OPS/HDM/CD/429/06

Programa de pequeños subsidios en enfermedades tropicales:

Informes finales 1995–2004

Zaida E Yadón, Fabio Zicker, Oscar D Salomón (editores)

Toda información contenida en este libro y publicada previamente como artículo en revistas científicas cuenta con la autorización de reproducción (*copyright*) de los editores respectivos, y el crédito se señala en el encabezamiento de los capítulos.

La publicación en este libro de información inédita no inhibe para su presentación posterior en calidad de datos originales en revistas científicas, dado el ámbito y medio restringido de distribución

Contenido

MALARIA 1

Susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* de *Plasmodium falciparum* a antimaláricos en un área amazónica de Perú **2**
Norma Roncal, Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) Lima, Perú

Evaluación de una estrategia de fortalecimiento en participación comunitaria para el control de la malaria en el área urbana de Buenaventura, Colombia **10**
Beatriz Eugenia Alvarado, Grupo AntroPacifico. Universidad del Cauca, Popayán, Colombia; Alberto Alzate, Centro de Investigaciones en Epidemiología. Universidad del Valle, Cali, Colombia

Correlación entre la presencia del alelo resistente del gen *cg2* y la resistencia *in vivo* de *Plasmodium falciparum* a cloroquina en Cali, Colombia **21**
Leyla Bustamante, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Avenida IN # 3-03, Cali, Colombia

Evaluación comparativa de resistencia terapéutica de la sulfadoxina-pirimetamina y la combinación quinina oral y tetraciclina para la malaria por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones. Municipio de Puerto Rico, departamento de Pando, Bolivia **29**
Alcira Paola Ángelo Barrios, Instituto SELADIS, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia

Evaluación de eficacia terapéutica *in vivo* de Cloroquina y Sulfadoxina/Pirimetamina para el tratamiento de la malaria no complicada por *Plasmodium falciparum*, Municipio de Quibdó, Colombia **39**
Lyda Elena Osorio, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Cali, Colombia

Evaluación de la eficacia terapéutica y de la seguridad de la combinación de amodiaquina y sulfadoxina/ pirimetamina en el tratamiento de malaria no complicada por *Plasmodium falciparum* en el municipio de Tadó, Chocó, en la costa pacífica colombiana **46**
Iveth Jimena González Jiménez, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Cali, Colombia

Estudio de la eficacia terapéutica de cloroquina y quinina para el tratamiento de la malaria por *Plasmodium falciparum*, en áreas del municipio Atures, estado Amazonas, Venezuela **53**
Irma Rodríguez, Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar", Puerto Ayacucho, Estado Amazonas, del Ministerio de Salud y Desarrollo Social

Genotipificación de *Plasmodium falciparum* en los diferentes cuadros clínicos de malaria en el Perú **62**
Gisely Hijar Guerra, Laboratorio de Biología Molecular Instituto Nacional de Salud (INS)

No adherencia al tratamiento con antimaláricos en Quininde, provincia de Esmeraldas, Ecuador (1996-1997) **68**
Martha Cecilia Yepez, Instituto Juan César García

Factores asociados a la adherencia al tratamiento de malaria en Piura y Tumbes, Perú **76**
Fernando Llanos-Zavalaga, Facultad de Salud Pública y Administración. Universidad Peruana Cayetano Heredia

Portadores asintomáticos de *Plasmodium spp.* como fuente de infección para mosquitos vectores de malaria en la región amazónica de Brasil **88**
Fabiana Piovesan Alves, Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia, y Departmento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

La importancia del tiempo de desactivación de áreas de excavaciones auríferas (*garimpos*), en zonas endémicas de malaria, para el mantenimiento de la transmisión en el estado de Mato Grosso, Brasil **97**
Ana Lúcia María Ribeiro, Universidade Federal de Mato Grosso

Distribución de las subclases de Igg en anticuerpos adquiridos en forma natural contra *Plasmodium falciparum*, en relación a la exposición y a la severidad de malaria **109**
Marcelo U. Ferreira, Emília A. S. Kimura, Alejandro M. Katzin, Leopoldo L. Santos-Neto, José O. Ferrari, Juan M. Villalobos, Maria E. de Carvalho, Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Brasil

Evaluación de la resistencia *en vivo* de la malaria vivax a cloroquina en el estado de Rondônia (Amazonía occidental), Brasil **122**
Juan M. Villalobos-Salcedo, Juan Abel Rodríguez, Joana d'Arc Nieves, Luiz H. Pereira da Silba, Centro de Investigación en Medicina Tropical, Secretaría de Salud de Rondônia, Brasil. Departamento de Medicina, Universidad Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil

DENGUE 132

Evaluación de un módulo escolar sobre dengue y *Aedes aegypti* dirigido a escolares en Honduras **133**
Gustavo Adolfo Ávila Montes, Región Metropolitana, Secretaría de Salud, Tegucigalpa, Honduras; Mercedes Martínez, Unidad de Control de Vectores, Depto. Salud Ambiental, Tegucigalpa, Honduras; Catalina Sherman, Eduardo Fernández Cerna, Dirección General de Vigilancia de la Salud, Secretaría de Salud, Tegucigalpa, Honduras

Evaluación de la eficacia de la cal, en condiciones de campo, contra mosquitos que colonizan floreros de cementerios en la República Dominicana **144**
Angel Tomás Solís Montero, Gilda Ventura, Gervacia Padilla, Secretaría de Estado de Salud Pública y Asistencia Social (SESPAS), Centro Nacional de Control de Enfermedades Tropicales (CENCET)

Encuesta de base poblacional sobre infección de dengue en Brasil central: análisis del patrón espacial de puntos y evaluación de factores de riesgo **150**
João Bosco Siqueira Junior, Martelli CMT, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG, Amorim FP, Moreira BC, Cardoso DDP, Souza WV, Andrade ALSS, Secretaria de Vigilancia Nacional, Ministerio de Salud, Brasilia; Instituto de patología Tropical y Salud Pública, Universidad Federal de Goiás, Goiânia Brasil.

Diseño piloto de intervención y evaluación de participación de escolares en el control del *Aedes aegypti*. Tartagal, Salta, Argentina, 2001–2002 **161**
Mario Zaidenberg, Mirtha Eiman Grossi, Nora Lopez, Héctor Janútolo, Noemí Ester Suárez, Felipe Ruiz, René Luna, Raúl Durán, Emilio Luna, Carlos Torino, Martín Echazú, Coordinación Nacional de Control de Vectores Salta. Coordinación de Control de Vectores Tartagal, Argentina

LEISHMANIASIS 171

Investigación de infecciones asintomáticas y subclínicas producidas por *Leishmania chagasi* en un área de alta endemicidad en la región metropolitana de Belo Horizonte, Brasil

Investigación de infecciones asintomáticas y subclínicas producidas por *Leishmania chagasi* en un área de alta endemicidad en la región metropolitana de Belo Horizonte, Brasil **172**
Luciana de Gouvêa Viana, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. Centro de Referência para Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou (CTL-CPqRR)

Determinación de vectores de leishmaniasis en ambientes domésticos del parque Isiboro-Secure del departamento de Cochabamba, Bolivia **177**
Ana Lineth García Orellana, IIBISMED-CUMETROP, Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Medicina, Cochabamba, Bolivia

Estandarización del método propuesto por la Organización Mundial de la Salud para determinar los niveles de susceptibilidad de los vectores de leishmaniasis a insecticidas **183**
Erika Santamaría, Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia; Leonard E. Munstermann, Epidemiology and Public Health Departament, School of Medicine, Yale University, New Haven, CT, EUA; Cristina Ferro, Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Leishmaniasis cutánea atípica en un suburbio periurbano de Altagracia de Orituco, estado de Guárico, Venezuela. Prevalencia de la infección **193**
Agrela I., Sánchez E., Feliciangeli M.D., Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Núcleo Aragua, BIOMED, Apartado 4873, Maracay, Venezuela

Efectividad de toldillos impregnados con insecticida y la fumigación intradomiciliar para el control de la leishmaniasis cutánea en la región subandina del departamento del Huila, Colombia **203**
Raúl Pardo Puentes, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

Evaluación de competencia del perro como reservorio de *Leishmania braziliensis* **213**
Haroldo Sérgio da Silva Bezerra, Asesor técnico del Programa Nacional de Control de Dengue, Ministério da Saúde, Brasilia, Brasil, Eddie William de Pinho Santana y Jose Wellington de Oliveira Lima, Universidad Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará-Brasil

LEPRA 219

Prevalencia de infección por *Mycobacterium leprae* en convivientes de pacientes con lepra en una región de baja prevalencia, Medellín, Colombia, 1999 **220**
Nora M. Cardona-Castro, Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Medellin, Colombia

FILARIASIS 227

Filariasis linfática en Ciudad Olinda: Determinación de niveles de endemicidad y validación de un modelo de intervención para el control **228**
Maria Cynthia Braga, CPqAM/FIOCRUZ Departamento de Parasitología

Evaluación de las coberturas de distribución masiva de ivermectina y adherencia individual y comunitaria al tratamiento en la oncocercosis humana en el Ecuador **237**
Tamara Mancero, Programa Nacional de Oncocercosis. Ministerio de Salud Pública de Ecuador

La expansión de la filariasis en la región metropolitana de Recife, Brasil **247**
Zulma Medeiros, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Universidade de Pernambuco; Colaboradores: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ: Conceição Oliveira, Edna Barbosa, Ana Maria Aguiar-Santos, Cristine Bonfim, Ayla Gomes Alves, Marlene Eunice do Espírito Santo, Maria José Evangelista Netto; Universidade de Pernambuco: José Anchieta Brito; Fundação Nacional de Saúde: João Quaresma, José Pereira Costa; Secretaria de Saúde do Município de Moreno: Jurandir Almeida Universidade Federal de Pernambuco: Fabio Lessa; Secretaria de Saúde do Município de Moreno: Ladjane Borba, Zailde Santos

ENFERMEDAD DE CHAGAS 256

Enfermedad de Chagas: Papel del peridomicilio como posible fuente de reinfestación domiciliaria triatomínica en Uruguay **257**
Yester Basmadjián, Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad de la República (UDELAR), Montevideo, Uruguay

TUBERCULOSIS 264

El uso de información socioeconómica en la construcción de indicadores de la situación colectiva de riesgo para la ocurrencia de tuberculosis en Olinda, estado de Pernambuco, Brasil **265**
Wayner Vieira de Souza, Centro Pesquisas Aggeu Magalhães da FIOCRUZ

Resultado del seguimiento diagnóstico en sintomáticos respiratorios con sospecha de tuberculosis pulmonar en tres redes de salud de la Dirección de Salud de Lima Sur, Perú **277**
David Zavala Rosas, Programa Nacional de Control de la Tuberculosis - Ministerio de Salud, Perú; Richard Rodríguez, Servicio de Neumologia del Hospital de Apoyo "Maria Auxiliadora" - Lima, Perú;Alfredo Torres, Director del Laboratorio de Salud Publica DISA, Lima Sur Perú

Epidemiología de la TBC en indígenas y su relación con la accesibilidad cultural-geográfica a los servicios de salud **284**
Mayling Chacare; Colaboradora, Maria Elena Morales; Centro Amazónico de la Investigación y Control de Enfermedades Tropicales “Simón Bolívar” (CAICET), Unidad de Tuberculosis; Programa Integrado de Control de la Tuberculosis del Estado de Amazonas (PICTA), Venezuela

Malaria

Susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* de *Plasmodium falciparum* a antimaláricos en un área amazónica de Perú

Norma Roncal, Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) Lima, Perú

Resumen: *Cuarenta y nueve (49) pacientes con malaria no complicada por* PLASMODIUM FALCIPARUM *Completaron un seguimiento clínico/parasitológico en el estudio de eficacia clinica para Fansidar hasta el día 28, de los cuales 22 (44,9%) tuvieron RCA, mientras 27 (55,1%) presentaron fallas terapéuticas 11 (22,4%) FPT y 16 (32,7%) FTT. Se evaluó la susceptibilidad in vitro de 48 aislados de* Plasmodium falciparum *a sulfadoxina (SDX), pirimetamina (PYR) y combinación SDX/PYR, usando la técnica de hipoxantina-H*^{3} *Los valores de* CI_{50} *(ng/mL) se analizaron en relación a respuesta clínica de cura o fracaso terapéutico al tratamiento con Fansidar. El valor de corte para resistencia a SDX encontrado fue de 317,9 con 92,6% (IC95% 75,7 – 98,9) de sensibilidad y 95,2% (IC95% 76,1 – 99,2) de especificidad, mientras para PYR el valor de corte fue de 20,2 con 96.3% (IC95%81,0 – 99.4) de sensibilidad y 95.2% (IC95% 76,1 – 99,2) de especificidad. El valor predictivo positivo de la prueba para estos valores de corte fue de 96, 2% para SDX y 96,2% para PYR , el valor predictivo negativo fue de 90,9% y 95,2% respectivamente. La combinación SDX/PYR (1:1) mostró sinergismo en el grupo de aislados de pacientes con cura clínica y aditividad en el grupo de fracaso terapéutico. La susceptibilidad a tres quinolonas se evaluó en 60 aislados, los cuales fueron resistentes a cloroquina, sensibles a mefloquina y de susceptibilidad reducida a quinina. Los valores de IC50 para estas quinolonas se comparó con la de las clonas control D6 y W2. Un grupo de 9 aislados mostraron buena susceptibilidad para artemisina, autovaquona, cicloguanil y proguanil.*

Palabras clave: *Plasmodium falciparum*, *in vitro*, *in vivo*, antimaláricos.

Introducción

En el Perú la mayor proporción de casos de malaria ocurren en el departamento de Loreto, donde un foco persistente de *Plasmodium falciparum* comenzó a extenderse hacia el norte del país durante los años 1990. Desde 1992 a 1999 Loreto ha reportado una progresiva proporción de casos de malaria debido a *P. falciparum*, habiéndose incrementado en mayor proporción que *P. vivax* (1).

Los registros estadísticos del Ministerio de Salud de Perú sobre la respuesta de *P. falciparum* a los esquemas de tratamiento han mostrado falla del tratamiento ya sea con cloroquina (10%-63%) o sulfadoxina (10%-70%). Más aún, el control de la malaria en áreas endémicas se ha tornado mucho más difícil debido al incremento anual de casos (2).

Es importante tener mayor información sobre la susceptibilidad de *P. falciparum* a antimaláricos tanto para el diseño de medidas efectivas de control como para las

políticas de tratamiento. Para ello existen métodos sensibles los cuales pueden ser complementarios a las observaciones *in vivo*

En el trabajo presente se evaluó la sensibilidad a diversos antimaláricos de aislados de *P. falciparum* de una comunidad de la región de Loreto, a fin de determinar la situación de resistencia en aquella región. Los antimaláricos evaluados fueron Cloroquina (CQ), Mefloquina (MEF), Quinina (QUIN) y Sulfadoxina/Pyrimetamina (SP), Artemisina (ART), Atovaquona (ATOV), Proguanil (PROG), Cicloguanil (CYC). Los resultados *in vitro* para SP se analizan en asociación con la información *in vivo* a Fansidar®, para el resto de antimaláricos se compara la información *in vitro* con las clonas control de D6 y W2

Materiales y métodos

Área de estudio - El estudio se realizó de marzo a mayo de 1999 en Padrecocha, una villa de 1400 habitantes a orillas del río Nanay, 5 Km al noroeste de Iquitos, la capital del departamento de Loreto. Durante 1997 a 1999 Padrecocha mostró un patrón estacional pronunciado de malaria, cuya incidencia más alta fue durante los meses de enero a junio . El tratamiento para malaria fue administrado oficialmente por la Posta de Salud Pública, la malaria no complicada debida a *P. falciparum* fue tratada con Sufadoxina/Pirimetamina (Fansidar®) 25 mg/Kg y Primaquina 0,75 mg/Kg administradas en una sola dosis. Aquellos casos que no respondieron al tratamiento con SP fueron tratados con Quinina y Tetraciclina o Clindamicina. Los casos de malaria a *P. vivax* fueron tratados con Cloroquina por 3 días.

Estudio in vivo - Se determinó la respuesta clínica y parasitológica de los pacientes al tratamiento estándar con Fansidar siguiendo el protocolo recomendado por la Organización Panamericana de la Salud: "Assessment of Therapeutic Efficacy of Antimalarial Drugs for Uncomplicated Malaria in the Américas" (OPS/HCP/HCT/113/98). Los pacientes enrolados en dicho estudio cumplieron los siguientes criterios: monoinfección asexual con *P. falciparum*, densidad parasitaria mayor de 500 parásitos por microlitro, mayor de 6 meses de edad, temperatura mayor de 38ºC o historia de fiebre en las últimas 72 horas. Se hicieron láminas con gota gruesa y extendido de sangre a los 0, 2, 3, 7, 14, 21 y 28 días, teñidas con Giemsa. La evaluación clínica y parasitológica se clasificó como RCA: Respuesta Clínica Adecuada hasta el día 28 de tratamiento, FPT: Fracaso Precoz al Tratamiento, FTT: Fracaso Terapéutico Tardío.

Estudio in vitro - Se colectaron 5 ml de sangre de los pacientes enrolados en el estudio *in vivo*. Las muestras se preservaron en nitrógeno líquido y luego fueron enviadas a los laboratorios en Lima, Perú. Los aislados fueron adaptados a cultivo continuo usando el método descrito por Trager & Jensen (3) La susceptibilidad *in vitro* de los aislados a diferentes antimaláricos fue evaluada usando el método isototópico de Desjardins *et al* (4), modificada por Milhous *et al* (5) y estandarizada para condiciones locales de laboratorio. Las drogas fueron colocadas en microplacas

de 96 pozos, fondo plano, 25 ul por pozo, en los siguientes rangos de concentración: SDX 200,000 ng/ml - 97,7 ng/ml y 500 ng/ml -0,25 ng/ml; PYR 5,000 ng/ml - 2,4 ng/ml y 500 ng/ml - 2,4 ng/ml; SDX/PYR en las proporciones 1:1, 1:3, 3:1, 1:4, 4:1 y 1:5; CQ 1,000 ng/ml - 0,98 ng/ml; QUIN 1,000 ng/ml - 0,98 ng/ml; MQ 250 ng/ml - 0,24 ng/ml. Para aquellos antimaláricos que interfieren con el metabolismo de folatos se usó medio RPMI libre de ácido fólico y p-aminobenzoico GIBCO 93-5707EA. Se usaron 2 clones de *P. falciparum* como referencia: D6, clona resistente a Mefloquina pero sensible a Cloroquina y Quinina y W2, clona multiresistente, Las drogas y clonas control fueron obtenidas del Instituto de Investigación Walter Reed Army Research Institute, Washington DC. Adicionalmente se evaluó la susceptibilidad de 9 aislados de *P. falciparum* a atovaquone (ATOV), artemisina (ART), proguanil (PROG), cicloguanil (CYC) y Dapsona (DAP). Se determinó la concentración inhibitoria (IC50) en ng/mL mediante una regresión no lineal utilizando el programa NFIT La interacción de SDX/PYR en combinación se presenta como ∑FIC (Concentración Inhibitoria Fraccionaria) donde: FIC (droga A+ droga B): IC50 de (droga A+droga B)/IC50 B; y FIC ≤ 0,5 se define como sinergismo de drogas, FIC ≥ 2,0 se define como antagonismo entre las drogas, FIC en el rango 0,7-1,5 se define como aditividad.

Análisis estadístico El promedio de los valores de IC50 para SDX y PYR de los aislados provenientes de pacientes con respuesta clínica adecuada (cura) y aquellos de fracaso terapéutico (falla) fueron comparados con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se determinó probables valores de corte para resistencia a SDX y PYR mediante la construcción de curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) usando el programa estadístico MedCal versión 2.1. Se calcula el valor predictivo positivo (VVP) y valor predictivo negativo (VPN) para cada valor de corte obtenido. Los valores FIC de la combinación SDX/PYR se comparo con la prueba T de student. Para CQ, MEQ y QUIN se compararon las medias geométricas de los valores de IC50 usando la prueba T de estudent.

Resultados

Completaron el seguimiento clínico/parasitológico 49 pacientes con malaria no complicada por *P.falciparum* en el estudio *in vivo* para Fansidar hasta el día 28, de los cuales 22 (44,9%) tuvieron RCA, mientras 27 (55,1%) presentaron fallas terapéuticas 11 (22,4%) FPT y 16 (32,7%) FTT.

De los 49 aislados de de *P. falciparum* evaluadas *in vitro* para SDX/PYR, 48 resultaron en pruebas válidas, con un éxito del 97,9%. Los valores de IC50 tanto para SDX como PYR fueron muy dispersos, como se muestra en las tablas 1 y 2; por lo que la comparación de promedios entre el grupo de aislados de pacientes con cura clínica y aquellos de falla clínica se realizó con la prueba de Mann-Whitney. El valor promedio de IC50 (ng/mL) para SDX en el grupo de pacientes que curaron (n=21) fue de 62,1 (DS=163,36) y en el grupo de fallas clínicas (n=27) fue de 1556,6 (DS=1176,4) con una diferencia de promedios estadísticamente significativa, p-value

< 0,001. Mientas los valores de IC50 (ng/mL) para PYR en el grupo de pacientes fue de 9,4 (DS=10,63) y en el grupo de fallas clínicas fue de 53,4 (DS=23,96), con una diferencia de promedios estadísticamente significativa, p-value < 0,001.

Tabla 1. Susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* a sulfadoxina (SDX) y Pirimetamina (PYR) y combinación SDX/PYR en el grupo de pacientes con cura terapéutica a Fansidar

Aislado	SDX IC50 (ng/mL)	PYR IC50 (ng/mL)	∑ FIC 1:1 SDX/PYR	Interacción	Respuesta Clínica
PC01	9,28	3,20	0,42	S	RCA28
PC02	40,00	19,00	0,70	A	RCA28
PC07	23,12	13,30	0,51	S	RCA28
PC08	42,93	4,40	0,58	S	RCA28
PC10	**712,05**	**20,23**	**1,01**	**A**	RCA28
PC18	12,58	4,60	0,48	S	RCA28
PC20	3,64	6,10	0,57	S	RCA28
PC22	12,25	3,70	0,48	S	RCA28
PC27	5,10	2,68	0,54	S	RCA28
PC28	3,00	2,50	0,60	S	RCA28
PC33	7,10	3,60	0,50	S	RCA28
PC35	8,63	3,00	0,53	S	RCA28
PC36	12,20	5,00	0,58	S	RCA28
PC37	27,00	11,00	0,95	A	RCA28
PC38	28,50	18,00	0,87	A	RCA28
PC44	8,70	6,60	0,32	S	RCA28
PC50	7,67	2,89	0,58	S	RCA28
PC51	5,00	8,30	0,38	S	RCA28
PC52	5,90	2,72	0,54	S	RCA28
PC55	317,90	48,70	1,69	A	RCA28
PC59	10,70	8,61	0,52	S	RCA28

S: Sinergismo; A: Aditividad; RCAD28: Respuesta Clinica Adecuada hasta Día 28 de seguimiento

Se estimaron valores de corte para resistencia a SDX y PYR mediante la construcción de curvas ROC (Receiver Operating Characteristic), donde el mejor valor de corte para resistencia a SDX fue de 317,9 con una sensibilidad de 92,6 (IC 95% 75,07 – 98,9) y una especificidad de 95,2 (IC95% 76,1 – 99,2) y un VPP de 96,2 (IC95% 94,2 -98,1 y VPN de 90.9% (IC95%88.6 – 93.3). Para PYR el mejor valor de corte calculado fue de 20,2 con una sensibilidad de 96.3 (IC95% 81,0 – 99,4) y una especificidad de 95,2 (IC95% 76,1 – 99,2). El valor VPP fue de 96,3 (IC95% 94,4 – 98,2) y VPN de 95,2% (IC95% 92,8 – 97,7)

La interacción *in vitro* de la combinación SDX/PYR se evaluó a través de los valores de ∑FIC (1:1) como se muestra en las tablas 1 y 2, los cuales se evaluaron con la prueba T de student. El promedio de ∑FIC en los aislados provenientes de pacientes con cura clinica (n=21) fue de 0.64 (DS=0,3), indicando sinergismo entre SDX y PYR; mientras en el grupo de pacientes que fallaron al tratamiento (n=27) fue de 0,95 (DS=0,22) indicando aditividad. La diferencia estadística fue significativa con un p value < 0,001. Adicionalmente, en la figura 1 se muestra los isobologramas

de un grupo de 6 aislados mostrando sinergismo para el aislado de un paciente con cura clínica y aditividad para aquellos que fracasaron al tratamiento con Fansidar.

