

Un estudio previo en Medellín (Antioquia), Colombia, demostró evidencia de infección reciente por bacterias atípicas en aproximadamente 24% de los pacientes adultos hospitalizados con neumonía adquirida en la comunidad (NAC) (*Legionella pneumophila* 1,9%, *Chlamydia pneumoniae* 8,7% y *Mycoplasma pneumoniae* 13,8%). Esta investigación buscó estandarizar localmente una PCR casera para el diagnóstico de la NAC causada por una cualquiera de estas bacterias atípicas, en una sola reacción, con el fin de proporcionar un diagnóstico confiable y oportuno que facilite el tratamiento específico del germen involucrado. Para estandarizar la PCR se utilizó ADN de las bacterias y cebadores previamente registrados en la literatura, los cuales amplifican el gen de la citoadhesina *p1* de *M. pneumoniae*, el gen potencializador de la infección de macrófagos (*mip1*) de *L. pneumophila* y el gen *PstI* de *C. pneumoniae*. Se estandarizaron la temperatura de alineamiento, tipo de buffer utilizado, concentración de cebadores y de Taq polimerasa. La reacción final de la PCR multiplex contiene 2 µl de ADN, y una concentración final 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 µM de cada uno de los cebadores y 0,05 U/µl de Taq polimerasa en un volumen total de 25 µl. Se utilizó un control negativo en cada reacción de PCR. El revelado de los productos de la PCR se efectuó por electroforesis en gel de agarosa al 2% corridos a 70 V/1h, teñidos con EZ-VISION®. Se realizaron pruebas de sensibilidad analítica utilizando diluciones seriadas de plásmidos conteniendo el inserto de interés, y pruebas de especificidad analítica utilizando ADN de 11 patógenos respiratorios (8 especies bacterianas y 3 hongos). Para la validación de la prueba, se utilizarán 80 muestras de aspirado nasofaríngeo conservadas a -80 °C, y 100 muestras de hisopado nasofaríngeo recolectadas prospectivamente en personas con y sin diagnóstico de NAC, evaluadas conjuntamente con serología pareada para cada una de las bacterias estudiadas, y antígeno urinario para *L. pneumophila* serogrupo 1.

### **Equivalencia farmacéutica, eficacia in vitro e in vivo y desarrollo de resistencia del innovador y cinco productos genéricos de ciprofloxacina frente a *Pseudomonas aeruginosa***

Carlos A Rodríguez J<sup>1, 2, 3</sup>, María Agudelo<sup>1, 2</sup>, Omar Vesga<sup>1, 3, 4</sup>

<sup>1</sup> Grupo Investigador de Problemas en Enfermedades Infecciosas (GRIPE).

<sup>2</sup> Estudiante de doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas (CCBB), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

<sup>3</sup> Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

<sup>4</sup> Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

**Financiación:** Proyecto financiado por el CODI, la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y la Fundación Científica Rodrigo Vesga Meneses. Los experimentos de fibra hueca (*hollow fiber*) fueron realizados en el laboratorio del Dr. George Drusano en *Ordway Research Institute* (Albany, NY).

**Introducción.** Estudios previos de Grupo Investigador de Problemas en Enfermedades Infecciosas (GRIPE, UdeA) han demostrado que la equivalencia farmacéutica de los antibióticos genéricos no garantiza la equivalencia terapéutica de los mismos y en el caso de vancomicina, productos

inequivalentes in vivo favorecen el surgimiento de resistencia en *Staphylococcus aureus*. En esta ocasión evaluamos un antibiótico de amplio uso con múltiples genéricos disponibles, ciprofloxacina, frente a *Pseudomonas aeruginosa*, comparando concentración y potencia del principio activo, actividad in vitro, eficacia in vivo y desarrollo de resistencia. **Métodos.** Se probaron el producto innovador (Bayer) y cinco genéricos (Vitalis, Corpaúl, Ryan, Chalver y Blaskov) frente a *P. aeruginosa* PA01 y ATCC 27853. La equivalencia farmacéutica se determinó mediante ensayo microbiológico con *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 comparando pendiente e intercepto de curvas estándar. La actividad in vitro (MIC y MBC) se evaluó por microdilución en caldo según protocolo CLSI. La eficacia in vivo se determinó en el modelo murino neutropénico de infección del muslo, obteniendo curvas dosis-efecto por regresión no lineal con el modelo de Hill y comparación mediante *curve fitting analysis*. Para evaluar el desarrollo de resistencia se probó el innovador y 1 genérico en el modelo de fibra hueca (*hollow fiber*) simulando durante 7 días la farmacocinética humana de 2 dosis clínicas (200 y 400 mg q 12h). **Resultados.** No hubo diferencias significativas en pendientes e interceptos de las curvas estándar. La MIC para todos los productos fue de 0,125 mg/l y la MBC varió entre 0,125 y 0,5 mg/l. In vivo, las curvas dosis-efecto de innovador y genéricos fueron sobrepuestas, indicando similar eficacia y potencia. En el *hollow fiber* no se encontraron diferencias en la población bacteriana total ni resistente a 2,5 x MIC durante los 7 días de exposición. **Conclusión.** los genéricos de ciprofloxacina evaluados fueron equivalentes farmacéuticos y terapéuticos con el innovador, sin diferencias en el desarrollo de resistencia.

### **Estandarización del método de maduración de esquizontes para la determinación de susceptibilidad in vitro de aislamientos colombianos de *Plasmodium vivax* a cloroquina**

Diana Fernández-Echeverri<sup>1,3</sup>, Gabriel Vélez-Tobón<sup>2,3</sup>, Silvia Blair-Trujillo<sup>3</sup>, Adriana Pabón-Vidal<sup>3</sup>, Cesar Segura-Latorre<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Estudiante de maestría en Biología.

<sup>2</sup> Joven investigador de Colciencias.

<sup>3</sup> Grupo Malaria, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

**Financiación:** Colciencias código # 1115-493-26137. RC 488-2009.

**Introducción.** El parásito *Plasmodium vivax* aporta más del 50% de los casos de malaria en América del Sur. El medicamento estándar para el tratamiento de pacientes con malaria por *P. vivax* es cloroquina. En Colombia, Soto en el año 2001, informó un caso de falla terapéutica. El fenotipo sensible/resistente de *P. vivax* a los antimaláricos in vitro está escasamente documentado por la dificultad para cultivar el parásito. **Objetivo.** Estandarizar el método de maduración de esquizontes en dos fases que permita evaluar la susceptibilidad in vitro de aislamientos colombianos de *P. vivax* a cloroquina. **Metodología.** Se cultivan aislamientos de *P. vivax* con más de 133 trofozoítos inmaduros en 200 parásitos asexuados, en medio McCoy 5A con 25% suero humano AB+, se incuban a 37 °C con mezcla de gases, hasta la maduración de 40% de esquizontes. En la primera fase se evalúa la cinética de crecimiento en función del tiempo y en la segunda se determina la IC<sub>50</sub> de cloroquina.