

0,11. Para el control alto la media fue 5,66 log₁₀ y el desvío estándar 0,12. Con estos datos de media y dos desvíos estándar se construyó el gráfico de Levey - Jenning para monitoreo de desempeño. La incertidumbre de medición estándar combinada y expandida para los controles bajos son: $uc = 0,12$ y $U = 0,24$ [$u(Rw) = 0,11$; $u(Bias) = 0,01$] y para los controles altos son: $uc = 0,14$ y $U = 0,28$ [$u(Rw) = 0,13$; $u(Bias) = 0,01$]. En ambos casos uc y U presentaron valores menores a 0,5 log que representa el valor de nuestra incertidumbre objetivo.

CONCLUSIÓN: Se logró diseñar un control estadístico interno de la calidad y estimar la incertidumbre de medición para monitorear el desempeño de la carga viral HIV-1; lo cual nos permite asegurar la calidad clínica de los resultados de los pacientes, detectar errores y disminuir costos relacionados con la calidad. Este estudio preliminar nos permitirá no solo un correcto cálculo de la incertidumbre en técnicas comerciales si no también para métodos cuantitativos de desarrollo artesanal.

52. Diseño y desarrollo de herramientas genéticas para estudios moleculares del virus de Zika.
Pallarés HM; Carballeda JM; Gamarnik AV.
Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET.

El género Flavivirus comprende cerca de 70 virus incluyendo patógenos humanos de elevada relevancia como el virus de Zika (ZIKV), Fiebre amarilla y Dengue. Los flavivirus son virus envueltos con un genoma de RNA de simple cadena y polaridad positiva que poseen un único marco de lectura abierto que codifica para una poliproteína. Las regiones flanqueantes 5' y 3' no codificantes (UTR) son altamente estructuradas. En particular el 3'UTR presenta estructuras terciarias predichas bioinformáticamente y confirmadas experimentalmente para algunos miembros del taxón, con funciones relacionadas a la replicación viral.

El Zika es un virus emergente que a partir de su introducción en Brasil en el 2015 se ha extendido causando brotes y epidemias en más de 60 países, confirmándose en abril del 2016 el primer brote de transmisión vectorial de nuestro país. El fenómeno de expansión global del ZIKV junto a la falta de conocimiento sobre éste, dio lugar a la urgente necesidad de estudiar su biología molecular. La

herramienta de mayor utilidad para este propósito es la disponibilidad de copias en DNA de los genomas virales completos, conocidos como clones infecciosos. Teniendo en cuenta las ventajas de esta herramienta, el primer objetivo de este trabajo consistió en la obtención de clones infecciosos de ZIKV representativos de una variante no epidémica (aislamiento africano) y una epidémica (aislamiento americano). Con este fin se ensambló un cDNA completo del genoma de un virus epidémico proveniente de un aislamiento realizado en nuestro país en el año 2016 de un paciente con antecedente de viaje, y un clon infeccioso no epidémico que proviene de un aislamiento de mosquito del año 1953 en Senegal. Ambos se clonaron exitosamente en plásmidos de bajo número de copias, a partir de los cuales se pudieron realizar transcripciones *in vitro* para la obtención de RNA viral. Las transfecciones de estos RNA dieron lugar a infecciones productivas en células de mosquito y humano.

Por otro lado, con el fin de obtener una herramienta adicional que permita estudiar cada paso del ciclo de replicación viral, se construyeron virus reporteros que incluyen una copia del gen de la luciferasa de Renilla en marco de lectura con la poliproteína viral. Los virus reporteros generados fueron capaces de infectar células de mosquito y mamífero, constituyendo una poderosa herramienta para el estudio de la cinética de infección, traducción y replicación de ambos virus. Estas herramientas se emplearán tanto para el estudio de la biología molecular del ZIKV como para el diseño de virus atenuados como potenciales candidatos vacunales.

53. Efecto de agentes lisosomotrópicos en la replicación del virus Pixuna en cultivo de células Vero. Ghietto LM(1); Gil PI(1); Olmos P(1); Neira M(1); Kunda P(1); Paglini MG(1)(2). (1) Instituto de Virología "Dr.J.M.Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba; (2) Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba.