Tabla 2 . Susceptibilidad *in vitro* e *in vivo* a sulfadoxina (SDX) y Pirimetamina (PYR) y combinación SDX/PYR en el grupo de pacientes con falla terapéutica a Fansidar

Aislado	SDX IC50 (ng/mL)	PYR IC50 (ng/mL)	∑ FIC 1:1 SDX/PYR	Interacción	Respuesta Clínica
PC04	2213,80	113,00	0,83	A	FPTD2
PC09	837,30	55,50	1,02	A	FPTD2
PC11	1050,30	52,20	1,02	A	FPTD3
PC13	2385,50	63,30	0,90	A	FTTD7
PC14	3465,60	54,70	0,79	A	FTT14
PC15	2700,70	70,17	1,20	A	FTT14
PC16	622,46	44,14	0,77	A	FTT12
PC19	1769,21	38,80	0,72	A	FTT14
PC21	1615,10	59,30	0,88	A	FPTD2
PC23	**9,80**	**5,61**	**0,61**	**S**	FTTD7
PC24	1473,91	64,62	0,91	A	FPTD3
PC26	1765,60	75,20	1,03	A	FTT13
PC31	4809,70	86,87	0,83	A	FTT10
PC34	519,08	20,61	0,80	A	FTT14
PC41	890,90	35,87	1,16	A	FPTD3
PC43	3148,10	39,81	0,72	A	FPTD2
PC45	310,10	45,30	1,03	A	FTTD7
PC46	430,37	24,04	0,93	A	FTTD14
PC47	3545,34	60,80	0,67	A	FPTD3
PC48	850,40	56,20	1,02	A	FTTD7
PC49	1143,60	57,10	0,88	A	FPTD3
PC53	998,24	70,79	0,93	A	FTTD7
PC54	1320,20	90,32	1,05	A	FPTD3
PC56	347,62	20,42	1,66	A	FTTD21
PC57	520,40	25,02	0,90	A	FTTD14
PC58	1020,24	72,34	1,05	A	FTTD7
PC63	2263,41	40,46	1,34	A	FPTD3

S: Sinergismo; A: Aditividad; FPTD: Fracaso Precoz al Tratamiento día 2 ó 3; FTTD: Fracaso Terapéutico Tardío día 7, 14 ó 21

La susceptibilidad *in vitro* de 60 aislados a CQ, MEQ y QUIN se comparó con el perfil de susceptibilidad de las clonas de referencia D6 y W2, como se muestra en la tabla 3. Los IC50 de todos los aislados evaluados mostraron un promedio para CQ de 31,83 ng/ml (rango 13,36-70,80) (IC95% 28,36-35,30); MEF 2,23 ng/ml (rango 0,63-3,40) (IC95% 2,06-2,41); QUIN 50,10 ng/ml (rango 21,00-94,00) (IC95% 44,53-55,66). Un grupo de 10 aislados fueron evaluados para ART, ATOV, PROG, CYC y DAP, mostrando buena sensibilidad (Tabla 4)

Figura 1. Isobologramas en un grupo de 6 aislados de *P. falciparum* con la técnica estandarizada de hipoxantina H^3, mostrando una curva sinérgica para el aislado PC 51 (cura clinica) y líneas aditivas para el resto de aislados (fallas clínicas)

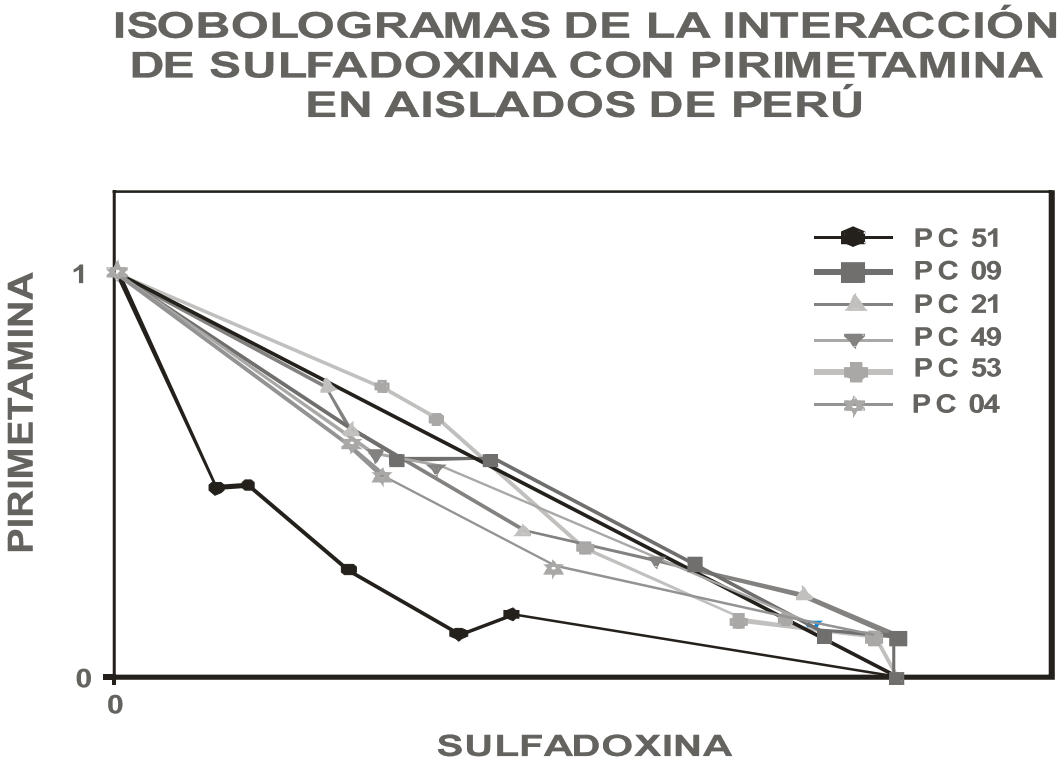


Tabla 3. Susceptibilidad *in vitro* expresado como IC50 (ng/mL) de los aislados y clonas control de *P. falciparum* a quinolonas

	Cloroquina	Mefloquina	Quinina
Aislados (n=60)			
Media geométrica	29,2	2,1	45,7
Media	31,8	2,2	50,1
C 95%	28,4-35,3	2,1-2,4	44,5-55,7
D6			
Media	3,7	6,6	13,1
DS	0,2	1,6	0,6
Perfil	1 - 5 (S)	8 - 15 (R)	8 - 15 (S)
W2			
Media	43,1	3,1	75,4
DS	4,1	0,4	4,2
Perfil	35 - 100 (R)	0,5 - 3 (S)	35 – 100 (R)

Media ± desviación estándar de cada una de las drogas por triplicado; S= sensible; R= resistente.

Tabla 4. Valores de IC50 (ng/mL) de los aislados de *P. falciparum* a diversos antimaláricos en relación a las clonas control D6 y W2.

Parásito	QUIN	QHS	ATOV	CYC	PROG	DAP
Clona D6	10,1	2,1	0,15	0,25	161,9	13,34
Clona W2	102,6	1,9	0,47	0,39	1395	1088
PC04	83,1	0,9	0,17	1,2	167,7	<9
PC09	83,1	1	0,14	0,6	136,1	<9
PC15	49,9	0,9	0,12	1,9	136,4	17,6
PC21	83,6	0,7	0,14	1,9	284,7	25,1
PC26	76,9	1	0,13	1,6	104,6	23,4
PC49	87,2	0,8	0,13	3,2	177,4	<9
PC51	74,5	0,8	0,2	0,2	144,9	<9
PC53	65,4	1,1	0,13	5,9	161,2	255,4
PC54	69,1	0,7	0,13	3,6	166,7	34,9

Discusión

En el grupo de aislados evaluados la cura o falla terapéutica a Fansidar resultó directamente relacionada con la sensibilidad o resistencia *in vitro* a SDX, como se observó en la diferencia clara de valores de IC50 entre ambos grupos de acuerdo al valor de corte calculado para esta droga. Esta observación es reforzada por el sinergismo mostrado en la interacción *in vitro* de la combinación de SDX y PYR en los pacientes que curaron al tratamiento con Fansidar, mientras la combinación fue mayormente aditiva en el grupo de fallas clínicas.

Es difícil definir un solo valor de IC50 como punto de corte para diferenciar resistencia o sensibilidad *in vitro* de los aislados, basándose solamente en una droga (Sulfadoxina), debido a que los valores de IC50 para pirimetina entre el grupo de curas y fallas terapéuticas resultaron muy cercanos entre ambos grupos. El valor de corte óptimo encontrado para resistencia a PYR de 20,2 esta muy cercano de aquellos de 18 o 19 que corresponden a pacientes que curaron como puede observarse en la tabla 1 en relación a los valores de corte obtenidos

El perfil de susceptibilidad de los aislados para CQ, MQ y QUIN no fue del todo inesperado, esta información se compara con el de las clonas D6 y W2. Los valores de IC50 para CQ se encuentran en el límite inferior del perfil de susceptibilidad de la clona control W2, resistente a CQ. El que todos lo aislados evaluados resultaron sensibles a MQ puede reflejar el hecho de que este antimalárico no había sido usado aún en el área y tiempo en que se realizo este trabajo. Esto también explicaría la sensibilidad de todos los aislados evaluados para ART, ATOV,CYC ,DAP, PROG. Sin embargo es preocupante la susceptibilidad decreciente de los aislados para QUIN, para la cual no existe información clínica documentada que permita complementar la información *in vitro*. Un estudio *in vivo* para quinina resulta mas difícil de llevar a cabo debido a que se trata de un antimalárico usado en casos de malaria grave o complicada

El rango limitado de valores de IC50 para las tres quinolonas podría estar reflejando la presencia de una población uniforme del *P. falciparum* sin embargo se

debe tener en cuenta una selección en la población total, debido al cultivo previo a las pruebas *in vitro.*

UNina combinación terapéutica de Atovaquon/Proguanil o Mefloquina/Artesunate sería extremadamente beneficiosa para el tratamiento de malaria por *P. falciparum* en el departamento de Loreto.

Referencias

1. Ministerio de Salud. "Resistencia del *Plasmodium falciparum* a medicamentos antimaláricos en el Perú". Informe técnico, Lima, 1999
2. Aramburu J, Ramal C, Witzig R. Malaria reemergence in the Peruvian Amazon región. Emerg Infec Dis 5, 1999: 209-215.
3. Trager & Jensen**.** Human malaria parasite in continous culture. Science 193, 1976: 673-675.
4. Desjardins R.E., Andfield CJ, Haynes JD, Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semiautomated microdilution technique.Antimicrob. agents. Chemother 16, 1979:710-718
5. Milhous WK, Weartherly NF, Bowdre JH, Desjardins RE. *In vitro* activities and mechanism of resitance to antifolates anti-malarial drugs. Antimicrob Agents Chemother 27, 1985: 525-530.

Evaluación de una estrategia de fortalecimiento en participación comunitaria para el control de la malaria en el área urbana de Buenaventura, Colombia

Beatriz Eugenia Alvarado, Grupo AntroPacifico. Universidad del Cauca, Popayán, Colombia; Alberto Alzate, Centro de Investigaciones en Epidemiología. Universidad del Valle, Cali, Colombia

***Resumen**: Se evaluó la efectividad de una estrategia de atención primaria para el control de la malaria que consistía de cuatro componentes: 1) educación a través de trabajadores comunitarios 2) actividades comunitarias para control de criaderos 3) venta comunitaria de toldillos y 4) mejoramiento de la red de microscopia comunitaria. El objetivo de la estrategia era elevar los conocimientos e influir las prácticas y disminuir la frecuencia de malaria. Se encontró una participación total de 14%, siendo la más alta para el componente educativo con 10%. Las personas con contacto con la intervención tuvieron mayores conocimientos en síntomas, tratamiento de malaria y de los criaderos del mosquito (diferencias mayores de 20%; p<0.05). Los contactos también reportaron mayor uso de toldillos (OR:1.9; IC95%: 1.0-3.9) y de practica de fumigación (OR: 2.56; IC95%: 1.2-5.0) que los no contactos. El reporte de malaria fue similar en ambos grupos. Las intervenciones comunitarias con apoyo de personas de la comunidad son efectivas para elevar los conocimientos e influir las prácticas de la población. El mejoramiento de la participación comunitaria y el aumento de la cobertura son importantes para futuras implementaciones.*

Palabras clave: atención primaria, malaria, intervención, evaluación de impacto, Colombia.

Introducción

En 1991 La Constitución Política de Colombia reconoció la identidad cultural de la gente negra y de sus raíces. La asignación de territorio y el fortalecimiento económico de los puertos marítimos de la Costa Pacífica apuntan a superar el profundo atraso en que se encuentra la región frente a los procesos de apertura económica. Paradójicamente ese mismo año el puerto de Buenaventura, el principal del Pacífico, presentó el mayor registro de casos de malaria en 5 años, lo que requirió de una estrategia de control inmediata.

El Instituto de Salud del Pacífico (INSALPA) junto a otras instituciones, diseñó y ejecutó desde 1992 el proyecto: "Atención Primaria en Salud (APS) para el control de la malaria" basándose en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (1,2). Se han realizado diferentes investigaciones epidemiológicas para evaluar el cumplimiento de los objetivos de la estrategia (3-5).

Por otra parte, el proyecto desarrolló el fortalecimiento de la participación comunitaria en cuatro áreas: 1) material educativo para adiestramiento en sintomatología, prevención y control; 2) detección y control de criaderos; 3) programas de prevención, producción y venta de toldillos, 4) adiestramiento en

diagnóstico y tratamiento de la enfermedad a nivel local. La intervención se realizó en las comunas urbanas de Buenaventura, Colombia, con mayor prevalencia de malaria. Se identificaron agentes comunitarios de replicación y se los capacitó (15 días) con el material educativo del maletín "El mundo de la malaria aprendamos a manejarlo en comunidad". Luego se discutieron y diseñaron los planes de acción barriales, que incluyeron entrenamiento-participación comunitaria en actividades de identificación y control de criaderos de vectores de malaria. Durante los primeros 6 meses se crearon cooperativas para la producción y venta de toldillos comunitario. En la comuna 12 además se implementó una red de diagnóstico con 3 microscopios para gota gruesa (3).

En el presente trabajo se evaluó el alcance, impacto en conocimientos y prácticas, frecuencia de notificación y persistencia de las actividades realizadas en las comunas urbanas 10 (Barrio Carlos Holmes Trujillo), 11 (Barrio Antonio Nariño) y 12 (todos los barrios), concernientes al fortalecimiento de la participación comunitaria, así como el análisis de costos.

Métodos

Muestreo y tipo de encuesta - Estudio transversal en el área urbana del municipio de Buenaventura, en las comunas intervenidas por el proyecto con mayor incidencia de malaria hasta 1991 las comunas C10, C11 y C12, (5). Se identificaron en el mapa catastral las manzanas y casas de personas capacitadas con el maletín "Mundo de la Malaria", C10:1, C11:1, C12:24, denominadas "manzanas caso". Se seleccionaron aleatoriamente por comuna manzanas sin maletín o "manzanas control" a partir del número del mapa catastral en relación 1:1 con las "manzanas caso". La aleatoriedad se comprobó mediante un análisis bivariado de características de jefes de hogar y económicas (datos no presentados). El tamaño de muestra obtenido de 661 viviendas (12-20/manzana) resultó similar a las 530 calculadas para una prevalencia del 10%, precisión 5%, alfa 0,05 que no se pudo realizar por la baja probabilidad de contacto y el agrupamiento de las personas capacitadas. En cada manzana seleccionada se invitó a participar a todas las viviendas. En cada vivienda se realizó una encuesta estructurada, al jefe de hogar, sobre condiciones de vivienda, características demográficas, conocimientos y prácticas, costos de prevención y enfermedad. Un investigador y siete encuestadoras capacitadas *ad hoc* realizaron las entrevistas, validadas por replicación de 30 encuestas y supervisión presencial en algunas viviendas. El contacto con el programa se determinó por preguntas en relación con: 1) Contacto con maletín "Mundo de la malaria", 2) participación en grupos de venta o impregnación de toldillo y manejo de criaderos, o 3) utilización de red microscópica del barrio. En relación con la incidencia se preguntó por un episodio (sintomatología compatible o diagnóstico gota gruesa) en los 15 días previos, y se siguió luego por un mes (15/1 a 15/2) a todas las manzanas con cuestionarios sobre notificación de febriles a los jefes de hogar (se realizó gota gruesa a los individuos con síntomas al momento de la visita).

Análisis - Se utilizó el modelo de evaluación de efectividad e impacto de Shallock (6). Inicialmente se estima el alcance en término de utilización, cobertura y cumplimiento de los objetivos y metas propuestos. Luego se realiza el análisis de impacto comparando los que tuvieron contacto con el programa y lo que no lo tuvieron en cuanto a conocimientos, prácticas preventivas, prácticas frente a la enfermedad, costos de episodio febril y prevención, y por último impacto sobre la malaria misma: El análisis bivariado se realizó mediante análisis de varianza de una vía y estadísticas no paramétricas. Para estimar el impacto sobre la enfermedad se determinó la tendencia de la enfermedad en los barrios de estas comunas en el período 1991-1997. Los datos fueron procesados en los programas *Epi-Info* 6.04 (7) y *STATA* (8).

Resultados

Se entrevistaron 661 jefes de hogar, 347 en 25 manzanas caso, 314 en 27 manzanas control. De los encuestados 74,4% tenía 15-45 años (mediana 34), la escolaridad media fue de 5 años y la mediana de residencia en el barrio de 60 meses (11,3% < 6 meses), 60,5% eran de etnia negra. El 77% vivían en casa propia, 72,6% con piso de cemento o baldosa y los restantes de madera o tierra. En promedio se observaron 1,89 habitaciones/casa y 5,0 personas/casa, el 54% de los hogares con televisor, nevera y estufa y 8% con ninguno de estos tres electrodomésticos indicadores.

Efectividad

Contacto con el programa- 91 jefes (13,6%) tuvieron contacto al menos con una o más de las tres actividades. La diferencia entre las manzanas caso 17,9% (14,1-22,4) y las control 9,2% (6.6-13,2) fue significativo. El mayor contacto fue mediante el maletín 10,1%, y 37,7% habían sido capacitados el año previo. El número de contactos de cada persona inicial capacitada fue de 1,64 (41/25) en tres años, lo que permite estimar a partir de 102 personas capacitadas y asumiendo la transmisión horizontal a los cohabitantes de la vivienda, unas 835 personas que tuvieron algún contacto con el programa en los tres años. Un contacto de 7,7% se observó en los grupos de participación comunitaria, 20 individuos encuestados habían participaron de la venta e impregnación de toldillos (actividades no vigentes al momento de la encuesta), y 47 individuos en manejo de criaderos (55% en el último año). En los dos barrios donde se implementó el diagnóstico microscópico 6/105 jefes manifestaron asistir a dicho sitio en caso de fiebre. Ninguno de los encuestados informó sobre visitas domiciliares para vigilancia activa de malaria en el año previo.

La Tabla 1 muestra que la probabilidad de tener contacto con el programa estuvo relacionada tanto a pertenecer a una manzana caso como al tiempo de residencia en el barrio (línea de corte 6 meses). El único contacto con el programa con menos de 6 meses de residencia, fue en una manzana caso y lo había tenido en otro barrio. En función de estos resultados se escogieron 2 grupos control para las 91 "casas caso"

(con contacto con el programa): 75 casas con habitantes con menos de 6 meses de residencia, y 495 "casas control" con más de 6 meses viviendo en el barrio.

Tabla 1. Probabilidad (%) de tener contacto con el programa (Caso) según tiempo de residencia en el barrio y pertenecer a una manzana caso (n=347) o manzana control (Control) (n=314), Buenaventura, Colombia.

	Residencia	Caso	Control
Manzana caso	> 6 meses	20,5 (16,2-25,5) *	79,5
	< 6 meses	2,3 (0,1-12,0) ***	97,7
Manzana control	> 6 meses	10,6 (7,3-14,8) **	89,4
	< 6 meses	- ***	100

* Grupo de alta probabilidad, **probabilidad media, *** probabilidad nula

Comparación pre y post-intervención - Tabla 2. El promedio de escolaridad y tiempo de residencia fue similar, el de edad fue de 24 años en 1993 y 34 años en 1997/98.

Tabla 2. Conocimientos y prácticas (%) en la población encuestada en 1993 y en 1997-1998 expresada en porcentual (50%), Buenaventura, Colombia

	Variable	1993	1997/98
Conocimientos	Aralen	68,0	52,7
	1 o + síntomas	82,0 (64,8-77,2)	96,4
	zancudo	85,0 (83,1-86,9)	99,5
	eliminación criaderos	35,4 (32,9-38,0)	53,1
	toldillo	25,5 (23,2-27,9)	73,2
	fumigación	17,2 (15,2-19,3)	49,8
Prácticas	automedica	71,0 (68,4-77,2)	33,0
	usa toldillo	61 (58,5-63,7)	74,5
	fumiga	56,5 (55,8-59,2)	67,7

Impacto

Se estimó el impacto del programa como efecto directo (casos menos controles > 6 meses), indirecto (controles > 6 meses menos controles < 6 meses) y total (casos menos controles < 6 meses). La distribución de variables demográficas y socioeconómicas entre los tres grupos de análisis se presenta en la tabla 3.

Tabla 3. Distribución de variables demográficas de jefes de hogar y socioeconómicas del hogar entre los grupos de análisis: control con menos de 6 meses de residencia en el barrio (Cont < 6), control con más de 6 meses de residencia (Cont > 6) y caso (Caso). Buenaventura, Colombia

Variable	Cont < 6	Cont > 6	Caso	P
Demográfica				
Edad *	31,2	36,0	36,6	0,41
Escolaridad *	5,3	4,9		0,02
Tiempo de residencia *	-	86,3	119,6	
Etnia:negra/indígena/mestiza	45,3 / 0 / 54,7	60,7 / 0,8 / 38,3	70,0 / 0 / 30,0	0,005
Ocupación:ama de casa /otras	84,0 / 16,0	82,7 / 20,8	72,2 / 16,8	0,05
Socioeconómica				
Nº hijos *	2,9	3,45	4,07	0,001
Nº personas *	4,8	5,4 / 5	6,6	0,001
Nº habitaciones *	1,8	1,9 / 2	2,0	0,08
Tipo casa: propia /arriendo	36,0 / 64,0	80,2 /19,6	92,2 / 7,8	> 0,001
Piso cemento / baldosa	10,7 / 56,0	9,1 / 62,3	3,3 / 80,0	> 0,001
madera / tierra	22,7 / 10,7	20,7 / 7,7	12,2 / 6,6	
Electrodomésticos: 0/1/2	9,3 / 21,3 / 21,3	8,3 / 18,0 / 20,2	4,4 /15,6 / 16,7	0,11

* promedio

Impacto en conocimientos y prácticas - En la tabla 4 se observa que el programa generó diferencias en los conocimientos y prácticas entre los tres grupos de análisis, menos en las prácticas ante un episodio febril. Compraron el toldillo en las tiendas comunitarias 10 individuos de los 20 en contacto con toldillos (4 controles, 6 casos) y 1/20 los hizo impregnar en dichos talleres. Las razones argumentadas para no usar el toldillo en la casa fueron exclusivamente económicas en el 20% de los hogares, 16% además refirió el calor al utilizarlo. En el grupo control de menos de 6 meses la causa económica fue referida por el 29,7%; la correlación piso de la casa (indicador socioeconómico) con la causa para no usar toldillo presentó una relación positiva significativa, lo mismo ocurrió con el de los controles de más de 6 meses (37,5 causas económica), pero no el grupo control (42,1% causa económica). El calor a su vez fue el motivo para no usar toldillo expresado por el 80% de los encuestados, mientras un 15% dijo que no había zancudos en la casa.

