

Aracelis Miranda, Ana María Santamaría, Franklyn Samudio José E. Calzada y Azael Saldaña
Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES).

INTRODUCCIÓN

En la frontera colombo-panameña prevalecen enfermedades febriles conocidas clínicamente como “**síndromes febriles indiferenciados**”. No obstante, debido al incremento en el número de casos y a la dificultad en la ejecución de un diagnóstico clínico se hace necesario realizar un tamizaje (inmunológico-molecular) diferencial, con enfermedades endémicas de la región como lo son dengue, influenza, malaria y otras. Con el propósito de realizar una vigilancia epidemiológica para prevenir y controlar estas enfermedades en esta región, en el ICGES se está ejecutando el proyecto titulado “Vigilancia epidemiológica de las enfermedades en poblaciones humanas de la frontera colombo-panameña”. Según datos estadísticos, la malaria es una enfermedad persistente y representa un riesgo de salud pública para el país. Es transmitida a través de la picada de mosquitos de género *Anopheles* y ocasionada por parásitos del género *Plasmodium*. *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, las especies prevalentes en esta región.

OBJETIVOS

❖ Monitorear la infección de malaria en la la frontera colombo-panameña mediante el uso de técnicas moleculares (PCR anidado y PCR multiplex) utilizando sangre colectada en papel filtro.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Todas las muestras sanguíneas fueron tomadas de pacientes con síndromes febriles gracias a la colaboración del personal de salud de los sitios sentinelas. Estas fueron colectadas en papel filtro y transportadas a temperatura ambiente desde Yaviza y Boca de Cupe, localidades ubicadas en la provincia de Darién. Luego las muestras fueron transportadas al ICGES para el análisis correspondiente de acuerdo al algoritmo elaborado para este estudio.

Para la extracción de ADN a partir del papel filtro se utilizó un kit comercial (Qiamp DNA Mini Kit de Qiagen). Las muestras seleccionadas para descartar la infección malárica de acuerdo al agorismo del estudio, fueron evaluadas con dos pruebas moleculares: PCR *multiplex* (Kho y col., 2003) y PCR *nested* (Snounou, 1993).

Los resultados se entregaban en un plazo no mayor de 10 días a las autoridades de salud de los sitios sentinelas para la toma de decisiones clínicas.



Figura 2. *Plasmodium vivax*

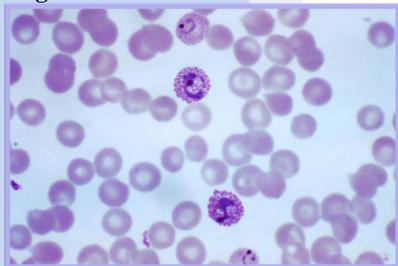
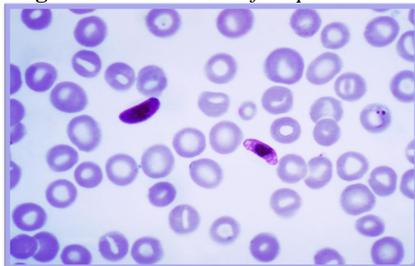


Figura 3. *Plasmodium falciparum*



El *Plasmodium*, es el parásito causante de la malaria, *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* son las especies prevalentes en Panamá.

Figura 1. Extracción de ADN



Para extracción de ADN las muestras fueron colectadas en papel filtro y analizadas con el Kit comercial de Qiagen.



Figura 3. Electroforesis en geles de Agarosa al 2%.

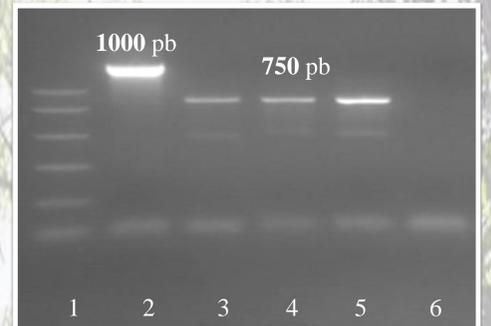


Figura 2. PCR Multiplex para *Plasmodium*

El carril 1, es el marcador molecular, el carril 2 es un control de *P. falciparum*, los carriles 3 y 4 son muestras, el carril 6 es un control para *P. vivax* y el carril 6 es un control negativo de PCR.



Figura 4. PCR Nested para malaria

El carril 1, es el marcador molecular, el carril 2 es un control negativo de PCR, carril 3 control de *P. falciparum*, carril 4 control para *P. vivax* y los carriles 5,6,7,8,9 y 10 son muestras evaluadas.

RESULTADOS

❖ Desde el mes de junio hasta la fecha se han analizado 140 muestras con sospecha a malaria, de las cuales 12 (8.6 %) fueron positivas a *P. vivax*. No se han detectado muestras positivas *P. falciparum* en las muestras analizadas.

❖ Mediante la técnica de PCR *multiplex* obtuvimos 12 muestras positivas a *P. vivax*, el tamaño del producto amplificado fue de 833 bp (Figura 2). Sin embargo, para *P. falciparum* el tamaño del producto esperado debió ser de 1450 pb pero, ninguna muestra colectada fue positiva a esta especie.

❖ Las muestras que resultaron positivas a *P. vivax* con la metodología de PCR *multiplex* fueron confirmadas con la metodología de PCR *nested*; obteniendo un producto amplificado de 120 pb para esta especie. El tamaño del producto esperado para *P. falciparum* era de 205 pb, pero no se registró (Figura 4).

CONCLUSIONES

❖ Se confirma la infección malárica en los sitios sentinelas de Yaviza y Boca de Cupe, localizados en la zona fronteriza de Panamá y Colombia. Sólo se han diagnosticado muestras positivas a *P. vivax*.

❖ Al comparar las dos técnicas implementadas para el diagnóstico de malaria se determinó una correlación de 100% entre ambas metodologías utilizadas en este estudio.

❖ La metodología de PCR es una herramienta eficaz para el diagnóstico de la malaria en nuestro país. Este análisis permite el seguimiento post-tratamiento de pacientes, diferenciar la especie del parásito, detectar parasitemias bajas e infecciones mixtas.

❖ Es necesario darle continuación a estos tipos de estudios ya que permitirán monitorear y controlar los brotes de malaria en esta apartada región de nuestro país.