Introducción: Durante las últimas décadas se ha registrado un resurgimiento a nivel mundial de patógenos virales transmitidos por artrópodos (Arbovirus), particularmente por mosquitos. Desde

fin del Siglo XX, en nuestro país se conoce la circulación de subtipos enzoóticos de complejo de Encefalitis Equina Venezolana (VEE), todos ellos miembros de la familia *Togaviridae*, género *Alphavirus*. Se conoce que estos virus utilizan el tráfico intracelular endocítico para desnudarse y continuar con su ciclo replicativo. Experimentos previos del laboratorio, utilizando como modelo al virus Pixuna (PIXV), miembro no patógeno de este complejo, demostraron que el uso de algunos agentes lisosomotropos disminuye los títulos virales extracelulares. Objetivo: Obtener evidencias sobre la participación de los endosomas en el proceso de liberación del genoma del PIXV dentro del compartimiento citoplasmático mediante el uso de agentes lisosomotropos. Materiales y métodos: Cultivos de células Vero Clon 76 fueron preincubados durante 30 min con 15 mM de Glucosamina y 50 mM de NH₄Cl a 4°C e infectados con PIXV de forma sincronizada con MOI 0,1 durante una hora. Se suplementó el medio con las respectivas drogas según cada tratamiento. Los sobrenadantes fueron recolectados a las 4, 8 y 24 horas postinfección (hpi) para titulación del PIXV mediante la cuantificación de placas de lisis. Por otro lado, las monocapas infectadas con MOI 10 fueron fijadas a las 4 hpi para determinar la presencia del virus mediante inmunofluorescencia. Resultados: Los resultados muestran una disminución en el título viral extracelular en aquellos cultivos tratados con ambos agentes, tanto a las 4 como a las 8 hpi en comparación con cultivos no tratados. En el tratamiento con Glucosamina la disminución fue aún mayor. A las 24 hpi, a diferencia de la Glucosamina, en el cultivo con NH₄Cl se recuperan los títulos virales. Las imágenes de inmunofluorescencia obtenidas se correlacionan con los resultados obtenidos. Conclusión: La disminución en el número de unidades formadoras de placa en los cultivos tratados con los agentes lisosomotropos y las imágenes de microscopía ponen de manifiesto que el PIXV podría utilizar la vía endosomal para desnudarse, liberar su contenido al citoplasma y continuar con el ciclo replicativo.

54. Identificación de Bocavirus humano 1 y virus B19 en la pesquisa de enfermedades congénitas aplicada a embarazadas y niños sintomáticos. Salbetti MB(1); Pedranti M(1); Barbero P(2);

Molisani P(1); Lazzari M(1); Olivera N(1); Bertoldi A(3); Isa MB(3); Moreno L(4); Adamo MP(1). (1) Laboratorio de Rubéola y Parvovirus, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Área de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba; (3) Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba. (4) Cátedra de Clínica Pediátrica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Bocavirus humano 1 (HBoV1) y virus B19 (B19V) son parvovirus humanos con amplia prevalencia en todo el mundo, responsables de un espectro diverso de enfermedades. Aún no se ha establecido la participación de HBoV1 en patologías en embarazadas y sobre B19V se conoce que puede comprometer al producto de la gestación durante la etapa prenatal con consecuencias en la vida pre y posnatal.

Objetivos. Identificar la presencia de HBoV1 y B19V en muestras de embarazadas y/o niños de hasta 12 meses de edad, con sintomatología compatible con infección congénita por parvovirus. Genotipificar al virus identificado.

Población, muestra y métodos. Estudio retrospectivo, observacional. Se incluyeron muestras de sangre de pacientes embarazadas, neonatos y lactantes <12 meses, con manifestaciones clínicas compatibles con infección parvoviral, derivadas para su diagnóstico al Instituto de Virología, UNC, luego de la consulta a servicios de Obstetricia y Neonatología de diferentes centros de Córdoba, o bien en el marco del programa de vigilancia epidemiológica de síndrome de rubéola congénita (SRC), período 2014-2017 inclusive. Protocolo aprobado por comité de ética institucional. A partir de 200 uL de suero de cada una se extrajeron ácidos nucleicos mediante columnas comerciales y luego se determinó la presencia del ADN viral mediante PCR (fragmento NP1 para detección de HBoV1 y NS1 para B19V) seguida de electroforesis en gel de poliacrilamida teñido con nitrato de plata. Se secuenciaron muestras positivas mediante la amplificación de un segmento de 1994 nucleótidos ubicados en el marco de lectura de NS1 (nt 667-2660). Resultados. Analizamos 49 muestras; 22 fueron de mujeres embarazadas y 27 de pacientes neonatales y pediátricos. Ninguna resultó positiva para HBoV1. En contraste, se detectó B19V en 20/49 (40,8%) muestras