El último rociado en las casas encuestadas se distribuyó en un promedio de 30 meses (50% entre 12 y 36 meses).

El 98% inició el manejo de un caso febril de la familia en la casa, 16% consultó otro lugar el primer día del episodio. Las medicinas alternativas y farmacias fueron la primera opción en 6 casos. De las personas que iniciaron el tratamiento en la casa 83,8% buscaron luego atención médica en: puesto de salud 38,8%, servicio de erradicación de malaria- SEM 16,3%, entidades promotoras de salud 15,3%, hospital 14,3%. la red de microscopìa del barrio fue la primera opción en 4 casos y segunda en 2. Las razones de elección de los sitios fueron cercanía (28,8%), calidad del personal (21,9%), buena atención, más económico y gravedad de enfermedad en orden decreciente de frecuencia.

Tabla 4. Impacto sobre conocimientos y prácticas de "El Mundo de la Malaria" entre los grupos de análisis: control con menos de 6 meses de residencia en el barrio (Cont < 6), control con más de 6 meses de residencia (Cont > 6) y caso (Caso). Buenaventura, Colombia

Variable	Cont < 6	Cont > 6	Caso	Efecto directo	Efecto indirecto	Efecto total
Conoce zancudo	100	99,4	100	0,6	-	0
Conoce criadero *	84	89,9	95,6	5,7	0,5	11,6
Conoce tratamiento *	69,3	86,7	93,3	6,6	17,4	24
Cloroquina	0	1,0	6,7	5,7	1,0	6,7
Aralen *	36,0	50,6	62,2	11,6	14,6	26,2
Falsidar	6,7	4,8	15,6	10,8	-	8,9
Primaquina	0	2,0	11,1	9,1	2,0	11,1
Conoce síntomas**	2,0	2,2	2,4			
Fiebre	81,3	92,3	94,4	2,1	11,0	13,1
Escalofrío	50,7	60,5	62,2	1,7	9,8	11,5
Cefalea *	64,0	71,7	83,3	11,6	7,7	19,3
Sudoración	1,3	0,6	1,1	0,5	-	0,2
Conoce prevención **	1,6	1,8	2,0			
Toldillo	69,3	73,8	70,0	-	28,5	0,7
Fumigación	45,3	49,8	50,0	0,2	4,5	4,7
Repelentes	1,3	1,8	3,3	1,5	0,5	2,0
Manejo criadero **	49,3	50,2	68,9	18,7	0,9	19,6
protección personal	0	0,6	4,4	3,8	0,6	4,4
Nº toldillos/persona	3,0	2,6	2,6			
Ninguno usa toldillo	36,0	27,6	24,4			
Alguno usa toldillo	64,0	72,4	75,6	3,2	8,4	11,6
Uso de toldillo **	0,9	0,8	0,8			
Compra toldillo(meses) **	28,2	32,6	25,4			
Fumigación	50,7	66,5	74,4	7,9	15,8	23,7
Permite rociado	89,3	95,6	97,8	2,2	6,3	8,5
Inicia manejo fiebre casa	84,0	86,3	77,8			
Inicia manejo fiebre en otro lugar	16,0	13,7	22,2			
Automedica dosis inadecuadas	24,0	34,3	25,8	8,5		
Busca tratamiento luego inicio casa	77,2	85,3	85,5	0,2	8,1	8,3
Busca diagnóstico gota gruesa	28	24,1	43,3	19,2		15,3
Comportamiento adecuado	69,3	58,1	67,4	9,3		

* significativo al 0,05%, ** promedio

Impacto en costos en prevención y enfermedad - Multiplicado el costo del último toldillo adquirido por el número de toldillos/casa resultó un promedio de 24224,8 $ (1500-180000$). El costo promedio referido por toldillo fue de 8680,5 $ (50% entre 5000-10000 $), la relación caso/control fue de 7194,5$/10231,0$, no atribuible al programa pues sólo 10 personas compraron en los 3 años previos toldillos en las tiendas comunitarias.

El impacto en costos de enfermedad entre casos y controles se muestra en la tabla 5, asumiendo que el costo de un episodio febril descartando transporte y tiempo que dedica familiar tiende a 0$. Las personas en contacto con el programa gastaron menos en pago de servicios y medicación específica, el mayor impacto fue de un ahorro de

928$ por consultar los sitios más adecuados para el diagnóstico luego de iniciado el tratamiento en la casa.

Tabla 5. Impacto del programa sobre los costos/persona (promedio en $ colombianos) de un caso febril compatible con malaria: control con menos de 6 meses de residencia en el barrio (Cont < 6), control con más de 6 meses de residencia (Cont > 6) y caso (Caso). Buenaventura, Colombia

Variable Costo	**Cont < 6**	**Cont > 6**	**Caso**	**Efecto directo**	**Efecto indirecto**	**Efecto total**
Servicios (consulta + exámenes)	2942,0	3179,1	2691,6	487,5	-	250,4
*-mediana-**	*650*	*2000*	*500*			
Segunda atención	2088,4	2059,6	1131,6	927,9	28,8	956,8
*-mediana-**	*350*	*650*	*0*			
Automedicación con antimaláricos	744,7	776,6	621,7	154,8	-	123,0
-mediana-	*600*	*300*	*300*			
Total (servicios + automedicación)	2798,0	2981,5	2598,8	382,6	183,5	199,2
*-mediana-**	*700*	*100*	*500*			

* significativo al 0,05%

Impacto sobre enfermedad - De las encuestas iniciales de enfermedad se registró que hospitalizados por malaria (casos x 1000) en el grupo control de menos de 6 meses fueron 5 (0,6-20), en el control de 6 meses 7,8 (4-12) y el en grupo caso 6,7 (1,8-17), mientras los casos de malaria en los 15 días previos fueron 5 (0,6-20), 7,8 (4-12) y 1,6 (0-9,3) respectivamente. Sólo el grupo control de más de 6 meses registró muerte por malaria en menor de 15 años con una tasa de 0,7 (0-2,7). El bajo número de casos de malaria severa no permite asumir impacto del programa sobre la enfermedad.

Durante el seguimiento de las manzanas se recolectaron 107 encuestas de fiebre durante un mes, 69 de viviendas encuestadas inicialmente, y 38 desocupadas o con jefe de familia ausente en la encuesta de base. De las personas que refirieron fiebre 57,9% vivía en una manzana control y el resto en manzanas caso, el 79,7% (IC 68,3-88,4) pertenecía a casas sin contacto con el programa, y el 20,3% (IC 11,6-31,7) pertenecían a casas caso. La mediana de edad de los pacientes fue de 8 años (50% 3-29 años), 9,3% eran menores de 1 año. El 61,7% presentó tres o menos días de fiebre, 32,7% no permanecieron en cama, 45,8% tuvo inactividad menor a 3 días y el 21% permaneció en cama más de 3 días. Entre los controles 15 episodios febriles fueron asociados a malaria por el jefe de hogar, en 5 buscaron diagnóstico en los puestos de salud o el SEM, ninguno en la red de microscopìa barrial. Cuando los jefes de familia asociaron los síntomas a un síndrome gripal sólo 10% requirió la consulta diagnóstica. Cuatro jefes de casas caso pensaron que el episodio era malaria y 2 buscaron diagnóstico. La automedicación ante la sospecha de un síndrome malárico fue de 26,7% en los controles y ninguno en los casos. El diagnóstico de malaria se confirmó en 4/55 controles (7,2%) y en 2/14 casos (14,2%). Los casos asociaron más síntomas no sugestivos de malaria (sudoración, diarrea, tos) que los controles. Los controles gastaron 661$/persona en las consultas, los casos 4392,8 $/persona, los primeros 600$ en automedicación y los segundos no gastaron nada en antimaláricos.

Tendencia de enfermedad - Tomando los datos desde 1992 la tendencia de malaria en el municipio de Buenaventura disminuyó desde 1994, tendencia mayor en los barrios

Tabla 6. Modelos logísticos múltiples para prácticas frente a malaria : Buenaventura, Colombia

	Efecto total		Efecto indirecto	
Prácticas	**OR[1]**	**IC**	**OR [1]**	**IC**
Uso de toldillo, si	1,99	1,00-3,95	1,65	0,97-2,81
Fumigación de la casa, si	2,56	1,28-5,00	2,08	1,23-3,44
Permite rociamiento, si	5,00	1,00-25,0	2,77	1,14-6,66
Manejo adecuado ante fiebre, si	1,05	0,53-2,08	1,49	0,86-2,55

1. Modelos ajustados por la educación, edad y condiciones socioeconómicas de los entrevistados

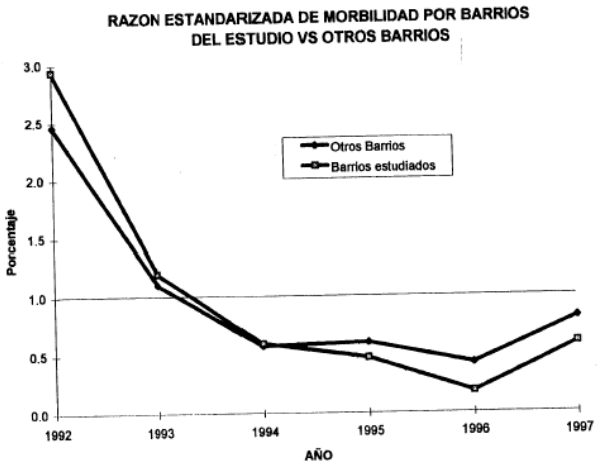


Figura 1. El aporte proporcional de casos de los barrios intervenidos disminuyó 8 % en 6 años (25 a 17). Aún ante el incremento de casos de 1997 estos barrios continuaron aportando menos.

Análisis logístico - Se consideraron variables dependientes las prácticas que demostraron mayor impacto del programa y relacionaron a variables demográficas, conocimientos, socioeconómicas y de contacto. Este análisis demostró que el comportamiento está determinado por variables socioeconómicas y algunas demográficas (Tabla 6). El programa controlado por otras variables tuvo efecto sobre la mayoría de las prácticas.

Discusión

La dificultad para medir el impacto de programas educativos en salud, y la certeza sobre su resultado positivo final sobre la variable que se esperaba se discute extensamente en la bibliografía sobre lactancia materna (9). En éste trabajo existieron además dos dificultades para medir impacto en comportamientos y enfermedad: el cuestionario no fue diseñado para asociar conocimientos y prácticas, y la incidencia de malaria y casos febriles no fue suficiente para generar hipótesis.

Sólo se ubicó a 25 agentes multiplicadores, 1-2 por barrio muy próximas entre sí, lo que impidió un muestro aleatorio que incluyese al menos 10% de casas con contacto con el programa. Se utilizó por ello un muestreo por conglomerados resultando un contacto global del 13,6%, función de vivir en la manzana del multiplicador y el tiempo de residencia en el barrio. Para optimizar los mecanismos de transferencia horizontal del conocimiento se recomienda una aproximación antropológica (p.e. entrevistas en profundidad) (10).

Los resultados como número de personas educadas a partir de los multiplicadores iniciales permiten una primera aproximación, poco halagadora, al grado de eficiencia del programa como proceso de difusión. Los siguientes estudios deberán orientarse hacia la credibilidad, percepción y motivación de la asociación capacitador-capacitado. El programa deberá crear mecanismos para mejorar la calidad y cantidad del contacto. El rendimiento fue similar cuando el material fue entregado por profesores de escuela (3 barrios comuna 12) o por líderes comunitarios. Sin embargo la encuesta adulto orientada subestima a los maestros como capacitadores de los niños.

La baja probabilidad de contacto en los residentes nuevos (menos de 6 meses) implica que el programa debe generar un mecanismo de incorporación de migrantes recientes, que en el estudio fueron 11,3% de los entrevistados.

La efectividad de la herramienta educativa fue muy buena. Se observó un aumento significativo en las encuestas pre y post-intervención en los conocimientos sobre transmisión y prevención, prácticas de uso de toldillo y fumigación, aún por efecto indirecto pues sólo el 10% de los encuestados había tenido contacto con el programa. Aunque el diseño y método de muestreo fue diferente en los dos estudios, la similitud en las características generales de los entrevistados permite comparar los resultados.

El 7% de las casas participaron en actividades comunales de destrucción de criaderos. Esta actividad tuvo mayor persistencia que el resto, lo que puede atribuirse al sistema de vigilancia que realizó búsqueda entomológica y control en tres ocasiones desde 1994. Los toldillos por otra parte tuvieron baja participación de la comunidad en la venta, el uso y ninguna persistencia en el tiempo, esta actividad perdió continuidad al disolverse los grupos de generación de ingresos. En resumen el componente de participación fue bajo en estos barrios. Tarimo (11) los clasifica como grupos sociales que reciben información pero no son capaces de generar o sostener actividades sin un estímulo externo, como se vio en la actividad de control de criaderos dependiente de INSALPA/UES-PET, y la utilización de toldillos dependiente de la comunidad misma. Con respecto a la red de microscopistas barrial la prevalencia de uso fue de 5,7%, similar al 6,5% de uso de servicios en la comuna 12 en 1995 (12), e igual que en ese estudio la calidad de servicio, costo y cercanía fueron los factores que determinaron la búsqueda de los servicios de salud en caso de malaria. Las intervenciones deberán orientarse al cambio de percepción que usuario y microscopista tienen del acto diagnóstico.

El efecto total de la estrategia se observa principalmente en los conocimientos acerca de los criaderos y en los tratamientos para la enfermedad, lo primero muy asociado a las actividades de control que se llevaron a cabo en la vigilancia

entomológica. Igualmente un efecto total se encontró para las prácticas de uso de toldillo y fumigación. Sobre la práctica de automedicación solo tuvo un impacto directo, lo que puede atribuirse a que los controles de menos de 6 meses no se automedicaban debido a su falta de conocimiento de los antimaláricos. Se encontró, además, que las condiciones socioeconómicas, la escolaridad y la distribución étnica diferían en los tres grupos de contacto propuestos. La diferencia en la escolaridad puede mostrar como el programa busco capacitar a personas más educadas, pensando que estas hubieran podido tener mayor capacidad de multiplicación y pudieran haber entendido mejor el material educativo, la paradoja de "educar a los más educados". Igualmente, las condiciones económicas de los no-contacto de más de 6 meses pudieron explicar la más baja práctica de uso de toldillos, dado que en efecto ellos relataban la falta de dinero como razones para no usarlos. Sin embargo los análisis de las prácticas controlando por estas diferencias sociales y económicas entre los contacto y no contacto, dejan entrever un efecto independiente de la estrategia sobre las prácticas, también asociado a sus efectos sobre los conocimientos.

La tendencia de la malaria en la comuna 12, en los últimos 6 años, fue a disminuir más que en los otros barrios intervenidos. Dado que las actividades de vigilancia y control entomológico fueron establecidas por el programa, esta tendencia puede atribuirse al mismo. Las condiciones de vida en el barrio también cambiaron en dicho período pudiendo influir en este resultado, de 56,5% de casas con 2 electrodomésticos en 1995, para 1997 el 54% ya tenía 3; la mediana de residencia fue de 3 años en 1995 y 5 años en 1997.

La salud debe ser vista como contribuyente directa al beneficio de las personas más que indirectamente incrementando la producción. Los costos y consecuencias de malaria pueden observarse en pérdida de días laborales, labor menos eficiente por anemia, y bajo rendimiento escolar (aprendizaje). Sin embargo dicha información no se encuentra en los programas y los análisis de efectos económicos se limitan al estudio de recursos gastados por el paciente (13). En este trabajo se enfocaron los costos directos explícitos, sabiendo que los costos indirectos y ocultos (p.e. tiempo de inactividad en familiares de paciente) pueden ser mayores que los directos (14). La medición del efecto del programa sobre los recursos gastados en servicios de salud no fue muy indicado, pues a pesar de excluir del análisis a los que no consultan, los controles por sus condiciones económicas más bajas pudieron estar afiliados a un sistema de seguridad que disminuyera los costos de atención. Por otra parte los costos de automedicación son independientes de la afiliación de las personas, y son una buena medida del ahorro que puede deberse al programa. El efecto directo, mayor que el total, puede explicarse nuevamente por la falta de conocimientos de antimaláricos en los controles (menos de 6 meses). Los costos de un toldillo, aún más teniendo en cuenta las familias numerosas y las condiciones económicas de los migrantes recientes, aconsejan fortalecer los grupos comunitarios formados inicialmente en estos barrios.

En conclusión los resultados de impacto y efectividad del programa mostraron la importancia de orientar las nuevas acciones hacia el entendimiento del proceso visto desde la óptica de los multiplicadores, con el fin de mejorar el alcance del programa,

y de alguna manera incidir más en la percepción y en las conductas individuales de las personas, para generar prácticas más adecuadas en el control de malaria.

Referencias

1. Najera JA. Global analysis of malaria situation to the development of Primary Health Care. Informe World Health Organization 86:1025, 1986
2. Najera JA. A suggested approach to malaria control and to the metodology applicable in diferent epidemiological situations based on experience in the Americas. Bull Pan Am Health Organization 13, 1979:223-234.
3. Mendez F, Carrasquilla JG. Epidemiología de la malaria en el área urbana de Buenaventura: Análisis de la ocurrencia en el periodo 1987-1993. Colombia Medica 26, 1995: 77-85.
4. Nieto T, Mendez F, Carrazquilla JG. Knowledges, beliefs and practices relevant for malaria control in an endemic urban area of the Colombian Pacific (no publicado)
5. Olano V, Carrazquilla JG, Méndez F. Transmisión de la malaria en Buenaventura Colombia: Aspectos entomológicos. Rev Panam Salud Pública 2, 1997: 378-385.
6. Shalock RL. Outcome.based Evaluation. Plenum Press. New York, 1995.
7. EPI-INFO 6.0. Word processing database and statistics system for Epidemiology on microcomputers, 1996
8. STATA Corporation. Release 3.1. College station. 6 th edition.
9. Ashworth , Feachem RG. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: Weaning education. Bull World Health Organization 63, 1985: 1115-1127.
10. Rebello LM, Verma SP. The basic health worker and his recipient group - A diagnostic study for health education in malaria. Soc Sci Med 11,1977: 41-53.
11. Tarimo E, Webster EG. Primary health care concepts and challenges in a changing world: Alma Ata revisted. OMS.Geneve, 1993.
12. Sanchez MP. Uso de servicios de salud en la comuna 12 de Buenaventura: Análisis de la prevalencia en un periodo de 1995 y sus factores determinantes. Tesis de la Maestría en Epidemiologia. Universidad del Valle, 1997.
13. Mills A. Economis evaluation of health programmes: Aplication the principles in developing countries. World Health Statist Quart 38, 1985: 368-382.
14. Kaewsonthi S et al. Cost and perfomance appraisal of malaria surveillance and monitoring measures. Final Report Thailand, 1983.

Correlación entre la presencia del alelo resistente del gen *cg2* y la resistencia *in vivo* de *Plasmodium falciparum* a cloroquina en Cali, Colombia

Leyla Bustamante, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Avenida IN # 3-03, Cali, Colombia

Resumen: *La resistencia a cloroquina de* PLASMODIUM FALCIPARUM IN VITRO *y la falla terapéutica en cepas de África, se ha asociado con la presencia de cambios en la longitud de regiones polimórficas de secuencias repetidas en tándem (*K *y* ω *del gen* cg2 *en el cromosoma 7 del parásito. Hasta el momento no se conocen las características de este gen ni su asociación con resistencia en aislados de pacientes en América, aunque resultados con cepas de referencia de Brasil sugieren un comportamiento distinto al de África. Para contribuir a resolver este problema se determinó la correlación entre la presencia del alelo resistente del gen* cg2 *y la presencia de fallas terapéuticas a CQ en pacientes con malaria no complicada por* P. falciparum *diagnosticados en la ciudad de Cali. En estos el nivel de falla terapéutica resultó de 77.8% [95% IC: 40,2 – 96,1], por lo que sólo se incluyeron 9 casos. El patrón de repeticiones 13*K*/15*ω *del gen* cg2 *encontrado en las muestras de Cali, resultó homogéneo tanto para los pacientes con falla terapéutica como aquellos con respuesta adecuada al tratamiento. Lo que indica que el gen* cg2 *podría no estar asociado en forma estricta a la resistencia. La homogeneidad en el patrón de repeticiones puede responder al azar, dada la gran variabilidad existente en las muestras de otras regiones de Colombia, con predominio del patrón 13*K*/14*ω*, y en Leticia 12*K*/14*ω*. Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis que* P. falciparum *en América, presenta alelos diferentes del gen* cg2 *a los encontrados en África y Asia*.

Palabras clave: *Plasmodium falciparum*, cloroquina, resistencia, gen *cg2,* Colombia.

Introducción

La cloroquina (CQ) ha sido el medicamento de elección para el tratamiento de la malaria por *Plasmodium falciparum* en Colombia por más de 40 años gracias a su efectividad, seguridad y bajo costo. Sin embargo en los últimos años se han encontrado altos niveles de resistencia a CQ en las principales áreas endémicas del país (1-4) lo que ha contribuido al deterioro de la situación actual de la población frente a la malaria. La evaluación de la eficacia del tratamiento antimalárico constituye una herramienta básica para la implementación de las estrategias de control de malaria tal como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud (5).

Estudios recientes han evaluado el papel de características genotípicas de *P. falciparum* en el desarrollo de resistencia a los medicamentos de uso más extendido alrededor del mundo, tales como la CQ y la Sulfadoxina-Pirimetamina (SP). La resistencia *in vitro* a CQ, por ejemplo, ha sido asociada a la presencia de cambios en a longitud de regiones polimórficas de secuencias repetidas en tándem

(K y ω) del gen *cg2* en el cromosoma 7 de *P. falciparum* (6). Se ha encontrado que cepas de referencia de Asia y África resistentes a CQ presentan un número constante de repeticiones en las secuencias de las regiones K (14 repeticiones) y ω (16 repeticiones) de este gen, a diferencia de lo encontrado con cepas sensibles en las cuales hay una gran variabilidad en el tamaño de estas secuencias (región K de 12 y 13 repeticiones y región ω de 10 a 15 y 17 a 32 repeticiones) (6). La homogeneidad en los tamaños encontrados en cepas resistentes ha permitido postular a ambas regiones (K y ω como posibles predictores de falla terapéutica. Con el fin de conocer su importancia en la determinación de las misma se han realizado estudios con parásitos aislados de pacientes en varios países de África, encontrándose una fuerte asociación entre estas dos secuencias repetitivas de *cg2* y la presencia de fallas terapéuticas (7-10). Las diferencias encontradas con una cepa de referencia de Brasil resistentes a CQ (cepa 7G8: K=12 repeticiones y ω=14 repeticiones) sugieren que las variaciones en el tamaño de las regiones K y ω se comportan de manera diferente en las áreas endémicas de América (6). Hasta el momento no se conocen las características de este gen ni su asociación con resistencia en aislados de pacientes en América. El objetivo del presente estudio fue determinar si existe correlación entre la presencia del alelo resistente del gen *cg2* y la presencia de fallas terapéuticas a CQ en pacientes con malaria no complicada por *P. falciparum* diagnosticados en la ciudad de Cali.

