma invasor. Así mismo, el tipo viral más frecuentemente implicado en todo tipo de lesiones (bajo, alto grado y carcinoma) fue el 16 que representó un 43% del total.

Se cuantificó la carga viral a 19 muestras de pacientes con VPH de tipo 16 y 18, obteniendo un promedio del valor de carga viral para LIEbg de $2,80 \pm 0,31 \text{ Log}_{10}$, mientras que para LIEag fue de $6,23 \pm 0,81 \text{ Log}_{10}$; finalmente, el valor de carga para los casos de carcinoma se ubicó en $7,25 \pm 0,77 \text{ Log}_{10}$.

Año	LIE de bajo grado	LIE de alto grado	carcinoma	Total
2010	10	0	0	10
2011	12	2	0	14
2012	15	4	1	20
2013	22	6	1	29
Total	59	12	2	73



DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En el presente estudio se obtuvo tipos VPH de alto riesgo tanto en las lesiones de bajo grado como alto grado histológico, por lo que se debe considerar a la técnica de PCR como un método en la valoración de las lesiones intraepiteliales, especialmente en las de bajo grado. En algunas publicaciones se ha puesto de manifiesto que una carga elevada del VPH 16, muchos años antes del diagnóstico de carcinoma, aumenta el riesgo de desarrollarlo⁶. Por tal motivo, se establece la utilidad de identificar el tipo de VPH y su carga viral implicado en las lesiones cervicales.

En conclusión, existe una correlación entre los pacientes de lesiones de alto grado LIEag y carcinoma con los VPH 16,18 y las de bajo grado LIEbg con los VPH 6,11,42,43,44, lo que se relaciona con lo descrito en la literatura. Además, se determinó que de los 19 pacientes cuantificados para VPH 16/18, y las de bajo grado LIEbg con los VPH 6,11,42,43,44, lo que se relaciona con lo descrito en la literatura. Además se determinó que de los 19 pacientes cuantificados para VPH 16/18, los 9 con LIEag y carcinoma presentaron valores de carga viral superior a $6,23\text{Log}_{10}$. Por lo tanto la detección del VPH, tipificación y carga viral deben añadirse a los estudios de rutina tanto en material citológico como histológico, ya que permitiría reducir el número de mujeres referidas a tratamiento o múltiples controles por citologías levemente anormales (ASCUS:cambios atípicos en las células escamosas del cuello uterino que no pueden ser específicamente clasificados) y así mismo predecir con mayor precisión el riesgo potencial de la lesión.

REFERENCIAS

1. National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. JAMA, 1989; 262: 931-4.
2. Report of the 1991 Bethesda Workshop. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diseases. JAMA 1992; 267: 1892.

3. Roda A, *et al.* The use of the general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol* 1995; 76: 1057-62.
4. Manos M, Ting M, Wright D, Lewis A, Broker T, Wolinsky S. Use polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells*. 1989; 7: 209-14.
5. Sotlar, D, y col. Detection and Typing of Human Papillomavirus by E6 Nested Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, July 2004.
6. Ylitalo N, *et al.* Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. 2000. 24;355(9222):2189-93.

- **Teratoma espontaneo en una Rata Wistar**

Morales-Briceño A^{1, 2}, Moya Acosta M², Moreno Y², Suniaga E²

¹Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba Universidad de Córdoba, España. ²Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Caracas Venezuela.

³Instituto de Oncología y Hematología Caracas Venezuela. ⁴Instituto de Medicina Experimental "Dr. José Gregorio Hernández Facultad de Medicina UCV. aamorales13@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La documentación de la incidencia de patologías espontaneas en animales de experimentación son de capital importancia en los centros biomédicos de investigación. El objetivo de este estudio fue describir un caso de un teratoma espontaneo en una Rata Wistar.

MATERIALES Y MÉTODOS

La unidad de fármaco-toxicología del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” envía al Departamento de Patología una rata adulta cepa Wistar viva de 320 gramos y 35 días de edad, para realizar necropsia y estudios cito-histopatológico del espécimen con fines de control y diagnóstico microbiológico al modelo biológico procedente del Bioterio Central.