Materiales y métodos

Área de estudio - Cali, capital del Departamento del Valle, ciudad en la cual no hay transmisión local de malaria, pero en donde se diagnostican pacientes procedentes de las áreas endémicas próximas, principalmente de la Costa Pacífica y de los departamentos del Caquetá y Putumayo. El programa de Enfermedades Transmitidas por Vectores (ETC) de la ciudad es el responsable del diagnóstico y manejo de los pacientes con malaria, actividades que se realizan en el Laboratorio de Parasitología del Departamento de Microbiología de la Universidad del Valle. Los pacientes a los cuales se les diagnostica malaria no complicada por *P. falciparum* reciben como manejo estándar el esquema combinado de cloroquina (CQ) más Sulfadoxina-Pirimetamina (SP) y Primaquina (PQ).

El número de casos de malaria diagnosticados en Cali en 1997 fue 661, de los cuales el 30% fueron causados por *P. falciparum*. En 1998, esta cifra aumentó a 1.651 casos positivos con un 42% causado por *P. falciparum*. En 1999 los casos de malaria disminuyeron a 569, 21,6% de los cuales fueron producidos por *P. falciparum*. De enero a junio del 2000 han sido diagnosticados 274 casos de malaria con un 47,8% producidos por *P. falciparum.*

***Estudio* IN VIVO** - Estudio prospectivo con tratamiento supervisado y seguimiento durante 28 días, según la metodología de OMS/CDC para la evaluación de la eficacia de medicamentos antimaláricos (11), modificada y adaptada para áreas de baja transmisión. El tamaño de la muestra se calculó usando la metodología de muestreo

doble para control de calidad de lotes recomendada por el protocolo de la OMS (11), definiendo un nivel máximo crítico de resistencia del 25% (nivel donde se debe modificar el esquema de tratamiento) y un nivel de resistencia aceptable del 10%. Con estos parámetros se determinó un mínimo de 16 pacientes y un máximo de 42 pacientes. *Criterio de inclusión:* 10 y 64 años, infección pura por *P. falciparum* con parasitemia entre 1.000 y 50.000 formas asexuales/µl, posibilidad de asistir a los controles, aceptación a participar en el estudio y firma del consentimiento informado. *Criterio exclusión*: presencia de enfermedad crónica, embarazo, vómito persistente, uso actual de medicamentos con actividad antimalárica, signos de malaria severa de acuerdo con los criterios de la OMS (11) e infección adquirida en el área urbana de Buenaventura (Valle), Quibdo (Chocó) y El Bagre (Antioquia) (en estos sitios ya se han determinado altos niveles de *P. falciparum* resistente a CQ (2-4). Los pacientes fueron tratados de manera supervisada con CQ dosis total de 25 mg/kg dividida en tres dosis de 10 mg/kg el primer día, 10 mg/kg el segundo día y 5 mg/kg el tercer día. Al final del seguimiento se les suministró primaquina dosis única 0.75 mg/kg. En los casos en los cuales se presentó falla terapéutica, se suministró tratamiento de rescate con amodiaquina (AQ) 25 mg/kg dosis total más Sulfadoxina-Pirimetamina (SP) dosis única (25 mg/kg de sulfadoxina y 1,25 mg/kg de pirimetamina) más primaquina dosis única (0,75 mg/kg).

La respuesta terapéutica se definió de acuerdo a los criterios de la OMS como: *Falla Precoz de Tratamiento (FPT), Falla Terapéutica Tardía (FTT) y Respuesta Clínica Adecuada (RCA).*

Análisis del polimorfismo del gen cg2

Muestras para PCR - Las muestras de sangre por punción de pulpejo fueron tomadas en el día 0 en papel filtro (Whatman N° 3, Maidstone, UK), se dejaron secar por completo y se guardaron en bolsas plásticas a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. Con el fin de establecer un patrón de repeticiones de las regiones K y ω del gen *cg2* para toda Colombia, se evaluaron también muestras de ADN de *P. falciparum* de diferentes regiones endémicas del país existentes en el banco de muestras (no existe dato de respuesta terapéutica de estas muestras por lo cual no fue posible hacer la correlación con resultados *in vivo*).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de las regiones K *y* ω *del gen* cg2

Extracción de ADN- El ADN fue extraído del papel filtro utilizando el método descrito previamente (12). La mitad de un círculo de 1 cm. de diámetro de papel filtro con la muestra de paciente se cortó en pequeños pedazos y éstos se incubaron a 4°C por una hora con 1 ml de saponina (Sigma. St. Louis, MO) al 1% en agua destilada. Después de esta incubación se lavó 2 veces con Buffer Fosfato Salino (PBS) pH 7,2 y se resuspendió en 200 µl de una solución de Chelex-100 (BioRad, Hércules, CA) al 5% en agua destilada, resina que captura el ADN. La muestra fue incubada a 56°C por 15 minutos y luego a 100°C por 10 minutos adicionales, para que la resina (Chelex) capturara primero el ADN y luego lo liberara al medio líquido. El papel filtro fue macerado con la punta de una micropipeta, se centrifugó y el sobrenadante

fue recuperado en un tubo de 1,5 ml y guardado a -20°C. Se emplearon 10 µl de este extracto para realizar la PCR.

PCR - Se realizaron dos PCRs para cada una de las regiones a estudiar (K y ω utilizando los cebadores específicos:

Region K: KCGM7:5 '-CTAAATCGTTATTCTTATCATCACC-3'
KCG2P1: 5'TGAGGACCACCATGTGTATG-3',

Región ω: OCG2M9: 5'-TCCCCACACACCTCACC-3' y
OCG2P41: 5'-CATTATTTGACACATGGTATTAGC-3'

Los cebadores fueron diseñados usando la secuencia AF030693 de GENBANK™ y el software PCGENE – Intelligenetics, Inc) (Figura 1).

Cada una de las PCRs se realizó en un volumen total de 50 µl con 2.5 U de Taq polymerasa lote 2 producida en CIDEIM (13), 100 µl de cada dNTP (Gibco-BRL, Gaaithersburg, MD), 25 pmol de cada uno de los dos cebadores por reacción, 200 mM Tris-HCI (pH 8.4), 500 mM KCI, 2.5 mM (región K) 1,75 mM (región ω) de $MgCl_2$ y 10 µl de ADN. Las condiciones de reacción fueron: desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos, 35 ciclos de 95°C por 20 segundos, 52°C por 30 segundos (60°C para la región ω), 60°C por 30 segundos (72°C para la región ω) y extensión final a 60°C por 10 minutos (72°C para la región ω). Los fragmentos amplificados de ADN fueron separados por electroforesis en gel de azarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados en transiluminador de luz ultravioleta. Como control negativo de la reacción se utilizó agua destilada y como controles positivos, ADN de las cepas de referencia que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Cepas de referencia utilizadas para la determinación del número de repeticiones en las regiones K y ω del gen *cg2* de *P. falciparum*

	Región K		**Región** ω	
Cepas de referencia	**Número de Repeticiones**	**Peso molecular**	**Número de Repeticiones**	**Peso molecular**
HB3 – Honduras	13	361	32	712
INDO – Indochina	14	380	16	437
NSA - Brasil (patrón igual a 7G8)	12	343	14	394

El número de repeticiones de ambas regiones en las muestras, se determinó de acuerdo al peso molecular observado y su comparación con los pesos moleculares de dichas repeticiones en las cepas de referencia.

Análisis estadístico - Se determinó la frecuencia de las repeticiones en las muestras por grupo de respuesta terapéutica. Se elaboraron tablas de contingencia y se determinó el χ^2, nivel de significación 5% para la determinación de la correlación entre falla terapéutica y la presencia del patrón específico de repeticiones en las regiones K y ω del gen *cg2*.

Resultados

Estudio in vivo*:* La inclusión de pacientes se hizo en abril y agosto de 1999. Durante este período se diagnosticaron 32 pacientes con malaria por *P. falciparum* de los cuales se incluyeron 13 en el estudio. A pesar de que el tamaño de muestra calculado inicialmente era de mínimo 16, sólo de incluyeron 13 pacientes por razones éticas y de seguridad debido a la alta incidencia encontrada de falla al tratamiento con CQ /77,8%). De los 13 pacientes incluidos en el estudio, 4 fueron retirados (2 el día 1, 1 el día 3 y 1 el día 14): 1 por tomar SP y los otros 3 porque no podrían seguir asistiendo a los controles. A los 9 restantes se les completó seguimiento hasta el día 28 después de su inclusión. Los pacientes incluidos tuvieron una edad media de 30 años (rango 15-64), provenían 4 de Valle (corregimientos Buenaventura), 2 de Chocó (no Quibdó), y de Cauca, Nariño y Putumayo un caso de cada uno, la parasitemia media fue 5.766 (2.240-23.200) formas asexuales/µl. El resultado de la respuesta terapéutica se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Respuesta terapéutica de los pacientes incluidos

Respuesta terapéutica	**n = 9 (%)**
Falla Terapéutica Temprana (FTP)	2 (22,2%)
Falla Terapéutica Tardía (FTT)	5 (55,6%)
Respuesta Adecuada al Tratamiento (RCA)	2 (22,2%)
Total de Fallas Terapéuticas	**7 (77,8%)** **[95% IC: 40,2 – 96,1]**

Del total de pacientes con falla terapéutica, 4 procedían de corregimientos de Buenaventura, 1 del Cauca, 1 de Nariño y 1 de Putumayo.

***Análisis del polimorfismo del gen cg2*:** Las muestras en papel filtro de los 9 pacientes incluidos (7 con falla terapéutica y 2 con respuesta adecuada al tratamiento) fueron procesadas para la detección de las regiones K y ω del gen *cg2* y se encontró que 9/9 (100%) de las muestras mostraban un patrón homogéneo de 13 repeticiones en la región K y 15 repeticiones en la región ω.

En el análisis del número de repeticiones en las muestras de diferentes áreas endémicas de Colombia se encontraron diferentes patrones de polimorfismo del gen *cg2* con predominio de los patrones K/ω: 13/<14, 13/14 y 14/14, tal como se observa en la tabla 3. Las muestras de Leticia mostraron un patrón homogéneo de K/ω (12/14) (14).

Tabla 3. Número de repeticiones de las regiones K y ω del gen *cg2* de muestras de *P. falciparum* de diferentes áreas endémicas de Colombia

Áreas endémicas	**Región** K		**Región** ω			
	Repeticiones	**n**	**# Repeticiones**	**n**	**Patrón** K/ω	**n**
Cali (n=9)	13	9	15	9	13/15	9
Buenaventura	13	5	<14	4	13/<14	2
(n=10)	14	5	14	6	13/14	3
					14/<14	2
					14/14	3
Tumaco (n=6)	<12	1	<14	2	<12/14	1
	13	3	14	3	13/14	2
	14	2	15	1	13/<14	1
					14/14	1
					14/15	1
Quibdó (n=3)	13	1	14	3	13/14	1
	14	2			14/14	2
Caqueta (n=20)	13	14	<14	9	13/<14	8
	14	6	14	11	13/14	6
					14/<14	1
					14/14	5
Leticia (n=8)	12	8	14	8	12/14	8

Discusión

En los casos de malaria por *P. falciparum* que se diagnostican en Cali, hay una alta proporción de fallas terapéuticas a la CQ. A pesar de que la inclusión de casos debió detenerse por consideraciones éticas y de seguridad para los pacientes, fue posible encontrar un nivel de falla terapéutica de 77.8% [95% IC: 40,2 – 96,1] con los 9 pacientes incluidos. Para un nivel de fallas por encima del 25% recomienda la suspensión inmediata del uso del medicamento en evaluación y su reemplazo por un medicamento para el cual está demostrada su efectividad. El Ministerio de Salud en su nueva "Guía de atención clínica para el diagnóstico y tratamiento de la malaria" (15) recomienda la sustitución de CQ por amodiaquina (AQ) en el manejo de malaria no complicada por *P. falciparum* en todo el territorio colombiano. Sin embargo, el desconocimiento de esta guía y la no disponibilidad permanente de la AQ, son factores que contribuyen al uso continuado de CQ a pesar de estar demostrada su ineficacia en la mayoría de las áreas endémicas del país.

El número de repeticiones de las regiones K y ω del gen *cg2* encontradas en las muestras de los pacientes incluidos en Cali, demostró la presencia de un patrón homogéneo para todas las muestras a pesar de su origen diverso. El número de repeticiones de ambas regiones fue idéntico tanto para las muestras de pacientes con falla terapéutica como para las muestras de los pacientes con respuesta adecuada al tratamiento. Dicho patrón de 13 repeticiones de K y 15 repeticiones de ω no se ha asociado en estudios previos con resistencia a CQ. Se puede concluir entonces que el gen *cg2* podría no estar asociado a resistencia o que por lo menos su asociación no es

del 100%, además, la homogeneidad en el patrón de repeticiones puede responder al simple azar antes que a un patrón propio del área de estudio, lo cual se puede corroborar con los resultados de las muestras de otras regiones de Colombia.

A pesar de que el número de muestras analizadas de toda Colombia es pequeño y probablemente no representativo de cada una de las áreas, el número de repeticiones de K y ω encontradas demuestra la gran variabilidad genética existente entre regiones. Sin embargo, llama la atención el predominio del patrón 13K/14ω en general y la homogeneidad de las muestras de Leticia. El patrón de repeticiones 12K/14ω de las muestras de Leticia es idéntico al encontrado en cepas de referencia de Brasil (3D7 y NSA). Esto puede deberse a su localización en la zona de frontera y al alto flujo de personas que transitan de un país a otro por esta región, lo cual podría estar favoreciendo la diseminación de cepas resistentes hacia Colombia desde Brasil. Se desconoce la respuesta terapéutica a CQ de estas muestras por lo cual no es posible determinar si el patrón encontrado podría estar asociado a resistencia.

Los resultados obtenidos están apoyando lo sugerido previamente (6) en cuanto a que *P. falciparum* en América, presenta alelos diferentes del gen *cg2* a los encontrados en África y Asia. Esto podría deberse a que los parásitos de América tengan un origen evolutivo diferente de los parásitos de Asia y África y por consiguiente diferentes determinantes moleculares del fenotipo resistente a CQ.

Se ha postulado que el desarrollo de resistencia a CQ en *P. falciparum* es un proceso lento que requiere de un efecto acumulativo de polimorfismos genéticos en genes específicos (9,16). Al parecer el número de repeticiones de las regiones K y ω del gen *cg2* no son un factor suficiente para el desarrollo de resistencia y otras características de éste y otros genes podrían estar asociados con el mismo fenómeno (10). No se descarta al gen *cg2* como factor asociado a resistencia pero su papel en la resistencia a CQ sólo podrá establecerse en la medida en que se correlacionen todos sus polimorfismos (mutaciones puntuales y regiones repetitivas) con la respuesta terapéutica a CQ.

Referencias

1. Espinal C, Cortés G. Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in Colombia. Am J Trop Med Hyg 34, 1985: 675-680.
2. Blair S. Resistencia de *P. falciparum* a drogas en Colombia. Biomédica 6, 1986: 95-99.
3. Barrera L, Carrasquilla G, Méndez F. Murrain B, Banguero M, Zorrilla G. Prevalencia de la resistencia del *Plasmodium falciparum* a cloroquina. Evaluación *in vivo* en Buenaventura, Colombia. Agosto 1995 a julio 1996. 3er Congreso de la Asociación Colombiana de Infectología. Cali, Junio 1997.
4. Osorio LE, Giraldo LE, Grajales LF, Arriaga AL, Andrede AL, Ruebush T, Barat L. Assessment of therapeutic response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and sulfadoxine-purimethamine in an area of low malaria transmisión in Colombia. Am J Trop Med Hyg 61, 1999: 968-972.
5. World Health Organization.Management of uncomplicated malaria and the use of antimalarial drugs for the protection of traveleres. WHO/MAL/96.1075, 1996.
6. Su X, Kirkman L, Fujioka H, Wellems T. Complex polymorphisms in an ~330 kDa protein are linked to chloroquine-resistant *p. falciparum* in Southeast Asia and Africa. Cell 91, 1997: 593-603.

7. Basco L, Ringwald P. Molecular epidemiology of malaria in Yaounde, Cameroon V. Análisis of the omega repeat region of the *Plasmodium falciparum cg2* gene and chloroquine resistance. Am J Trop Med Hyg 61, 1999: 807-813.
8. McCutcheon K, Veale R, Frean J, Markus B. Raped detection of *cg2* polymorphisms in chloroquine-resistant and –sensitive isolates of *Plasmodium falciparum Plasmodm falciparum.* Trans R Soc Trop Med Hyg 93, 1999: 326-328.
9. Adagu I, Warhurst D. Association of *cg2* and *pfmdr1* genotype with chloroquine resistance in field samples of *Plasmodium falciparum* from Nigeria. Parasitology 119, 1999: 343-348.
10. Durand R, Gabbett E, Di Piazza J, Delabre J, LeBras J. Análisis of K and ω repeats of the *cg2* gene and chloroquine susceptibility in isolates of *Plasmodium falciparum* from sub-Saharan Africa. Mol B Parasitology 10, 1999:185-197.
11. World Health Organization. Assessment of Therapeutic Efficacy of Antimalarial Drugs for uncomplicated *falciparum* Malaria in areas with intense transmisión. WHO/MAL/96.1077, 1996.
12. Giraldo LE, *et al.* Frequency of the ASN-108 and THR-108 point mutations in the dihydrofolate reductase gene in *Plasmodium falciparum* from southwest Colombia. A J Trop Med and Hyg 59, 1998:124-128.
13. Pluthero F. Rapad purification of high-activity Taq DNA polymerase. Nucleic Acids Res 21, 1993: 4850-4851.
14. Gonzalez IJ, Varela RE, Murillo C, Ferro BE, Salas J, Giraldo LE, Zalis MG, Saravia NG. Polymorphisms in *cg*2 and pfcrt genes and resistance to chloroquine and other antimalarials in vitro in Plasmodium falciparum isolates from Colombia.Trans R Soc Trop Med Hyg. 97, 2003: 318-324.
15. Ministerio de Salud. Dirección general de promoción y prevención. Guía de atención clínica para el diagnóstico y tratamiento de la malaria. Bogotá. Colombia. Abril de 1999.
16. Basco L, Ringwald P. Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* and polymorphism of the *cg2* gene. J Inf. Dis 180, 1999: 1979-1986.

Evaluación comparativa de resistencia terapéutica de la sulfadoxina-pirimetamina y la combinación quinina oral y tetraciclina para la malaria por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones. Municipio de Puerto Rico, departamento de Pando, Bolivia

Alcira Paola Ángelo Barrios, Instituto SELADIS, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia

Resumen: *En el Municipio de Puerto Rico (Pando-Bolivia) se evaluó la respuesta de la malaria por* Plasmodium falciparum *sin complicaciones a la terapia con Quinina oral y Tetraciclina (QT) y Sulfadoxina-Pirimetamina (SP) utilizando el protocolo* in vivo *estandarizado OPS/OMS (1998) con un seguimiento de 28 días. La prueba básica consistió en registrar la información esencial del paciente: exploración clínica, temperatura corporal, peso corporal, parasitemia del día 0 (antes del tratamiento) y en administrar tratamiento supervisado. Las exploraciones clínicas y las pruebas parasitológicas se repitieron a los 1, 2, 7, 14, 21 y 28 días. Se utilizaron criterios clínicos y parasitológicos para clasificar la respuesta al tratamiento. Se evaluaron 30 pacientes (rango de edad 18 a 40 años): a 15 se les administró QT y a 15 SP. Completaron el estudio 29 pacientes (97%), un abandono (3%) y ninguna eliminación. La respuesta terapéutica entre los pacientes que recibieron QT mostró una Respuesta Clínica Adecuada (RCA) en un 87% y una Falla Terapéutica Tardía (FTT) en un 13%. Por otro lado los pacientes que recibieron SP mostraron una RCA en un 73%, un Fracaso Precoz al Tratamiento (FPT) en un 7% y un FTT en un 20%. Entre ambos esquemas de tratamiento no existe una diferencia significativa y tomando en cuenta el umbral nos muestra que la QT sigue siendo una droga de primera línea y la SP debería manejarse con cuidado.*

Palabras clave: Malaria*, Plasmodium falciparum*, Sulfadoxina, Pirimetamina, Quinina, Tetraciclina, Bolivia.

Introducción

El análisis de la malaria en el mundo realizado en 1988 mostró un deterioro cualitativo general, reflejado por el incremento de resistencia del parásito a las drogas antimaláricas; el aumento relativo de *Plasmodium falciparum* en áreas endémicas fuera de África tropical (de 15% en 1979 a 36% en 1988) y la frecuencia elevada de epidemias (1).

Hasta los inicios de 1960, la Cloroquina (CQ) era el medicamento de primera línea para el tratamiento de malaria por *P. falciparum* en América, basándose en su acción rápida, seguridad y bajo costo. Con el registro de resistencia a la CQ en Colombia y Brasil (2, 3) algunos países empezaron a cambiarla por la Sulfadoxina-

Pirimetamina (SP o Fansidar). Empezando en los años ochenta, la evidencia de resistencia creciente a SP en la región amazónica en Brasil hizo que se cambiara a Mefloquina (MQ) como droga de primera línea (4). La mayoría de los países en América ha adoptado la Estrategia Global de la Organización Mundial de la Salud para recomendar y proporcionar información sobre resistencia de los antimaláricos.

En Bolivia la alta incidencia y predominio de la enfermedad en dos terceras partes del territorio nacional han causado alta morbilidad en 1998, situándose después de las Infecciones Respiratorias agudas (IRAs) y las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs).

La ausencia de estudios publicados basados en protocolos estandarizados sobre la resistencia a antimaláricos en la región amazónica boliviana no permite introducir esquemas alternativos en el Programa Nacional de Control de la Malaria. Esta región representa el 65,9% de la superficie total del país, sin embargo su población alcanza apenas unos 700.000 habitantes, aproximadamente 10% de la población nacional. El aumento en la transmisión ha tenido un impacto severo en esta área económicamente deprimida, alcanzando un pico en 1998, con más de 37.000 casos informados en Beni y casi 5.000 en Pando.

El presente estudio se muestra como la alternativa factible para contribuir a la selección de esquemas terapéuticos que permitan un tratamiento eficaz de la malaria por *P. falciparum* sin complicaciones. Sus objetivos fueron a) Evaluar la resistencia terapéutica y b) Comparar el número de fallas terapéuticas con la administración de Quinina oral y Tetraciclina (QT) y Sulfadoxina-Pirimetamina (SP) en la malaria por *P. falciparum* sin complicaciones en el Municipio de Puerto Rico (Departamento Pando – Bolivia).

Materiales y métodos

Estudio epidemiológico prospectivo de malaria por *P. falciparum* sin complicaciones.

Área de estudio- Municipio de Puerto Rico en la Provincia de Manuripi del Departamento de Pando, 4.003 habitantes (Censo 2001), 6.100 Km², siendo la agricultura la actividad económica predominante. Comprende un Centro de Salud (Puerto Rico) y 2 postas sanitarias (Conquista y Manchester). Desde el punto de vista epidemiológico, corresponde a un área estable de transmisión y alta incidencia de malaria por *P. falciparum* sin complicaciones y complicada.

Tamaño muestral- Se determinó utilizando EPI INFO 6.0 (EpiTable test of two proportions). Para cada droga en estudio fue de 40 pacientes. Los fracasos terapéuticos para QT y SP fueron estimados en 5 y 35% (Mollinedo R., comunicación personal).

Criterios de inclusión - Pacientes con al menos uno de los siguientes criterios: sujetos entre 18 y 40 años; presencia de fiebre (temperatura axilar > 37.5 °C) o historia de fiebre durante las 24 horas previas en ausencia de otra causa obvia de fiebre

(pulmonía, sarampión, etc.); tener una monoinfección por *P. falciparum* (densidad parásito entre 500 y 100.000 parásitos asexuales/mm³) determinado por examen microscópico de gota gruesa y frotis de sangre periférica; estar comprometidos para volver al Centro de Salud para su seguimiento durante un período de 28 días y dar su consentimiento informado.

Criterio de exclusión - Pacientes con al menos uno de los siguientes criterios: mujeres embarazadas; cualquier evidencia de signos y síntomas de malaria severa o complicada (según la definición de Organización Mundial de la Salud, 1998); condición médica crónica o seria identificada por historia o examen clínico; historia de reacciones de hipersensibilidad a cualquiera de los medicamentos en estudio o al tratamiento utilizado como de segunda línea.

Medicamentos antimaláricos utilizados en el estudio - 1. Sulfadoxina -Pirimetamina (SP): 25 mg/kg (Fansidar® 500 mg/tableta). Única dosis oral. 2. Quinina oral y Tetraciclina (QT): 10 mg/kg divididos en tres dosis, cada 8 horas por 3 días (300 mg/tableta) con Tetraciclina 1 g/día (250 mg/tableta) dividido en cuatro dosis cada 6 horas. Todas las drogas administradas bajo supervisión del personal de salud. El paciente fue observado durante 30 minutos después del tratamiento por las reacciones adversas, principalmente vómitos. En caso de presentarse, el paciente fue redosificado con el 100% de la dosis original, y en caso de hipoglucemia se administró azúcar. En caso necesario se administró antipiréticos como Paracetamol (10 mg/kg, máximo 500 mg) para fiebre superior a 39°C y aplicación de esponja húmeda tibia u otras drogas antimaláricas las cuales fueron registradas en el Formulario de Registro de Caso.

Métodos de medición y exámenes de laboratorio - Los pacientes fueron asignados sistemáticamente a la asociación de drogas a ser evaluada. Todo paciente que se presentó en el Centro de Salud con fiebre y gota gruesa positiva para *P. falciparum* y que correspondía a los criterios de inclusión fue tomado como parte del estudio. El tratamiento se administró según el peso de los pacientes (redondeado el kilogramo más cercano). Se registró temperatura axilar (al décimo de un grado). El examen de la gota gruesa se realizó según los procedimientos descritos en *Basic Malaria Microscopy Part I* (WHO, 1991) y eventualmente la medida de hemoglobina. El control de calidad de las láminas de gota gruesa fue realizado en la Unidad de Parasitología y Vectores del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA) (La Paz-Bolivia).

Seguimiento del paciente - Una vez que el paciente fue incorporado al estudio se le indicó que regresara en los días fijados: Día 1, 2,7, 14, 21 y 28. El día de ingreso del paciente al estudio fue considerado como día 0. Los procedimientos que se realizaron durante el seguimiento se esquematizan en la Tabla 1. Los pacientes recibieron información sobre los efectos colaterales de la quinina, principalmente el "cinchonismo", zumbido en los oídos, vértigo, audición disminuida, náusea y ocasionalmente vómitos. A todos los pacientes se les proporcionó un mosquitero e

instrucciones para reducir el riesgo de re-infección. Los pacientes podían retirarse del estudio en cualquier momento que decidieran, así como los pacientes que desarrollaran signos y síntomas compatibles con malaria severa serían tratados con quinina intravenosa (10 mg/lg) y serían considerados como fracaso precoz del tratamiento (FPT). En caso de fracaso precoz o tardío del tratamiento, los pacientes originalmente tratados con SP fueron tratados con QT. Los pacientes que no completaron el esquema de visitas fueron incluidos en el análisis de pacientes con intención de tratamiento.

Tabla 1. Cronograma de procedimientos realizados a los pacientes desde día 0 (ingreso al estudio) hasta el día 28

	Gota gruesa	**Peso**	**Hemoglobina ***	**Examen clínico**	**Temperatura axilar**	**Tratamiento**	
						SP	**QT**
Día 0	x	x	x	x	x	x	xx
Día 1	x			x	x		xx
Día 2	x			x	x		xx
Día 7	x			x	x		
Día 14	x			x	x		
Día 21	x			x	x		
Día 28	x			x	x		

* Parámetro medido en lugar del valor del hematocrito.

Evaluación de la respuesta al tratamiento - Se consideró bajo el criterio de la respuesta terapéutica, basada principalmente en los cambios en la condición clínica del paciente en respuesta a una dosis normal del medicamento antimalárico siendo clasificados como Fracaso Precoz del Tratamiento (FPT), Fracaso Tardío del Tratamiento (FTT) y Respuesta Clínica Adecuada (RCA).

Consideraciones éticas - El protocolo se aplicó siguiendo las Normas de la OMS para la Práctica Clínica Adecuada (OMS, 1995) y la ejecución del estudio fue aprobada por el Comité Nacional de Ética y Bioética de Bolivia.

Resultados

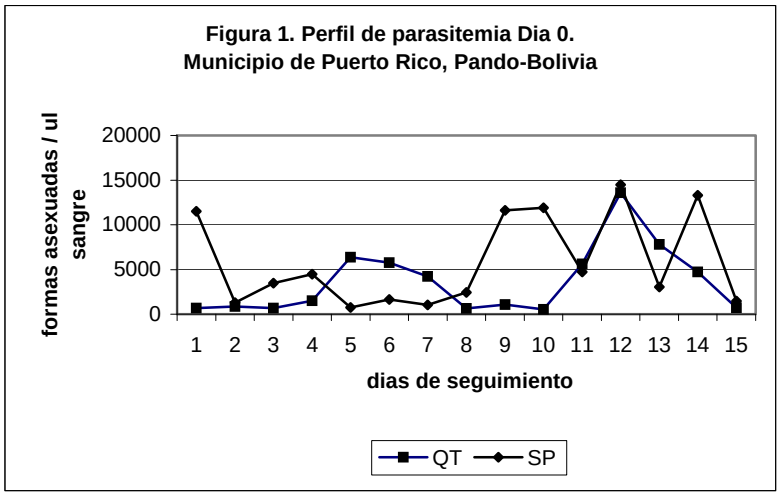
Entre junio de 2001 y julio de 2002, en el Municipio de Puerto Rico (Provincia Manuripi) se realizó el diagnóstico mediante gota gruesa de 5.407 pacientes, confirmando 135 casos por *P. falciparum*. Del total de positivos se reclutó a 30 pacientes (3%) que cumplían con los criterios de inclusión, asignándose 15 a cada tratamiento. Los dos grupos fueron comparables en lo relativo a edad, sexo, temperatura axial, signos de peligro, historia de fiebre en las 24 horas previas, densidad parasitaria, tolerabilidad, tratamiento previo y concomitante y cambio de tratamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Datos clínicos y de laboratorio. Municipio de Puerto Rico, Pando, Bolivia

Variables	Quinina-Tetraciclina	Sulfadoxina-pirimetamina	*P***
Nº pacientes	15	15	……
Edad (años)	25,60	25,53	0,978
Sexo	3 (F) / 12 (M)	3 (F) / 12 (M)	1
Temperatura °C (%)	37,52 (47%)	37,22 (53%)	0,464
Signos de peligro	0	0	1
Fiebre 24 hs previas	12 / 15 (80%)	14 / 15 (93%)	0,602
Parásitos/ µl - día 0			
Media geométrica	2035,82	3752,15	0,124
Rango	554 -13585	737-14488	

* Valor promedio. ** Valor simulado.

El perfil de la parasitemia del paciente, en el momento del reclutamiento (día 0) en función del esquema de tratamiento a seguir, no mostró una diferencia significativa (p = 0,124) (figura 1).



QT			SP		
673	5753	5623	11502	1653	4736
871	4216	13584	1306	1041	14487
677	660	7801	3473	2448	3049
1507	1074	4745	4480	11615	13280
6384	554	705	737	11900	1468

Cuando se administró QT o SP, la desaparición de formas asexuales el día 1 fue un 33%, el día 2 un 20% y el 40% restante desapareció entre el día 3 y 7, un paciente (7%) abandonó el estudio el día 3. En el grupo de estudio con SP, la desaparición de formas asexuales el día 1 fue un 13%, el día 2 un 20%, entre el día 3 y 7 un 60%, y en el día 14 el restante 13%.

Cuando se evaluó la respuesta terapéutica, 13/15 pacientes (87%) alcanzó una RCA a quienes se administró QT y 11/15 (73%) en el caso de SP. Un paciente al cual se le administró SP mostró un FPT, pero no se observó una diferencia significativa entre los dos grupos ($x^2 = 1{,}0345$, $p = 1$).

Dos pacientes a los cuales se les administró QT y a 3 a quienes se administró SP dieron un FTT, sin embargo no se observó una diferencia significativa entre los dos grupos ($x^2 = 0{,}24$, $p = 0{,}329$). Uno de los pacientes del grupo QT que mostró un FTT abandonó el estudio por traslado de domicilio a otro Municipio.

Por otra parte, 4/15 pacientes a los que en inicio se les administró SP, fue necesario darles el tratamiento alternativo QT. Este cambio de tratamiento se basó en criterios clínicos y parasitológicos (Tabla 3).

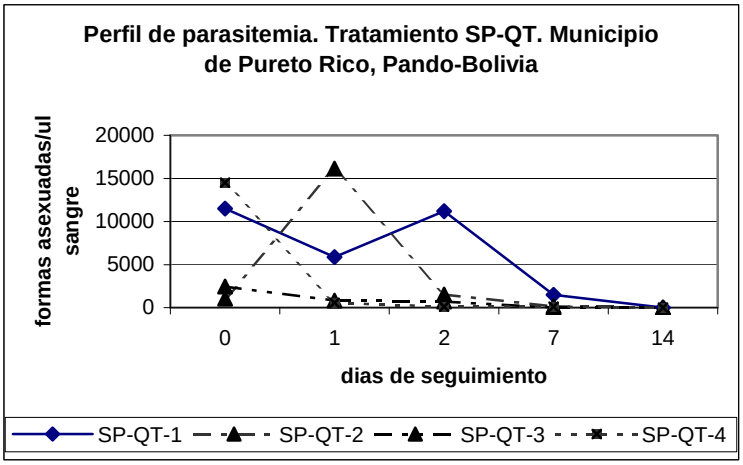
.

Tabla 3. Evaluación de la respuesta terapéutica en función del último tratamiento administrado (SP por QT), Municipio de Puerto Rico, Pando - Bolivia

Tratamiento / Respuesta terapéutica	**QT**	**SP**	***p* ***
Fracaso Precoz al Tratamiento	1/18	0/11	0,37
Fracaso Tardío al Tratamiento	2/13	3/12	0,13

* Valor simulado

Concluido el tratamiento con QT en los 4 casos, éstos negativizaron la parasitemia, pero no se observó una diferencia significativa entre los que cambiaron de fármaco y los que no cambiaron ($x^2 = 4.615$, $p = 0.098$) (Figura 2).



Código	Dia 0	Dia 1	Dia 2	Dia 7	Dia 14
SP-QT-1	11502	5861	11200	1480	0
SP-QT-2	1041	16118	1517	142	0
SP-QT-3	2448	827	712	0	0
SP-QT-4	14487	574	94	95	0

Los pacientes de ambos esquemas terapéuticos toleraron la medicación por vía oral y no manifestaron evidencias de complicaciones. Los porcentajes encontrados cuando se evaluó las variables "vómitos, *rash* y dificultad al caminar" se relacionan con los días de administración de las drogas y el inicio de la enfermedad. La presencia de *rash* en el 20% de pacientes a quienes se administró SP desapareció al día 2. (Tabla 4).

Tabla 4. Evaluación de tolerabilidad de Quinina-Tetraciclina (QT) y Sulfadoxina- Pirimetamina (SP) por día desde administración (Día 0). Municipio de Puerto Rico, Pando – Bolivia

Tratamiento	**QT (%)**			**SP (%)**	
Reacciones adversas	**D0**	**D1**	**D2**	**D0**	**D1**
Vómitos	13	7	13	7	33
Rash	7	7	7	0	20
Dificultad al caminar	20	86	67	53	93
Sin ningún efecto	73	13	27	47	0

Sólo se pudieron determinar concentraciones de hemoglobina en 6 pacientes del grupo QT y 6 del grupo SP en algunos días (Tabla 5).

Tabla 5. Determinación de hemoglobina (g %). Municipio de Puerto Rico, Pando – Bolivia

Tratamiento	**Quinina-Tetraciclina**	**Sulfadoxina-Pirimetamina**
Día 12	11,7	10,7
DIA 14	12,4	14,8
DIA 21	13,7	13,6
DIA 28	14,0	13,7

En todas las visitas se evaluó el estado del paciente, su temperatura corporal, etc. Asimismo, en cualquier otro momento en que el estado clínico lo requirió se realizó un examen parasitológico. Entre los antecedentes registrados en el reclutamiento de pacientes se tomó en cuenta el tratamiento previo con antimaláricos. En el transcurso del tratamiento con ambos esquemas terapéuticos se acompañó con antipiréticos (Paracetamol).

Discusión

La resistencia a los medicamentos por *P. falciparum* es la causa principal del resurgimiento a nivel mundial de la enfermedad y está asociada con el aumento de la mortalidad y morbilidad de la enfermedad. Por lo general la susceptibilidad a las drogas depende de la intensidad de la infección, de la fase de la enfermedad, de la respuesta inmunitaria del enfermo, de la concentración plasmática de la droga, de la duración de la aplicación del medicamento y no únicamente de la resistencia del parásito a las drogas. Al existir diferentes parámetros de valoración clínica o

parasitológica para evaluar la farmacoresistencia a antimaláricos, en el presente estudio, siguiendo el protocolo estandarizado OPS/OMS (1998), la discusión se engloba en cinco aspectos importantes en base a los resultados obtenidos.

Datos clínicos y de laboratorio al día de reclutamiento de los pacientes: Algunos estudios registran mayor incidencia de malaria por *P. falciparum* sin complicaciones en el sexo masculino, resultado observado también en este estudio. Las diferencias inherentes al sexo están dadas por las características de la transmisión de la malaria, ya que el sexo masculino realiza más actividades extradomésticas con mayor exposición de riesgo. Por definición la malaria sin complicaciones muestra signos y síntomas (fiebre y escalofríos) variables, que pueden ser difusos, pero la mayoría de los pacientes presentan fiebre alta (5), sin embargo en el presente estudio este parámetro de valoración clínica no obligatoriamente denota fiebre en todos los pacientes reclutados.

La correlación entre anemia, síntoma característico de la malaria, y parasitemia, en este estudio ha estado limitada y solo se determinó algunos días.

Perfil de parasitemia con los dos esquemas terapéuticos: Quinina Tetraciclina y Sulfadoxima-Pirimetamina: Debido a la historia natural de la enfermedad, la existencia de una densidad parasitaria mayor o menor el día de reclutamiento no tiene valor absoluto en el sentido de eficacia terapéutica. En cambio el valor de la parasitemia en días posteriores al tratamiento señala si la droga ha sido eficaz. Por otra parte la relación entre hiperparasitemia y severidad de la enfermedad es variable en diferentes poblaciones y grupos de edad, pero en general el aumento de la densidad parasitaria está asociado con alto riesgo de enfermedad grave (6). En el presente estudio todos los pacientes ingresaron con un nivel de parasitemia dentro del diagnóstico de la malaria sin complicaciones. Se vigilaron los niveles de parasitemia en caso de presentar cualquier indicio clínico de gravedad y en el caso de no observarse descenso se presumió que la cepa de *P. falciparum* involucrada era resistente a la droga en estudio.

El perfil de parasitemia en ambos grupos de estudio no mostró diferencias significativas. Aunque se observó que el grupo QT partía de una parasitemia menor que el grupo SP y durante el seguimiento fue negativizándose en la mayoría de los pacientes en forma más rápida. La desaparición total de formas asexuales del parásito en los pacientes a los cuales se administró QT y SP se presentó entre los días 3 y 7. Estas observaciones nos sugieren que la densidad parasitaria es un factor fundamental en la evolución de la infección por *P. falciparum*, por lo cual los resultados de recuento parasitario pueden usarse como referencia para la orientación terapéutica.

Evaluación de la respuesta terapéutica después del tratamiento: La resistencia a múltiples agentes quimioterápicos es ya una característica de las cepas circulantes en casi todos los países donde ocurre malaria por *P. falciparum* (7). En América del Sur la resistencia a Cloroquina y a la asociación SP fue reportada en 1961 y se encuentra ampliamente distribuida actualmente en toda la cuenca amazónica donde circularían cepas resistentes (2, 3,8-11), y la resistencia es mayor al 30%, mientras que la

Cloroquina y la SP se mantienen en niveles óptimos en la costa norte del Perú (12). En Bolivia se señaló por primera vez en 1969 la posibilidad de *P. falciparum* resistentes a la Cloroquina (13). Existen estudios realizados en Bolivia desde la década de los 80, como resultado del incremento de fracasos terapéuticos a lo largo de la frontera con Brasil, pero las diferentes metodologías, y la condición de inéditos de muchos de ellos, torna imposible la comparación de resultados. Un estudio reciente sobre eficacia de Mefloquina y Mefloquina/Artesunato en Municipios del Dpto. de Beni y Pando mostró una sensibilidad del 100% (14). Por otra parte, durante muchos años se ha percibido una sensibilidad reducida a la Quinina, aunque la existencia de un nivel elevado de resistencia no está bien documentado, algunos estudios reportan el uso QT como antimalárico de primera línea en Colombia, Guyana, Guayana Francesa y Surinam (4).

En el presente estudio se determinó un 13% de fracaso terapéutico para la QT y un 27% para SP, en comparación a lo observado por personal de salud de la región amazónica, 5% para QT y 35% para SP. Estos resultados indican que la Quinina en combinación con la Tetraciclina sigue siendo una droga de primera línea y la SP debería manejarse con cuidado, dado que el umbral superior para considerar tasa de fracaso es de 25%, y el umbral inferior del 20% se considera aceptable para introducir dentro del Programa Nacional del Control de la Malaria.

Evaluación de la respuesta terapéutica en función del último tratamiento administrado: Las razones para cambiar la combinación de drogas de cada paciente debe valorarse por separado y tener en cuenta los factores que han conducido al fallo terapéutico (fracaso, no cumplimiento, efectos tóxicos, intolerancia), la historia previa del tratamiento, la potencial resistencia cruzada, efectos colaterales, interacciones potenciales de las drogas y su costo. También se debe tomar en cuenta la falta de adhesión o el estar siendo tratado con un régimen considerado en la actualidad como subóptimo. En las terapias subóptimas, la monoterapia debe abandonarse ya que podría causar problemas de emergencia de resistencias. En base a las experiencias en el Sudeste de Asia donde *P. falciparum* ha desarrollado resistencia a casi todos los medicamentos antimaláricos cuando se usa como monoterapia, los expertos en malaria están de acuerdo en que para ofrecer a los pacientes un tratamiento efectivo y evitar que las resistencias se propaguen aún más, lo ideal es adoptar protocolos que incluyan combinaciones de fármacos para retardar el desarrollo de resistencia y prolongar su vida útil (15). En este estudio, concluido el tratamiento con QT en los 4 casos, estos negativizaron la parasitemia, entonces el efecto se debe a esta última combinación de drogas, pero que no muestra una diferencia significativa entre los que cambiaron de droga y los que no cambiaron.

Evaluación de las condiciones de tratamiento que influyen en la respuesta terapéutica: En dos de los pacientes a quienes se administró inicialmente SP y que presentaron un fracaso al tratamiento (FPT o FTT) se constató que habían realizado un tratamiento sin concluir con Cloroquina y Primaquina; esto puede conducirnos a pensar que la ineficacia o resistencia de cualquiera de estos medicamentos, ejemplo la Primaquina, que afecta a fases tan distintas morfológicamente como el esquizonte

exoeritrocítico de *P. vivax* y el gametocito del *P. falciparum*, podrían manifestar resistencia al aplicar posteriormente otro tratamiento antipalúdico, hipótesis que deberá ser comprobada en posteriores estudios.

En conclusión, siguiendo el protocolo estandarizado OPS/OMS (1998) los resultados revelan que *P. falciparum* ha desarrollado resistencia a la QT y a la SP. Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los dos grupos tratados, pero que el esquema QT aún se mantiene como droga de primera línea y que el porcentaje de fracasos terapéuticos tempranos o tardíos encontrados en los dos grupos de estudio es menor al esperado al inicio del estudio. Por otra parte, la puesta en marcha de un protocolo estandarizado OPS/OMS y el seguimiento de los pacientes durante 28 días y la verificación de parasitemia y signos clínicos, nos hace presumir la evolución de la enfermedad y el momento de un fracaso precoz o tardío del tratamiento dado en un paciente que toma por primera vez este nuevo esquema de tratamiento o que realiza un tratamiento previo con otras drogas antimaláricas. Además, la observación sistemática de casos con parasitemia y aún desaparición de formas asexuales, será muy importante, entre otras cosas, para confirmar la ausencia real del parásito y el efecto real del medicamento y ausencia o presencia de resistencia o falla terapéutica, por lo que el protocolo OPS/OMS debería ser realizado como rutina. Los resultados del presente estudio permitirán orientar la Política Nacional de Control de la Malaria.

Referencias

1. Najera JA. Malaria Control. Achievements Problems & Strategies. WHO/CDS/RBM/99.10. WHO/MAL/99.1087, 1999.
2. Moore DV, Lanier JE. Observations on two *Plasmodium falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine. Am Trop Med Hyg 10, 1961: 5-9.
3 . Rodríguez DP. Casos de malaria por *Plasmodium falciparum* resistentes ao tratamento pela chloroquina. Archivos de Higiene e Saúde Pública 26, 1961: 231-235
4 . Bruce-Chwatt LJ, Black H,Canfield C et al. Chemotherapy of Malaria. WHO Monograph Series No 27 Geneve, 1986.
5 . Parra DM. Malaria. De la Quina a la vacuna sintética. Edit. El Piedemonte, 1995.
6. Loban KM, Polozok. Malaria. Mir Publishers Moscow, 1985.
7. Stennies GM, Marquiño W, Pardave B et al. Efficacy and molecular epidemiology of chloroquine and sulfadoxine/pyrimethamine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* infections in the Peruvian amazon. Am Trop Med Hyg 61 (suppl.), 1999: 291
8. Kremsner PG, Zotter GM, Fedmeier H et al. *In Vitro* drug susceptibility of *Plasmodium falciparum* in Acre, Brasil. Bull WHO, 1998.
9 . espinal CA, Cortes GT, Guerra P. Arias AE. Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in Colombia. Am Trop Hyg 34, 1985: 675-680.
10. Reyes S. Infecções malaricas por *Plasmodium falciparum* resistente ao tratamento con chloroquina. Situação no Brasil (1960-1981). Rev Bras Malariol Doencas Trop 33, 1981: 109-130.
11. CDC. Health Information for Internacional Travel, 1999-2000.
12. Ministerio de Salud. Informe técnico. Lima. Resistencia del *Plasmodium falciparum* a medicamentos antimaláricos en el Perú, 1999.
13. La malaria en Bolivia. Publicación Técnica N° 3. Ministerio de Salud y Previsión Social, 2000.
14. Trenton R, Marquino W, Zegarra, Mollinedo R et al. Eficacia de la Mefloquina (monoterapia) versus Mefloquina/Artesunato para infecciones por *Plasmodium falciparum* no complicado, 2000.
15. OMS, Serie de Informes Técnicos. Comité de Expertos de la OMS en Paludismo. Organización Mundial de la Salud.Ginebra, 2000.