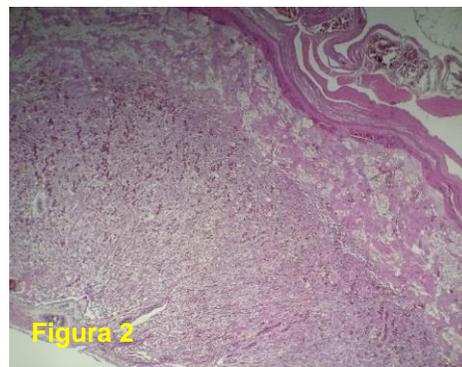
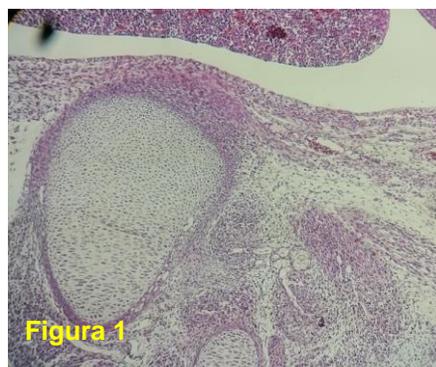


Figura 1.- Corte histológico de masa de aspecto tumoral, se observa proliferación de tejido de las capas germinales, varios tejidos derivados del mesodermo (musculo estriado, tejido fibroso y cartílago) y endodermo (tejido epitelial glandular), se observa delimitación por tejido conjuntivo (H&E 10X). **Figura 2.-** Corte histológico de masa de aspecto tumoral, se observa proliferación de las capas germinales endodermo (tejido glandular), se observa delimitación por tejido conjuntivo y tejido adrenal maduro (H&E 10X.)

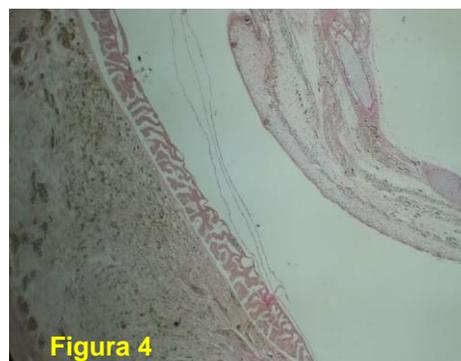
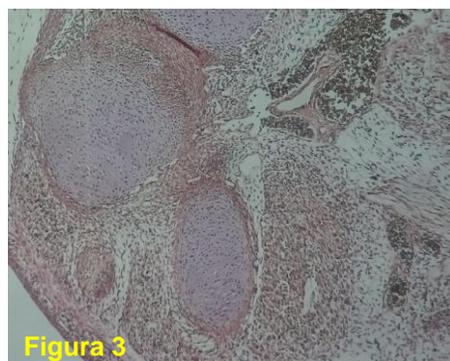


Figura 3.- Coloración especial Tricrómico de Van Gieson positiva +++ (TVG 5X).
Figura 4.- Coloración especial Tricrómico de Van Gieson positiva +++ (TVG 5X).

RESULTADOS

En la necropsia se observó una masa o LOE esférica de aproximadamente 2.5-3cm de diámetro en la glándula adrenal izquierda, que se extiende por la cavidad abdominal.

Se procede a realizar toma de muestra de dicha lesión adicionalmente mediante el protocolo de muestreo general, una vez fijadas en formol al 10% se realiza su procesamiento histotecnológico de rutina, para su evaluación microscópica.

Histológicamente se observaron varios tejidos derivados de las tres capas germinales, ectodermo (tejido nervioso y piel), mesodermo (musculo estriado, hueso y cartílago), y endodermo (tejido glandular), se observa delimitación por tejido conjuntivo y tejido adrenal maduro.

CONCLUSIONES

En conclusión esta neoplasia fue diagnosticada como un teratoma espontaneo. Es necesario considerar agentes potencialmente carcinogénicos ambientales e inclusive aspectos genéticos que puedan jugar un importante rol en el desarrollo de este tipo de tumores. A futuro esperamos complementar el caso con un estudio inmunohistoquímico.

REFERENCIAS

1. Ninomiya H. Spontaneous teratoma in a Wistar rat. *Jikken Dobutsu*. 1983 Jul; 32(3):145-9. Itoh T, Shirota K, Kagiya N. Spontaneous teratoma in a Sprague-Dawley rat. *Jikken Dobutsu*. 1985 Apr; 34(2):207-9.