Evaluación de eficacia terapéutica *in vivo* de Cloroquina y Sulfadoxina/Pirimetamina para el tratamiento de la malaria no complicada por *Plasmodium falciparum*, Municipio de Quibdó, Colombia

Lyda Elena Osorio, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Cali, Colombia

Artículo original: Osorio L, Giraldo L, Grajales L, Arriaga A, Andrade A, Ruebush T, Barat L. Assessment of therapeutic response of *P. falciparum* to chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine in a low malaria transmission area in Colombia. Am J Trop Med Hyg 61, 1999: 968-972.

Resumen: *La prueba estándar para la evaluación de eficacia terapéutica de drogas antimaláricas de la Organización Mundial de la Salud, para áreas con transmisión de malaria intensa, modificada por el CDC, se adaptó a las características clínicas y epidemiológicas de un área de baja transmisión en Colombia. Se determinó así la tasa de fallas terapéuticas a la Cloroquina (CQ) y Sulfadoxina-Pirimetamina (SP) en pacientes con malaria no complicada debida a* Plasmodium falciparum*, mediante una prueba* in vivo *de 14 días. Las adaptaciones fueron: enrolamiento casos ≥ 1 año edad con parasitemias > 1000 parásitos asexuales/µl, inclusión casos sin fiebre al día 0, y tratamiento de todos los casos con parasitemia al día 7 o después, independientemente de los síntomas clínicos (fiebre). Se tamizaron 728 pacientes en la Clínica de Malaria de Quibdó, 147 fueron incorporados al estudio. De los pacientes evaluables tratados con CQ 44 % (24) mostraron falla, 7 como Falla Precoz al Tratamiento (FPT) y 17 como Falla Terapéutica Tardía (FTT), de los tratados con SP 6% (4) mostraron falla, 2 FPT y 2 FTT. La falla terapéutica en el grupo CQ se asoció con la edad 1-14 años, pero no con el nivel inicial de parasitemia, malaria previa, o presencia de CQ o Sulfa en la orina en el momento del enrolamiento. Se recomienda evaluar la eficacia de Amodiaquina sola o en combinación con SP en Quibdó, usando la misma metodología con una escala basada en peso. Se entrenó en la metodología a personal del Programa Regional de Control de 3 departamentos de Colombia, para su replicación en otras localidades y obtener un conocimiento del nivel de resistencia a las drogas antimaláricas en Colombia y contribuir así a generar una política racional de uso de las mismas.*

Palabras clave: Malaria, eficacia terapéutica, *Plasmodium falciparum*, Sulfadoxina-Pirimetamina, Cloroquina, Colombia.

Introducción

La malaria es uno de los principales problemas de salud en Colombia. En 1995 se registraron un total de 187 082 casos confirmados, de los cuales 62 192 corresponden a casos de *P. falciparum* (1). Los departamentos con la incidencia más alta son los de la Costa Pacífica (Chocó, Cauca, Valle y Nariño), y los departamentos de Antioquia,

Córdoba y Guaviare. El diagnóstico y tratamiento es la principal estrategia de control de esta enfermedad en el país. Sin embargo, se desconoce la eficacia de la Cloroquina (CQ) y la Sulfadoxina/pirimetamina (SP) que son los medicamentos antimaláricos de primera línea para el tratamiento de malaria no complicada por *P. falciparum* en Colombia.

En 1986, Blair llevó a cabo una revisión de la literatura tanto nacional como internacional y los informes del Servicio de Erradicación de la malaria de los años 1961 a 1986 relacionada con la resistencia de *P. falciparum* a los medicamentos en Colombia y encontró que el 19,5% y el 34,5% de las cepas estudiadas *in vitro* o *in vivo* mostraban resistencia a la CQ y SP, respectivamente. Sin embargo, fueron pocos los estudios con adecuada rigurosidad científica por lo cual concluyó que no había suficiente claridad acerca de la resistencia a los medicamentos antimaláricos en el país que permitiera tomar decisiones para el uso de estos en el tratamiento de malaria por *P. falciparum* (2).

La situación actual es muy parecida ya que existen pocos estudios en los últimos 10 años y no se conocen las regiones endémicas donde hay o no hay resistencia de *P. falciparum* a la CQ. A pesar de esto, el Ministerio de Salud recomienda el tratamiento con CQ más SP en zonas donde no hay resistencia a la CQ y Amodiaquina más SP en zonas donde hay resistencia a la CQ. Para resolver esta incertidumbre y obtener datos que permitan dar recomendaciones a nivel nacional, este estudio evaluó la eficacia de CQ y SP contra *P. falciparum* en un área endémica para malaria en Colombia adaptando la metodología promovida por la OMS y capacitó personal que pueda replicar este estudio en otras áreas endémicas y acumular evidencia de la eficacia de los antimaláricos en otras zonas del país. Con estos estudios el Ministerio de Salud podrá tomar decisiones acerca del tratamiento de malaria por *P. falciparum* en Colombia.

Materiales y métodos

Protocolo - El protocolo utilizado en este estudio fue una modificación del protocolo estándar de 14 días *in vivo* desarrollado por el CDC, para probar la eficacia terapéutica de antimaláricos en el África sub-sahariana (3,4). Se realizaron cambios basados en las características clínicas y epidemiológicas de una área de baja transmisión de malaria en Colombia: enrolamiento casos $\geq$ 1 año edad con parasitemias $\geq$ 1000 parásitos asexuales/µl, inclusión casos sin fiebre al día 0, y tratamiento de todos los casos con parasitemia al día 7 o después, independientemente de los síntomas clínicos (fiebre). El período de seguimiento se mantuvo como en el protocolo estándar. Se desarrolló un manual operativo con el que se realizó un estudio piloto para validar el protocolo y los formularios, del que se infirió el umbral mínimo de parasitemia para enrolar casos. Aunque niveles superiores a los 1000 parásitos asexuales/µl serían deseables, esto hubiese limitado el número de casos elegibles, por la misma razón la fiebre al momento de la inclusión no fue considerada. El protocolo definitivo se realizó con personal entrenado en talleres específicos y contó con la asesoría de personal del CDC de los Estados Unidos.

Control de calidad - Del total de láminas producidas durante el estudio 50% fueron evaluadas para control de calidad con una concordancia del 98% (5). Portaobjetos con discordancia (positiva negativa) y aquellas con diferencias en el conteo de parásitos entre lectores con variaciones de coeficientes atípicos, calculados por cuartiles (6,7), fueron observadas por un tercer lector, el dato más próximo al tercer lector se consideró el valor verdadero. No se encontraron discordancias en la identificación de la especie.

Resultados

En la Clínica de Malaria de Quibdó, entre el 1º de marzo de 1997 y el 20 de enero de 1998, se atendieron 728 individuos con diagnóstico de malaria debida a *P. falciparum*. De ellos la mayor parte fueron de sexo masculino (59%) y adultos (media 19 años), y 87% refirieron haberla adquirido en el área rural o urbana de Quibdó. De los que reconocieron haberse automedicado 24% había tomado CQ, 3 con "Tónico Arquín" una preparación de CQ comercial, cuyas especificaciones para el tratamiento no corresponden con la dosis recomendada, y 2% Sulfa (tabla 1).

Tabla 1. Características sociales y demográficas y uso de drogas anti-maláricas en la población blanco (N=728), Quibdó, Colombia, 1997–1998

Característica	N	%
Sexo		
Masculino/Femenino	432/296	59,0/41,0
Edad media (años)	19	
<1	3	0,4
1-4	64	8,8
5-14	221	30,4
15-44	366	50,3
45-59	52	7,1
≥ 60	22	3,0
Ocupación		
Estudiante	213/722*	29,5
Infante	119/722	16,5
Minero	103/722	14,0
Act. doméstica	82/722	11,3
Albañil	71/722	10,0
Act. rural	64/722	9,1
Otra	70/722	9,6
Parasitemia inicial media geométrica (rango)	2275 p/mm^3 (5 - 70.113)	
Tomó otra medicación	121/600	20,0
Tomó Cloroquina	28/119	24,0
Tomó Sulfas	2/119	2,0
Sitio donde se adquirió malaria		
Quibdó	344/396	87,0
Área rural/urbana	166/177	48,0/52,00
Otra municipalidad	52/396	13,0

* Denominador según los datos disponibles para característica

De los 728 pacientes 147 (20%) cumplió los requisitos para ser enrolado en el estudio; un nivel de parasitemia menor al umbral aceptable (215 casos) y la imposibilidad de seguimiento (530 casos) fueron las mayores causas de exclusión. De aquellos enrolados se seleccionó por azar a 69 individuos al grupo CQ y 78 al SP. Sólo fueron incluidos en el análisis los pacientes que mostraron adherencia total al tratamiento y seguimiento, recibieron la dosis total de CQ y SP (25 mg/Kg), y no tomaron otra medicación con efectos antimaláricos durante el seguimiento (perdidos CQ 9, SP 12). Por otra parte, en Quibdó, como en otras áreas de Colombia, el tratamiento está formulado con base en una escala de edad. En este estudio cuando la dosis fue recalculada por peso (≥ 60 Kg fueron excluidos para este cálculo) se observó que 5 casos (11%) de aquellos que recibieron CQ fueron sub-tratados y todos mostraron falla terapéutica, aunque no debido a resistencia de *P. falciparum,* por lo que también fueron excluidos del análisis, mientras en el grupo SP lo mismo ocurrió con un paciente de 14 años. De esta manera el grupo CQ al fin del análisis estuvo constituido por 54 pacientes y el SP por 67. Las características demográficas y factores de confusión potenciales fueron comparables entre ambos grupos, excepto por un mayor porcentaje de CQ en orina en el día de ingreso en el grupo de tratamiento con CQ (tabla 2).

Tabla 2. Características demográficas y factores que pueden afectar la respuesta terapéutica en el grupo Cloroquina (CQ) y Sulfadoxina-Pirimetamina (SP). Quibdó, Colombia, 1997–1998

	CQ	**SP**
Edad mediana-años (rango)	19,5 (1-68)	16,0 (1-70)
Peso mediana-Kg (rango)	54 (10-90)	49 (10-120)
Parasitemia media geométrica día 0 (rango)	4775 p/mm^3 (1000-31,622)	5058 p/mm^3 (1000-35,727)
Malaria 6 meses previos	12%	15%
Presencia de CQ en orina	37%	19%

La respuesta terapéutica se categorizó según la clasificación de Organización Mundial de la Salud para áreas de transmisión malárica baja/moderada (8) en FTP (Falla Precoz al Tratamiento), FTT (Falla Terapéutica Tardía) o RCA (Respuesta Clínica Adecuada) (tabla 3). El análisis estratificado también mostró para el grupo CQ que la franja etarea de1-14 años estuvo asociado a la falla terapéutica y la de 15-44 años con respuesta al tratamiento, mientras otras características controladas fueron comparables (tabla 4). Es importante destacar que en el protocolo de este estudio se realizó un seguimiento a 14 días, por lo que pacientes que fueron clasificados como RCA pueden presentar FTT entre los días 14 y 28.

En relación a la prueba para CQ y Sulfa en orina, hicieron la prueba 102 pacientes elegibles, de los cuales 27% (28) y 9% (9) habían tomado una u otra respectivamente, y de ellos 6% tomaron ambas en el enrolamiento; en contraste sólo el 17% (CQ) y 0% (Sulfa) refirieron haber tomado los antimaláricos. Los pacientes CQ o Sulfa positivos en orina no fueron excluidos, por reflejar la situación real en las áreas endémicas de Colombia donde se tiene libre acceso a la medicación antimalárica.

Tabla 3. Respuesta terapéutica a Cloroquina (CQ) y Sulfadoxina-Pirimetamina (SP). Quibdó, Colombia, 1997–1998

	CQ (%) [IC 95%]	SP (%) [IC 95%]
Falla Terapéutica	24/54 (44) [32,58]	4/67 (6%) [2,15]
FPT	7/54 (13)	2
FTT	17/54 (42)	2
RCA	30/54 (56)	63/67 (94)

Tabla 4. Comparación en el grupo de tratados con Cloroquina entre los pacientes que presentaron falla terapéutica (N= 24) y los que presentaron respuesta clínica adecuada, Quibdó, Colombia, 1997–1998

Característica	Falla terapéutica	Respuesta terapéutica
Parasitemia día 0 p/mm^3	5284	4008
Edad media- años	12	26.5
1-14	14 (58%)	7 (23%) *
15-44	7 (29%)	23 (77%) *
45-59	2 (8%)	0
≥ 60	1 (4%)	0
CQ en orina	5/17 (29.5%)	10/23 (43%)
Sulfa en orina	1/17 (6%)	5/23 (21%)
Malaria previa	2/23 (9%)	4/29 (14%)

* $p<0.05$

Discusión

Aunque existen estudios realizados por el Ministerio de Salud de Colombia reconociendo la resistencia a CQ, su distribución y magnitud en el país es desconocida. Este estudio evaluó la eficacia terapéutica de CQ y SP para malaria no complicada por *P. falciparum* en una región endémica de malaria de Colombia y probó la metodología para realizar este tipo de estudios en áreas de baja transmisión.

En la municipalidad de Quibdó-Chocó se observó una alta proporción de fallas a CQ (44%) [$IC_{95\%}$ 32-58] y presencia de falla terapéutica a SP (6%) [$IC_{95\%}$ 2-15]. Desde la primera notificación de resistencia de *P. falciparum* a CQ en la Costa Pacífica de Colombia en 1968 (9), se realizó un estudio de eficacia en el sur, en Tumaco-Nariño (10), y otro en el área central Buenaventura -Valle (11), con 50% de falla terapéutica a CQ en casos > 5 años y prueba de orina negativa a CQ. Resistencia a CQ y SP se ha descrito para otras regiones de Colombia, Sin embargo no es posible determinar si existe una modificación en el nivel de resistencia de *P. falciparum* en la región, dado que estos estudios previos utilizaron metodología no comparable con la utilizada en el presente trabajo (criterio de inclusión, cálculo de densidad de parasitemia, esquema de seguimiento, y definiciones) (2,12).

La política actual de control de la malaria, en todo el mundo, aboga por medidas racionales basadas en investigación local con metodología estandarizada. El

protocolo utilizado en este estudio, con ajustes operacionales mínimos, será útil para la evaluación y monitoreo de la eficacia terapéutica de drogas antimaláricas en otras zonas de baja transmisión de Colombia. El personal entrenado durante el desarrollo de la investigación podrá replicar el ensayo en Guaviare, Bajo Cauca y Urabá antioqueño, aportando datos para re-evaluar las guías de tratamiento. En este sentido el Ministerio de Salud ya ha expresado su compromiso para revisar la política actual de tratamiento de malaria no complicada a *P. falciparum,* con la constitución de un grupo de trabajo sobre el tema.

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados también para adoptar la decisión local sobre uso de CQ como droga de primera línea en la malaria no complicada a *P. falciparum*. Así se deberá probar en Quibdó la droga de segunda línea, recomendada por el Ministerio para áreas con cepas CQ resistentes, la Amodiaquina, sola o en combinación con SP, con el personal entrenado y la infraestructura ya desarrollada, tornando a esta localidad en centro centinela y capacitador.

Las características de la población estudiada y los criterios de inclusión no permiten anticipar la respuesta terapéutica en pacientes con mayores niveles de parasitemia u otras regiones. Por otra parte, la automedicación en la población ha sido subestimada, se supone que una alta proporción de pacientes que concurren a la clínica y tienen diagnóstico por *P. vivax* o negativo han realizado tratamientos antimaláricos. Por ello se sugiere realizar un estudio para evaluar las prácticas en relación a estas drogas y su relación con la resistencia, para ser comparado con otras regiones de Colombia.

Un hallazgo interesante fue la asociación entre edad (1-14 años) y falla terapéutica, relación que ya fue observada en tres comunidades indígenas del Chocó (9). Esta asociación podría deberse a factores como la dificultad de ingesta de la droga, emética y de mal gusto, o un metabolismo o respuesta inmune diferencial según la edad.

Además, es necesario cambiar la formulación basada en edad por una escala basada en peso, ya que una proporción importante de las fallas terapéuticas se podrían deber a sub-tratamiento. En estudios futuros también se deberá recomendar el control de calidad de la droga, aunque en este trabajo se uso un único lote.

Finalmente, aunque son necesarios más datos para determinar la distribución e intensidad de la resistencia a CQ y SP en Colombia, la información provista por este trabajo contribuye a establecer la resistencia a CQ, y fundamentar el reemplazo de CQ para malaria no complicada por *P. falciparum,* al menos localmente. Para ello es esencial mantener una vigilancia periódica de la eficacia terapéutica de las drogas antimaláricas, con metodología estandarizada y control de calidad riguroso.

Referencias

1. Ministerio de Salud Unidad Administrativa Especial de Campañas Directas 1995 Plan Nacional de Prevención y Control de la Malaria
2. Blair-Trujillo S 1986 Resistencia de *P. falciparum* a drogas en Colombia. Biomédica 6:95:99

3. Ettling M, Mulenge M, Ruebush T, Bloland P,Walker A, Nkunika S, Chimumbwa J. Internal Document. July, 1995
4. Antimalarial Drug Policies: Data requirements, treatment of uncomplicated malaria and management of malaria in pregnancy. WHO/MAL/94.1070. Geneva :WHO
5. Fleiss J. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second edition. John Wiley and Sons Inc., 1981
6. Conoever WJ. Practical Nonparametric Statistics. Second edition. John Wiley and Sons Inc. 1980.
7. Bigby M. and Gadenne AS. Understanding and evaluating clinical trials. J Am Acad Dermatol 34, 1996: 555-589.
8. Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs in areas with intense transmission. WHO/MAL/96.
9. Comer R, Young M, Porter J, Gauld J and Merritt W. Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria on the Pacific Coast of Colombia. Am J Trop Med Hyg 17, 1968: 795-799.
10. Florez D. Estudio comparativo de la respuesta parasitológica y clínica del Paludismo falciparum a 3 esquemas de tratamiento. Ministerio de Salud. Dirección de Campañas Directas. SEM. OPS/OMS. Documento interno, 1988.
11. Barrera L, Carrasquilla G, Méndez f, Murrain B, Banguero M, Zorrilla G. Prevalencia de la resistencia del *P. falciparum* a la cloroquina. Evaluación in vivo en Buenaventura. Abstract. Tercer Congreso Nacional de Infectología. Cali, Junio 1997.
12. Soto J, Martínez R, Fonschiffrey G, Dember J. Efficacy of Fansidar for Acute Uncomplicated Malaria due to *P. falciparum* in Colombia. Trans R Soc Trop Med Hyg 89, 1995:306.

Evaluación de la eficacia terapéutica y de la seguridad de la combinación de amodiaquina y sulfadoxina/ pirimetamina en el tratamiento de malaria no complicada por *Plasmodium falciparum* en el municipio de Tadó, Chocó, en la costa pacífica colombiana

Iveth Jimena González Jiménez, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Cali, Colombia

Resumen: *Se evaluó la eficacia terapéutica y se determinó la proporción de efectos adversos de la combinación de amodiaquina (AQ) y sulfadoxina / pirimetamina (SP) en el tratamiento de malaria no-complicada por* Plasmodium falciparum *en el municipio de Tadó, Chocó, en la Costa Pacífica colombiana, entrenando a su vez al personal de salud de la localidad en la evaluación y vigilancia de la eficacia terapéutica de medicamentos antimaláricos. De los 37 pacientes que completaron el seguimiento, 4 (10.8%, IC 95%= [3,03-25,42]) presentaron falla. Todas las fallas fueron tardías con reaparición de parasitemia en los días 7, 14 y 28 de seguimiento. La genotipificación por PCR con los genes* msp1, msp2 *y* glurp *demostró que las fallas fueron debidas a recrudescencia de la infección. Estos resultados alertan sobre la posibilidad de la disminución de la eficacia de ambos medicamentos, aunque los resultados de evaluación de las monoterapias sugieren que las fallas a la combinación son debidas principalmente a la baja eficacia de AQ, con fallas por encima del 25%. La disminución de la eficacia de AQ hace necesario su reemplazo por nuevas estrategias terapéuticas para ser suministradas en combinación con SP, sin embargo, estos resultados no deben ser extrapolables a otras regiones endémicas de Colombia haciéndose necesario este tipo de evaluaciones en otras poblaciones. Los resultados de la evaluación de la seguridad de la combinación muestran que los eventos adversos más frecuentes fueron de tipo gastrointestinal, todos de intensidad leve, lo que permite recomendar continuar su uso en las regiones en donde su eficacia sea la esperada.*

Palabras clave: Malaria, amodiaquina, sulfadoxina/pirimetamina, *Plasmodium falciparum*, evaluación eficacia, Colombia.

Introducción

La malaria sigue siendo uno de los principales problemas de salud pública en el mundo. Uno de los factores que ha intervenido en el proceso de deterioro de la situación de malaria es la aparición de parásitos resistentes a los medicamentos de uso más común, especialmente *Plasmodium falciparum* (1). Colombia es un país endémico en donde la resistencia a los antimaláricos ya ha sido demostrada (2-5). En 1999, luego de varios estudios realizados en la Costa Pacífica colombiana en donde se encontraron altos niveles de resistencia a la cloroquina (CQ) (6, 7), el Ministerio de Salud recomendó el reemplazo de la CQ por amodiaquina (AQ) en combinación

con sulfadoxina/pirimetamina (SP) para el tratamiento de la malaria no complicada por *P. falciparum* (8).

La AQ ha sido usada previamente en varias áreas de Colombia y ya se ha informado variabilidad en su eficacia (5). Se cree que debido a que la AQ pertenece a la familia de las 4-aminoquinolinas, de la cual se deriva también la CQ, se puedan presentar niveles significativos de falla al tratamiento por resistencia cruzada de las poblaciones de parásitos circulantes en las áreas endémicas. En Colombia existen cepas de *P. falciparum* resistentes a CQ y a SP por lo cual podrían presentarse casos de falla terapéutica a la combinación AQ+SP acortando el tiempo de vida útil de esta combinación como tratamiento antimalárico en el país. Por otra parte, el uso de AQ en el tratamiento antimalárico ha sido discutido debido a la posibilidad de desarrollarse eventos adversos graves tales como agranulocitosis y toxicidad hepática, además de los más comunes como náuseas, vómito y prurito (9). Si bien ningún medicamento antimalárico es totalmente inocuo, en la actualidad no se conoce hasta qué punto su uso combinado con otros medicamentos pueda potenciar la aparición de eventos adversos y, especialmente, si el otro medicamento es SP, al cual se ha asociado la aparición de náuseas, vómito, reacción de hipersensibilidad, pancitopenia y toxicidad hepática (10).

El uso de terapias combinadas es una de las estrategias propuestas para la prevención y control del surgimiento y aumento de la resistencia a los antimaláricos (11). Si bien en Colombia se ha seguido esta recomendación desde hace varios años, las decisiones sobre los esquemas de manejo se han hecho basadas en las evaluaciones de los medicamentos de manera individual. Este es el primer estudio en el cual se ha determinado la eficacia terapéutica y la seguridad de la combinación de antimaláricos AQ+SP, en uso actual en Colombia para el tratamiento de la malaria no complicada por *P. falciparum.* La vigilancia continua de las fallas al tratamiento antimalárico en uso es uno de los elementos establecidos como estrategia dentro del marco de la iniciativa "Hacer Retroceder el Paludismo" de la Organización Mundial de la Salud y es la actividad principal de la Red de Fármaco-vigilancia en Malaria en Colombia a la cual este proyecto ha aportado información e infraestructura para su desarrollo. En este sentido se destaca que el incremento de casos de malaria en el municipio de Tadó, en el que se implementa el estudio, ha presentado un aumento notable de casos de malaria en los últimos años, de 146 casos en 1997, a 1.532 en 1999 y 1.431 en 2001, 90% de los cuales han sido producidos por infección con *P. falciparum*. Durante el desarrollo de la investigación, entre los meses de mayo de 2001 y mayo de 2002, se presentaron 3.837 casos de malaria, de los cuales 2.788 (72,7%) fueron producidos por *P. falciparum*, 955 (24,9%) por *P. vivax*, y 94 (2,4%) por infección mixta.

Materiales y métodos

Área de estudio- municipio de Tadó, 26.781 habitantes, localizado en el departamento de Chocó al norte de la Costa Pacífica. Es una de las poblaciones que más casos de malaria por *P. falciparum* informa en toda Colombia. Este municipio se

caracteriza por su gran actividad de agricultura y minería lo cual no sólo facilita el contacto de sus habitantes con el vector (41% viven en el área rural), sino que también favorece la creación de criaderos de mosquitos que hacen que haya transmisión inestable durante todo el año.

Capacitación del personal - Al inicio del estudio, se realizaron actividades de difusión del proyecto por medio de reuniones con el personal del Hospital San José de Tadó, con los representantes de la comunidad y por medio del programa radial del hospital en la emisora local. Para el desarrollo de las actividades se realizó un taller teórico y práctico en Mayo de 2001 y posteriores entrenamientos individuales en el protocolo estandarizado de la Organización Panamericana de la Salud para la "Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones en las Américas" (12). Entre Noviembre 30 y Diciembre 7 de 2001 se realizó un taller teórico y práctico de diagnóstico microscópico de malaria coordinado por Claribel Murillo, bacterióloga de CIDEIM experta en diagnóstico de malaria.

Evaluación de eficacia terapéutica y seguridad - La evaluación de la eficacia terapéutica y de la seguridad de la combinación de AQ y SP se llevó a cabo por medio de un ensayo clínico con tratamiento supervisado y seguimiento clínico y parasitológico durante 28 días, de acuerdo al protocolo estandarizado de la OPS para la "Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones en las Américas" (12).

Tamaño de la muestra - El tamaño de la muestra se calculó teniendo en cuenta la metodología de muestreo doble para control de calidad de lotes de Lemeshow y Taber (13) recomendada en el protocolo de OPS con error α=0.05 y poder del 80%. Teniendo en cuenta un nivel máximo de fallas terapéuticas del 10% y un nivel mínimo de fallas del 3%, la metodología recomienda incluir inicialmente 49 pacientes. Si en este grupo inicial se encuentran 0 fallas, se suspende la inclusión de pacientes y se considera que el nivel de fallas es menor del 3%; si se encuentran más de 2 fallas, se suspende igual la inclusión y se considera que el nivel de fallas es mayor al 10%. En caso de que las fallas encontradas sean de 1 o 2, se continuará la inclusión de pacientes hasta encontrar 3 fallas en total o hasta completar un grupo de 83 pacientes en total. Adicionando el 20% de probabilidad de pérdida de pacientes, se considera la inclusión de un máximo de 100 pacientes. Se realizó el cálculo del tamaño de muestra en el programa *Epi Info* 6.04, para un nivel de 5% de presencia de eventos adversos con error α=0.05 y poder del 80%. El n recomendado fue de 49 pacientes, el cual corresponde al n del grupo inicial para la determinación de fallas.

Inclusión de pacientes y procedimientos - El presente estudio se desarrolló en Tadó de manera conjunta con el proyecto "Determinantes del hospedero y del parásito en la falla terapéutica a antimaláricos" financiado por programa TDR de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el cual se evaluó la eficacia de AQ y SP como monoterapias. *Criterios de inclusión*: $\geq$1 año de edad, infección pura de *P.*

falciparum, conteo parasitario > 500 y <50,000 formas asexuales/µl, posibilidad de retorno durante el seguimiento de 28 días. *Criterio de exclusión*: mujeres embarazadas, individuos con riesgo de malaria grave o riesgo por estado basal de salud (cardíaco, renal, hepático, malnutrición), historia de alergia a las drogas de estudio, enfermedad concomitante que requiera medicación. Los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y aceptaron participar en estos estudios por medio del consentimiento informado, fueron asignados al azar a uno de los tres esquemas de tratamiento (AQ sola, SP sola y AQ+SP). En total se incluyeron 120 pacientes de los cuales 37 (30.8%) recibieron AQ sola, 39 (32.5%) recibieron SP sola y 44 (36.7%) recibieron la combinación de AQ+SP según se describe: AQ 25mg/kg dividido en tres días (10 mg/kg día 0, 10mg/kg día 1, y 5mg/kg día 2), SP en una dosis simple de 25mg/kg sulfadoxina y 1,25mg/kg pirimetamina en el día 0, para la combinación se usaron las mismas dosis y SP se administró con la primer dosis de AQ. Las fallas terapéuticas con AQ se trataron con SP y viceversa, las fallas de AQ+SP se trataron con Quinina 10mg/kg cada 8h por 3 días más clindamicina 20mg/kg/día por 5 días. El tratamiento se realizó bajo supervisión de los investigadores que evaluaron diariamente el estado de salud y parasitemia de los pacientes, y luego del tratamiento semanalmente por un mes (días 3, 7, 14, 21, 28 luego de la primera dosis). Análisis hematológicos, de función renal y hepática se realizaron en el momento de la inclusión y a los 14 días del seguimiento.

Resultados Y DISCUSIÓN

De los 44 pacientes que recibieron tratamiento con la combinación de AQ+SP, 37 completaron seguimiento. Los 7 restantes fueron retirados del estudio por las siguientes razones: 3 no fue posible localizarlos durante el seguimiento, 2 se retiraron de manera voluntaria, 1 no asistió a seguimiento en uno de los días de tratamiento y 1 presentó infección concomitante por *P.vivax* durante el seguimiento.

La edad promedio de los 44 pacientes incluidos inicialmente en el estudio fue de 21,6 años, con un rango entre los 6 y los 57 años, siendo 22 (50%) de ellos de sexo femenino. Todos fueron de raza negra, 27 (61,4%) estudiantes, 6 (13,6%) amas de casa y 11 (25%) estaban dedicados a otros oficios varios. Treinta y nueve (88,6%) de ellos refirieron haber tomado tratamiento para el presente episodio de malaria, en general analgésicos, negando haber tomado tratamiento antimalárico. Veinticuatro (55,8%) pacientes refirieron haber tenido malaria previamente, 15 (62,5%) en los 6 meses previos al episodio actual y 9 (37,5%) entre 7 y 12 meses antes del episodio actual.

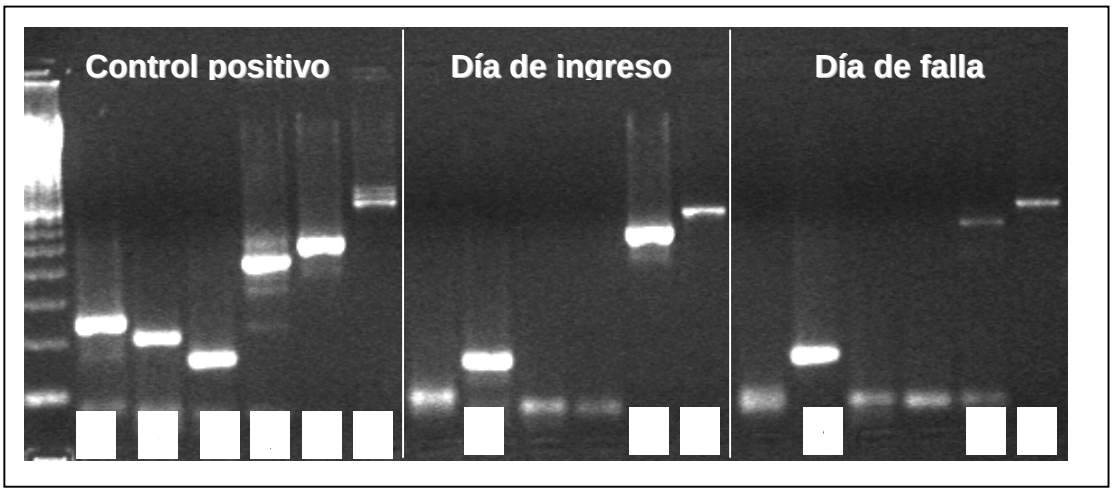
Los síntomas más frecuentes asociados al episodio actual de malaria fueron: fiebre (95,5%), cefalea (90,9%), escalofríos (84,1%), sudoración (70,5%), somnolencia (61,4%) y osteomialgias (60,5%). En el momento del ingreso, 10 (22,7%) pacientes presentaron fiebre y a partir del día 2, ningún paciente volvió a presentar fiebre.

Los pacientes tuvieron al momento de la inclusión parasitemias entre 0 y 15.000 formas asexuales/µl con una media geométrica de 1.318 formar asexuales/µl. El

criterio de inclusión de parasitemia fue de mínimo 500 formas asexuales/µl, sin embargo, 9/44 (20,5%) pacientes que en el momento del tamizaje cumplieron con este criterio, presentaron parasitemias menores de 500 formas asexuales/µl al tomarles, unas horas después, la gota gruesa del día 0 del estudio e incluso uno de ellos tuvo parasitemia de 0 sin haber tomado tratamiento. Se decidió incluirlos en el estudio basándose en el resultado de la gota gruesa del tamizaje. La parasitemia fue negativa en 28 (66,7%) pacientes en el día 2 y en 38 (95,0%) pacientes en el día 3. Sólo hubo un paciente en el día 7, uno en el día 14 y otro en el día 28 con parasitemia positiva, los cuales fueron clasificados como fallas al tratamiento.

De los 37 pacientes que completaron el seguimiento, 4 (10.8%, IC 95%= [3,03-25,42]) presentaron falla. De acuerdo a la metodología de muestreo utilizada, la inclusión de pacientes fue suspendida por encontrarse más de 2 fallas dentro de los pacientes incluidos. Todas las fallas fueron tardías con reaparición de parasitemia en los días 7, 14 y 28 de seguimiento. En todos los casos de falla se realizó análisis de genotipificación por PCR con los genes *msp1, msp2* y *glurp* con el fin de diferenciar recrudescencia de reinfección. A pesar de la baja amplificación del ADN en las muestras de los días de falla por las bajas parasitemias, fue posible confirmar que las fallas fueron debidas a recrudescencia de la infección (Figura 1). No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de falla al tratamiento y la edad, el sexo (p=0,6), tratamiento previo (p=1), malaria previa (p=0,28), parasitemia del día 0 (p=1), leucopenia en el día 0 (p=0,1) o anemia en el día 0 (p=1).

Figura 1. Genotipificación de *Plasmodium falciparum* con la amplificación de los genes *msp1*, *msp2* y *glurp* por la técnica de PCR para la diferenciación de recrudescencia de reinfección en casos de falla al tratamiento antimalárico con amodiaquina más sulfadoxina/pirimetamina en Tadó, Chocó, Costa Pacífica colombiana. **Control positivo**: mezcla de ADN de las cepas de referencia de *P. falciparum* 3D7, W2 y 7G8. **Día de ingreso**: Muestra del día 0 del paciente TA4923. **Día de falla**: muestra del día de falla del paciente TA4923. **1**: familia K1 de *msp1*; **2**: familia MAD20 de *msp1*; **3**: familia RO33 de *msp1*; **4**: familia FC27 de *msp2*; **5**: familia IC1/3D7 de *msp2*; **6**: gen *glurp*. Ambas muestras, del día 0 y del día de falla, amplificaron las mismas bandas confirmando que la falla se trató de recrudescencia y no de reinfección con otro parásito.



El tratamiento con la combinación de AQ y SP fue más efectivo que las monoterapias evaluadas simultáneamente, sin embargo, la diferencia del nivel de fallas entre los diferentes tratamientos no fue estadísticamente significativa. Fallas a AQ sola: 9/33 (27,3%, IC 95%= [13,30-45,52]) y fallas a SP sola: 5/31 (16,1%, IC95%= [5,45-33,72]).

Durante el seguimiento, los pacientes tuvieron monitoria clínica y de exámenes de laboratorio (hemograma, plaquetas y ALT) con el fin de detectar posibles eventos adversos asociados al tratamiento en estudio. De los 44 pacientes tratados con AQ+SP, 36 (81.8%) presentaron por lo menos 1 evento adverso durante el seguimiento: 20 (55,6%) pacientes presentaron entre 1 y 3 eventos adversos y 16 (44.4%) pacientes presentaron entre 4 y 9 eventos adversos. En total se presentaron 113 eventos adversos de los cuales los más frecuentes fueron: mareo (14.2%), cefalea (13.3%), prurito (12.4%), vómito (9.7%), dolor abdominal (8.9%), anemia (8%) y debilidad (7.1%). El mareo, la cefalea, la anemia y la debilidad podrían atribuirse al cuadro de malaria. Otros eventos adversos fueron náuseas (6.2%), anorexia (4.4%), diarrea (4.4%), hepatoesplenomegalia (2.7%) e ictericia (1.8%). Todos estos eventos adversos fueron de intensidad leve sin requerir la suspensión del tratamiento ni la toma de medidas de manejo especiales. Se encontró leucopenia en 5/44 (11,4%) pacientes en el día 14 que fue informada como evento adverso, sin embargo, no hubo asociación estadísticamente significativa entre este parámetro y el tratamiento evaluado (p=0,12). Ningún paciente presentó alteración de las plaquetas ni de la enzima hepática ALT.

En general, se presentaron más eventos adversos con la combinación de AQ+SP que con las monoterapias de AQ (84 eventos adversos) y SP (78 eventos adversos), sin embargo, no hubo diferencia en cuanto al tipo de eventos adversos encontrados.

Durante la ejecución de este estudio fue posible capacitar a un buen número de personas y establecer la infraestructura necesaria en Tadó para continuar con la evaluación de rutina de la eficacia de los antimaláricos, lo cual permitió que esta población fuera considerada como uno de los sitios centinela de la Red Nacional de Fármaco-vigilancia en Malaria en la cual participan el Ministerio de Salud, la OPS, las Seccionales de Salud Locales, el CIDEIM y la Universidad de Antioquia. El trabajo de la Red será desarrollado con el recurso humano capacitado en el marco de este proyecto.

En conclusión los resultados obtenidos refuerzan la necesidad de continuar con la evaluación de la eficacia de antimaláricos en esta población. El nivel de fallas al tratamiento con la combinación de AQ y SP encontrado (10,8%, IC 95%= [3,03-25,42]) presenta un amplio rango entre 3,03% y 25,42% debido a la poca cantidad de pacientes incluidos, sin embargo, el método de muestreo utilizado permite concluir que dichas fallas están por encima del 10%. Este resultado alerta sobre la posibilidad de la disminución de la eficacia de ambos medicamentos de manera individual, sin embargo, de acuerdo a los resultados de la evaluación de las monoterapias, se puede concluir que las fallas a la combinación son debidas principalmente a la baja eficacia de AQ para lo cual se encontró nivel de fallas por encima del 25%.

Los altos niveles de falla a AQ podrían deberse a resistencia cruzada de los parásitos circulantes con CQ y/o a la disponibilidad previa de AQ en la región

ejerciendo presión de droga sobre los parásitos. La disminución de la eficacia de AQ hace necesario su reemplazo por nuevas estrategias terapéuticas para ser suministradas en combinación con SP, sin embargo, estos resultados no deben ser extrapolables a otras regiones endémicas de Colombia haciéndose necesario este tipo de evaluaciones en otras poblaciones.

Las fallas encontradas a la combinación de AQ y SP, esquema de tratamiento de uso rutinario por el programa de control de malaria de Colombia, podrían ser una de las causas de los permanentes altos índices de malaria encontrados en esta y otras poblaciones del país. Se espera que estos resultados en conjunto con los que se obtengan en los otros sitios centinela de la Red, permitan tomar decisiones respecto a esquemas de manejo adecuados recomendados por el Ministerio de Salud para el tratamiento de la malaria no complicada por *P. falciparum*.

Los resultados de la evaluación de la seguridad de la combinación muestran que los eventos adversos más frecuentes fueron de tipo gastrointestinal, todos de intensidad leve, lo que permite recomendar continuar su uso en las regiones en donde su eficacia sea la esperada.

Referencias

1. Wyler DJ. Malaria: resurgence, resistance and research. N Engl J Med 308, 1983: 934-940.
2. Moore DV, Lanier JE. Observations of two *Plasmodium falciparum* infections with an abnormal response to chloroquine. Am J Trop Med Hyg 10, 1961: 5-9.
3. Espinal CA, Cortés GT, Guerra P, Arias AE. Sensitivity of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs in Colombia. Am J Trop Med Hyg 34, 1985: 675-680.
4. Blair S. Resistencia del *P. falciparum* a drogas en Colombia 1961-1986. Biomédica 6, 1986: 95-100.
5. Blair S, Lacharme LL, Carmona J. Tobón A. Resistencia de *Plasmodium falciparum* a tres fármacos antimaláricos en Turbo (Antioquia, Colombia), 1998. Pan Am J Public Healt 9, 2001: 23-29.
6. Osorio LE, Giraldo LE, Grajales LF, Arriaga AL, Andrade AL, Ruebush T, Barat L. Assessment of therapeutic response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine in an area of low malaria transmisión in Colombia. Am J Trop Med Hyg 61, 1999: 968-972.
7. Castillo CM. Osorio LE, Palma GI. Assessment of therapeutic response of *P. vivax* and *P. falciparum* to chloroquine in a malaria transmisión free area in Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002; In press.
8. Ministerio de Salud de Colombia. Guía de atención médica para el diagnóstico y tratamiento de la malaria. Resolución N° 0412 de 2000; cap. 37.
9. Neftel K, Woodly W, Schmidt R. Frich P. Fehr J. Amodiaquine to induced agranulocytosis and liver damage. B M J 292, 1986: 721-723.
10. Krishna S, Price RN, Ribeiro I. Side effects of drugs. 1998. Annual 21. Chapter 28:293-305.
11. White N, Olliaro P. Strategies for the prevention of antimalarial drug resistance: Racional for combination chemotherapy of malaria. Parasitol Today 11, 1996: 399-401.
12. Organización Panamericana de la Salud. Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones en las Américas. 1998; OPS/HCP/HCT/113/98.
13. Lemeshow S, Taber S. Lot quality assurance sampling: single and double sampling plans. World Health Statistics Quarterly 44, 1991: 115-132.

Estudio de la eficacia terapéutica de cloroquina y quinina para el tratamiento de la malaria por *Plasmodium falciparum*, en áreas del municipio Atures, estado Amazonas, Venezuela

Irma Rodríguez, Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar", Puerto Ayacucho, Estado Amazonas, del Ministerio de Salud y Desarrollo Social

Artículo original: Rodríguez I, Girón A, Veloso G, Carrasquel A, Margarita González M. Estudio clínico aleatorizado, comparativo de cloroquina y quinina para el tratamiento de la Malaria por *Plasmodium falciparum* en Amazonas, Venezuela. Bol Mal Sal Amb 15, 2005: 11-18.

Resumen: *Siendo Venezuela en 1959 el primer país en reportar la resistencia a la cloroquina del* Plasmodium falciparum*, aún no hay una clara evidencia de eficacia a dicha droga; la cloroquina y la quinina son las drogas empleadas como primera y segunda línea para el control de la malaria. Este estudio evaluó la eficacia de la cloroquina y quinina en pacientes con malaria* P. falciparum *en el Municipio Atures del estado Amazonas. El estudio es un ensayo clínico aleatorio, comparativo de cloroquina y quinina, basado en el protocolo de 28 días de la Organización Mundial de la Salud/ Organización Panamericana de la Salud, 1998. El grupo de 20 pacientes tratados con cloroquina presentaron 100% fracaso terapéutico a la droga; el segundo grupo de 30 pacientes tratados con quinina presentaron 80% (24) respuesta clínica adecuada a la quinina y 20% (6) mostraron fracaso terapéutico. El grupo con fracaso a la cloroquina fue rescatado con quinina. Un total de 8 (100%) pacientes con fracaso terapéutico a la quinina fueron rescatados con quinina-clindamicina y mostraron eficacia a la combinación de las drogas. Los efectos adversos registrados en pacientes fueron significativos (P = 0,007) entre cloroquina y quinina. Los resultados de este estudio, demuestran el fracaso terapéutico de la cloroquina y disminución de la eficacia de quinina. Se sugiere evaluar nuevos esquemas de tratamiento antimalárico, mantener los esquemas supervisados de tratamiento y establecer un sistema de vigilancia epidemiológica de las drogas antimaláricas empleadas en el estado Amazonas.*

Palabras clave: Malaria, *P. falcifarum*, cloroquina, quinina, eficacia terapéutica, Venezuela.

Introducción

El número de países que informa la presencia de *Plasmodium falciparum* resistentes a los antimaláricos se continúa incrementando. Entre las estrategias de control de la malaria en la región de las Américas se incluyen estudios de la eficacia terapéutica de los antimaláricos empleados en los Programas de Control en el ámbito local. El movimiento incontrolado de individuos hacia y fuera del municipio Atures

desde el departamento del Vichada (Colombia), donde el esquema de tratamiento antimalárico es diferente, y desde el estado Bolívar, donde se ha confirmado la resistencia a la cloroquina *in vivo*, ha contribuido a que aumente la posibilidad de desarrollo de resistencia a los medicamentos antimaláricos en Atures.

El primer caso de cloroquina-resistencia del *Plasmodium falciparum* fue reportado en Venezuela específicamente en Trujillo en 1960 por Maberti (1), y luego se reportó en otros Estados, tales como Bolívar, donde la resistencia fue también a la sulfadoxina-pirimetamina (SP) en el municipio Moitaco (2,3). Recientemente la resistencia a CQ fue igualmente observada en Guayana (4) y en zonas mineras de Bolívar (5). En el estado Amazonas, en el Alto Orinoco fue observada la resistencia a la CQ (6,7); en el municipio Atures fue observada la resistencia a la CQ y mefloquina (MQ) (8) y recientemente se observó la resistencia *in vitro* de 22% a la CQ y 3% a la QN en 19 pruebas evaluadas (9).

Los antecedentes de resistencia mencionados en el municipio Atures y las frecuentes observaciones de los fracasos terapéuticos de los esquemas de tratamiento antimaláricos con CQ empleada en el Programa Nacional de Control de Malaria en pacientes que padecen esta enfermedad, ha generado información relevante para la evaluación de los esquemas de tratamiento antimalárico en dicho Municipio.

Esta diversidad de factores hace pertinente validar el impacto que se espera de las altas tasa de resistencia con CQ, la QN como medicamento antimalárico de segunda línea empleado en el Programa de Control. Por lo que se diseñó un ensayo clínico aleatorizado, comparativo de CQ y QN para el tratamiento del paludismo por *P falciparum*, con el fin de contribuir al diseño de políticas de control adecuada a las peculiaridades de la región.

Materiales y métodos

Área de estudio y población - El estudio se realizó durante el primer semestre del 2002 en el municipio Atures del estado Amazonas, Venezuela, que tiene una extensión territorial de 7.550 Km^2, limita al nordeste con el Distrito Cedeño del Estado Bolívar y el Municipio Manapiare, al sudeste con el Municipio Autana y al oeste con el departamento del Vichada (Colombia). La población estimada de este Municipio es de 65.000 habitantes, de los cuales el 60% se encuentra concentrada en Puerto Ayacucho (capital del municipio) y el resto en los ejes carreteros norte y sur (área rural dispersa) donde predomina la población indígena (Guahibos y Piaroas). De acuerdo a la clasificación climática de Köepeen(10), este Municipio presenta un clima tropical con tres variedades: clima de selva tropical lluvioso, tropical monzónico y clima de sabana, mostrando los registros climáticos una estación lluviosa entre abril y noviembre y una estación de sequía desde diciembre a marzo. La temperatura media anual es de 29,7°C, con una pluviosidad anual de 2.200 mm. En el Municipio Atures la malaria es endémica, climático dependiente, con picos máximos de transmisión antes y después de la estación lluviosa. Con una formula parasitaria caracterizada por 75% de P. vivax, 25% *P. falciparum*. Se instalaron 4 puestos de vigilancia, con un médico del primer nivel de atención de salud: 2 puestos

en el Centro de Atures (Puerto Ayacucho) Zona XIX del Servicio de Vigilancia Epidemiológica, laboratorio de la unidad de malaria del CAICET; 1 puesto en Atures norte, el Ambulatorio rural tipo II de Parhueña y 1 puesto en Atures sur, el Ambulatorio rural tipo II de Platanillal

Selección de los participantes - Se hizo un diagnostico diferencial y se consideraron aquellos individuos que cumplieron con los criterios de selección de la OMS (11). Se incluyeron individuos mayores de un año, con infecciones únicas con trofozoítos de *P. falciparum***.** Temperatura menor de 39,5 °C y antecedentes de fiebre en las últimas 72 horas. Se incluyeron a los pacientes con cargas parasitarias menores de 500 parásitos por microlito de sangre, motivado a que la gran mayoría de pacientes presentaban cargas bajas. Se excluyeron aquellos individuos que presentaron signos y síntomas generales de malaria grave o complicada: vómitos persistentes sin respuesta al tratamiento farmacológico, fiebre 40°C, deshidratación.
Tamaño de la muestra - El tamaño de la muestra fue estimado con *EpiInfo* versión 6.04a y calculada con *Epitable* para muestras de 2 proporciones. La tasa de falla terapéutica para QN fue estimada en 3% (como no existen resultados *in vivo*, se utilizaron resultados obtenidos *in vitro*) (9) y una tasa de falla terapéutica para CQ de 35% en la práctica. Para un α de 0,05 con poder de 80% cada grupo resultó de 29 individuos.
Diseño del estudio- El estudio es un ensayo clínico aleatorio, comparativo de dos grupos de tratamiento, basado en el protocolo recomendado por la Organización Mundial de la Salud "Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *P falciparum* sin complicaciones en las Américas" (11).

Régimen de tratamiento - La CQ y QN fueron aportados por la Dirección de Vigilancia Epidemiológica Sanitaria Ambiental, puesto que el tratamiento antimalárico en Venezuela es suministrado de forma gratuita, por el Ministerio de Salud. Se tomó una muestra del lote de CQ y QN empleadas que fue evaluada en Venezuela por el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", declarando adecuadas en su contenido. Para un primer grupo de participantes se utilizó CQ (SEFAR-Venezuela) de 150 mg base, en las dosis siguientes; primeras y segundo día 10 mg/Kg. de peso; tercer día 5 mg/Kg de peso de acuerdo a lo establecido por la OMS (11). En caso de falla terapéutica se administró QN como medicamento antimalárico de segunda línea siguiendo el esquema de 10 mg/Kg peso dosis vía oral cada 8 horas por 7 días. Para un segundo grupo de participantes se administró QN (Overseas s.a- Belgium) siguiendo el esquema de 10 mg/Kg de peso dosis vía oral cada 8 horas por 7 días. En los casos de falla terapéutica se administró la combinación de QN 10 mg/Kg peso dosis vía oral cada 8 horas por 3 días más clindamicina (CL) 20mg/Kg de peso cada 12 horas por 5 días (menos en niños menores de 8 años).
Tratamiento de rescate - Todo caso de malaria complicada fue referido al hospital José Gregorio Hernández, donde se les administró por vía intravenosa quinina en solución salina isotónica con 5% de dextrosa mediante venoclisis (gota a gota) lenta

durante 8 horas y luego se reanudó el tratamiento oral y se continúo hasta completar la dosis indicada. Se documentaron como fallas terapéuticas (ver sección análisis estadístico)

Asignación del tratamiento, aleatorización y procedimientos de registro- Todo paciente que se presento a los puestos de vigilancia fue evaluado y se le verificó elegibilidad de participación en el estudio. La aleatorización se realizó utilizándose una tabla en bloques de 5 en 5 para cada grupo con CQ y QN respectivamente hasta tener 40 pacientes y luego 11 pacientes fueron incluidos en el régimen con QN. Los códigos de aleatorización eran mantenidos en sobres en la oficina central del estudio localizada en el laboratorio de la Unidad de Malaria del CAICET. Se asignaron tratamientos con CQ y QN a todos los pacientes elegibles según la codificación asignada para cada puesto involucrado en el estudio. La oficina central era contactada por radio o teléfono, el sobre era entonces abierto y la codificación asignada era transmitida.

Conducta del estudio - Se evaluó clínicamente a todo paciente que acudió a los puestos de vigilancia y que refirió cualquiera de los siguientes síntomas: escalofrío, cefalea, artralgias y/o mialgias, fiebre en el momento de la consulta o historia de fiebre durante los tres días previos. Cada microscopista asignado en el laboratorio tomó una muestra de sangre de pabellón auricular para realizar dos láminas con gota gruesa y extendido. Cada paciente con *P. falciparum* fue evaluado clínicamente por el médico, para ser seleccionado de acuerdo a los criterios de selección. Después de haber obtenido el consentimiento del paciente o su representante legal para participar en el estudio, se registraron los datos de las personas seleccionadas para el estudio. Antes de administrar el tratamiento se tomó el peso corporal, temperatura axilar, muestra de orina y se documentó la parasitemia del día 0. Se entregó el tratamiento indicado dosificación y días de administración de acuerdo a la asignación correspondiente a CQ o QN. A pesar de que en un principio el estudio tenía como uno de sus objetivos el medir la adherencia al tratamiento, el tratamiento tuvo que ser supervisado debido a que los primeros cinco (5) pacientes no cumplieron con el esquema de tratamiento. Después cada visitador rural de cada puesto de vigilancia del Programa de Malaria, visitó a cada voluntario para continuar la administración del esquema de tratamiento indicado previamente por el médico. Además se midió la temperatura axilar, una breve evaluación clínica, y tomó muestra de sangre para seguimiento de la parasitemia los días 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28. El registro de la actividad realizada se hizo en una ficha, la cual fue revisada diariamente por uno de los médicos del estudio.

Evaluación de eficacia - Los eventos primarios evaluados de la eficacia terapéutica fueron considerados de acuerdo con normas establecidas por la OMS (11) listadas a seguir: Fracaso precoz del tratamiento (FPT): presencia de signos de peligro o paludismo grave en día 1 o 2; mayor parasitemia el día 2 que el recuento del día 0; parasitemia del día 3 mayor del 25% que el recuento del día 0. Fracaso terapéutico tardío (FTT): presencia de signos de peligro o paludismo grave el día 3, con

parasitemia de la misma especie que el día 0; regreso no programado del paciente debido al deterioro clínico en presencia de parasitemia; presencia de parasitemia de la misma especie del día 0 en las visitas programadas par los días 7, 14, 21 y 28. Respuesta clínica adecuada al tratamiento (RCA): el paciente no presento criterios de fracaso de tratamiento precoz ni tardío y se confirmó la eliminación del parásito durante el periodo de seguimiento.

Evaluación de la tolerabilidad -Se registró la presencia de síntomas y signos que se desarrollaron durante la administración de CQ o QN. Las reacciones adversas a la CQ para cada participante fue presencia de prurito, cefalea transitoria, náuseas, síntomas del tubo digestivo, visión borrosa. Para la QN fueron consideradas como reacciones adversas al registrarse en los participantes la presencia de cinconismo como zumbido de oídos, audición amortiguada y vértigos o mareos durante la administración de la QN (12).

Métodos de medición y exámenes de laboratorio - Se realizó asepsia local de la oreja con uso de alcohol. Mediante un pinchazo con una lanceta estéril se extrajo tres gotas de sangre para la "Gota gruesa" y una gota para el extendido, luego se procedió a fijar el extendido con metanol por 3 minutos y posterior coloración de la lámina con el colorante de Giemsa. La muestra de sangre se consideró negativa cuando al examinar 200 campos no mostró formas asexuadas de *P. falciparum*. Cuando la gota gruesa fue positiva se hizo lectura de 100 campos en el extendido para descartar infecciones mixtas (*P. vivax + P. falciparum o P. malarie + P. falciparum)*. Para cada caso con infecciones únicas de trofozoítos de *P. falciparum,* en la gota gruesa se calculó la densidad parasitaria dividiendo el número de trofozoítos por el número de leucocitos contados (n = 500) y se multiplicó por 6000 (el número estimado de leucocitos por microlito de sangre). A cada participante se le realizó una prueba de metabolitos antimalaricos en orina para lo cual se tomó 6 ml de orina el día 0. La prueba se hizo por cromatografía líquida en capa fina, empleando la técnica de Betschart y Steiger (13).

Análisis de los datos - Los datos fueron analizados separadamente para cada grupo. Usando *Epi-info* versión 6.04a empleando estadística descriptiva para la caracterización de poblaciones, se determinó la proporción de fallas temprana y fallas tardía en cada grupo de tratamiento, porcentaje de reacciones adversas en los pacientes evaluados. Estas variables se compararon entre los dos grupos de tratamiento por Chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher's de una sola cola para calcular las probabilidades exactas, un valor de $p < 0,05$ fue tomado para indicar significancia estadística.

Consideraciones éticas y consentimiento informado - El estudio fue discutido y aprobado por el Comité de Salud de investigación en humanos del Estado Amazonas conformado por representantes dependientes de la Dirección Regional de Salud, el asesor de salud del Gobierno local y la Organización Indígena (ORPIA), así como el comité de ética de investigación en humanos de la Escuela de Altos estudios de Salud

Pública "Dr. Arnoldo Gabaldón" y la Organización Panamericana de la Salud Comité de Revisión Ética (PAHOERC). Los participantes firmaron un consentimiento informado para participar voluntariamente en el estudio. En el caso de los niños, el consentimiento lo dio su representante legal.

Resultados

En los puestos de vigilancia se reportaron 853 casos de malaria, de los cuales 63 correspondieron a *P. falciparum* y sólo 56 (88,88%) individuos cumplieron con los criterios de selección para este estudio, quienes además fueron negativos en la prueba de metabolitos de CQ y QN en orina.

Características demográficas y clínico parasitológicas - Para la evaluación de la eficacia terapéutica se consideraron 20 individuos para CQ y 30 para QN, en ambos grupos las variables edad, sexo y peso fueron homogéneas ($p< 0,05$), con respecto a las variables parasitemia y temperatura estas no resultaron homogéneas ($p>0,005$) entre grupos (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas de los individuos evaluados con cloroquina y quinina, municipio Atures Edo Amazonas-Venezuela

	cloroquina	**quinina**
N° de evaluados	20	30
Mediana edad (años)	25	23
Rango de edad (años)	3 a 60	1 a 70
Mediana peso (g)	45	48
Masculino: femenino	12:8	16:14
X geométrica de la parasitemia (rango)	705 (120-4404)	1575 (420-8.940)
X ± DS de temperatura °C	37,9 ± 0,82	37,5 ± 0,75

Respuesta terapéutica a la cloroquina y quinina- El flujo de 51 pacientes con *P. falciparum* tratados con CQ y QN que completaron 28 días del estudio se muestra en la figura 1. La respuesta al tratamiento CQ y QN entre los grupos, se observa en la tabla 2. De 20 pacientes tratados con CQ: se consideraron con FPT a 8 individuos, 2 mostraron clínica grave con parasitemia y 6 mostraron parasitemias altas; se consideraron con FTT a 12 individuos por clínica y parasitemia. Los 30 pacientes que recibieron QN, se consideraron a 24 individuos con RCA, y a 6 individuos con falla terapéutica (FT) 2 con FPT que presentaron clínica y parasitemia y 4 con FTT por parasitemia. De los 20 pacientes con FT a la CQ fueron nuevamente tratados con QN y seguidos por 21 días, 18 pacientes mostraron RCA y solo 2 FTT. Los 6 pacientes con fracaso a la QN fueron tratados nuevamente con QN-CL y seguidos hasta el día 21, observándose RCA. Vale resaltar que los 2 pacientes con fracaso tanto a CQ como a la QN fueron tratados nuevamente con la combinación QN-CL y se les hizo seguimiento por 21 días y mostraron RCA. Finalmente todos los pacientes se curaron.

Figura 1. Seguimiento (S) y exclusión (E) durante 28 días de los pacientes tratados (PT) con CQ y QN, Atures Edo. Amazonas-Venezuela, enero-junio 2002

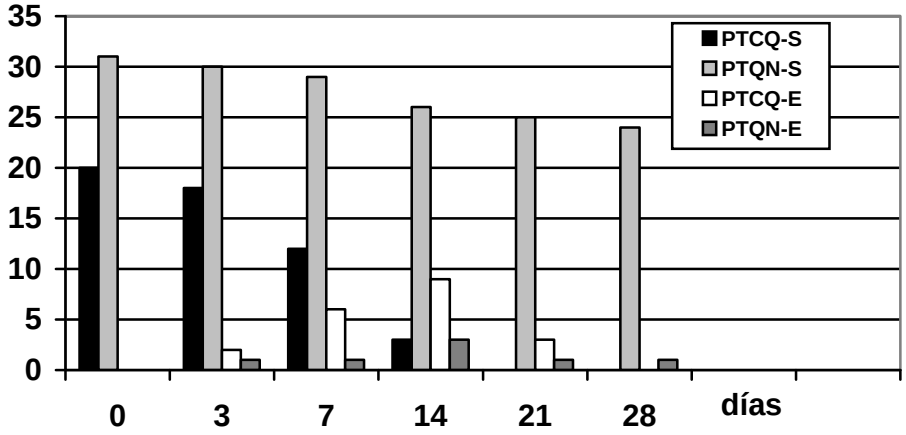


Tabla 2. Respuesta terapéutica de pacientes evaluados con cloroquina y quinina, Atures, Estado Amazonas, Venezuela

Eficacia	**cloroquina**	**quinina**
N° (%) fracaso	20 (100)	06 (20)
N° (%) FPT	12 (60)	02 (7)
N° (%) FTT	08 (40)	04 (13)
N° (%) RCA	00 (0)	24(80)

FP: fracaso precoz al tratamiento; FTT: fracaso tardío al tratamiento; RCA: respuesta clínica adecuada

Tolerancia y efectos adversos - Las reacciones adversas a la CQ se observaron en el 50% (10/20) de los pacientes evaluados, gastritis y anorexia fueron manifestadas por 9 individuos, con prurito se presentó un individuo. Para el grupo tratado con QN se registró cinconismo e insomnio en 7% (2/30) de los pacientes. Al comparar la proporción de reacciones adversas entre la CQ y QN se observó diferencia significante (p=0,007)

Discusión

En el presente estudio se observó que del grupo tratado con CQ se detectaron FT de 100% (20/20) en pacientes con malaria a *P. falciparum*; con reacciones adversas a la droga del 50% (10/20). En el área de estudio se ha registrado de hace más de una década una resistencia del *P. falciparum* a la CQ del 50% (11/22 pacientes) (8), siendo la CQ la droga de primera línea empleada en Venezuela desde 1946 (14), con notificación de resistencia en otras áreas Venezolanas desde 1959 (1). De esta manera *P. falciparum* ha sufrido una presión constante, debido al empleo de CQ como

tratamiento presuntivo, curativo y preventivo en masa, administrado por visitadores rurales, que por razones operativas y presupuestarias en algunas oportunidades no pueden dar cumplimiento adecuado al tratamiento. Al respecto Wernsdorfer (15) propone que la presión con la droga es un elemento que favorece el desarrollo de la resistencia por los Plasmodios. En 1999 se deja de utilizar la CQ como preventivo en masa. Estas circunstancias probablemente constituyen algunos de los obstáculos del Programa de Control de la malaria a *P. falciparum* en la amazonia venezolana.

Las observaciones en este estudio mostraron para QN un 80% de RCA, con sólo 7% de reacciones adversas en pacientes con malaria a *P. falciparum*. Además presentó un 90% de RCA como droga de rescate en pacientes con FT a la CQ. Considerando la RCA de la combinación QN-CL estas drogas combinadas podrían indicar una alternativa en el esquema de control de la malaria *P. falciparum* en Atures. Pero el sistema operativo de administración supervisada del tratamiento antimalárico, y el alto costo de la CL, dificultan la aplicación de este esquema por parte del Programa de Control, por lo que es necesario estudiar otras combinaciones de drogas de bajo costo, esquema corto, con pocos efectos colaterales y de fácil administración.

Es importante considerar en este estudio la FT de la QN en el 20% de los pacientes como primer tratamiento y el 10% como segundo tratamiento posterior al tratamiento con CQ. Puesto que ya existen antecedentes de resistencia en aislados *P. falciparum* a la quinina (9) y mefloquina (8), estas observaciones podría ser un indicador de que estén circulando poblaciones de parásitos multidroga resistentes, como las observadas en Tailandia, Filipinas y Camboya (15).

Los resultados de este estudio demuestran el 100% del FT a la CQ y la disminución de la RCA a la QN en un 20%. De acuerdo a la clasificación señalada por la OMS/OPS (16) se debe cambiar la droga cuando el FTT + FPT es mayor o igual a 25% que sería el caso de la CQ; y se deben tomar acciones cuando el FTT + FPT es entre 15 a 24% que sería el caso de la QN. Estas observaciones en las drogas empleadas como primera y segunda línea en pacientes con malaria *P. falciparum* en el Municipio Atures, demuestran la necesidad de evaluar nuevos esquemas de tratamiento antimalárico, mantener los esquemas supervisados de tratamiento y establecer un sistema de vigilancia epidemiológica de las drogas antimaláricas empleadas en el estado Amazonas, bajo el marco de la política del Programa Nacional de Malaria.

Referencias

1. Maberti S. Desarrollo de resistencia a la pyrimetamina. Presentación de 15 casos estudiados en Trujillo, Venezuela. Arch Ven Med Trop Par Med 3, 1990: 239-259.
2. Godoy S, Volcan G, Medrano O, Guevara R, Texeira A. Cepas de *Plasmodium falciparum* infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela, Rev Inst Med Trop São Paulo 17, 1986: 38-40.
3. Godoy A, Volcan G, Guevara R, Medrano C, Castro J, Texeira A. Venezuelan strains of *Plasmodium falciparum* resistant to sulfa and pyrimetamine as demostrated by *in vitro* tes. Revista Latinoamericana de Microbiología 19, 1970: 229-231.

4. Caraballo A, Rodríguez A. Chemotherapy of malaria and resistanse to antimalarial drugs in Guyana área, Venezuela. Am J Trop Med Hyg 61 1, 1999: 120-124.
5. Aché A, Escorihuela M, Vivas E, Páez E, Miranda I, Pérez W, Díaz O, Izarra E. *In vivo* drug resistance of *falciparum* malaria in mining areas of Venezuela. Trop Med Int Health 7, 2002: 737-743.
6. Gabaldon A, Mendicoa T, Castellani O. La resistencia de los parásitos maláricos a las drogas en Venezuela. Bol Inf Dir Malariol San Amb 11, 1971: 22-46.
7. Magris M, Riggione F. Susceptibilidad del *Plasmodium falciparum in vitro* a la cloroquina, amodiaquina, quinina y pyrimetamina/sulfadoxina en el Estado Amazonas, Venezuela. XLIV Congreso Anual de ASOVAC, 1994.
8. Maynadié M, Peceño C, Noriega P, Yarzabal L. Susceptibility of *Plasmodium falciparum* strain to chloroquine and mefloquine in the Amazonas Federal Territoriy of Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg 83, 1989: 586-588.
9. Rodríguez I, Magris M, Carrasquel A, González M., Botto C. Susceptibility *in vitro* to *Plasmodium falciparum* in antimalarial drugs in Atures, Amazonas state, Venezuela in: XVTH Internacional Congreso for Tropical Medicine and Malaria 2, 2000: 229.
10. Sada Amazonas, Unión Europea. Informe Técnico Proyecto Reserva de la Biosfera Alto Orinoco-Casiquiare, 1998.
11. OMS/OPS. Evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos para el tratamiento del paludismo por *Plasmodium falciparum* sin complicaciones en las Américas, OPS/HCP/HCT/113/98, 1998.
12. OMS. Tratamiento de la malaria no complicada y uso de medicamentos antimaláricos para la protección de los viajeros. WHO/MAL/96.107, 1996.
13. Betschar B, Steiger S. Quantitative determination of cloroquine and desethylcloroquine in biological fluids by high performance thin layer cromatraphy. Acta Tropica 43, 1986:125-130.
14. Caicedo N. Experiencias venezolanas con las drogas antimalàricas de la serie 4 minoquinoleinas. Revista de Sanidad y Asistencia Social 26, 1951:320-441.
15. Wernsdorfer W. Epidemiology of drug resistance in malaria. Acta Trop 56, 1994:143-156.
16. Talisuna A, Bloland P, D'Alessandro U. History, Dinamycs, and Public Health Importance of Malaria Parasite Resistance. Clin Microbiol Rev 17, 2004: 235-254.

Genotipificación de *Plasmodium falciparum* en los diferentes cuadros clínicos de malaria en el Perú

Gisely Hijar Guerra, Laboratorio de Biología Molecular Instituto Nacional de Salud (INS)

Artículo original: Hijar GG, Quino AH, Padilla RC *et al*. Variabilidad genética de *Plasmodium falciparum* en pacientes con malaria grave y malaria no complicada en Iquitos - Perú. *Rev perú med exp salud publica* 19, 2002: 131-135.

Resumen: *El presente estudio determinó la diversidad genética de* Plasmodium falciparum *en muestras de pacientes infectados que vivían en Iquitos y sus alrededores. Las muestras de campo obtenidas de pacientes con* P. falciparum *fueron amplificadas por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) para el gen polimórfico que codifica la proteína rica en glutamato de* P. falciparum *(GLURP). La diversidad genética de las poblaciones de* P. falciparum *fue alta correspondiendo a la alta transmisión* de P. falciparum *en esta región del Perú y a la época del año. De las 76 muestras el 80,2% presentaban un solo alelo, los alelos más frecuentes fueron el* $GLURP_{800}$ *(800 bp) y el* $GLURP_{450}$ *(450bp). Se pudo observar también que en el 19,7% del total de las muestras corresponden a infecciones múltiples Se analizó la variabilidad genética del gen GLURP en 76 muestras de las cuales 8 genotipos fueron detectados en Malaria No Complicada (MNC) y 4 genotipos en la Malaria Grave Complicada (MGC). Se detectaron infecciones múltiples en el 50% de las muestras de MNC, a diferencia de las muestras de MGC en donde no se detectaron infecciones múltiples.*

Palabras clave: Malaria Grave Complicada (MGC), malaria no complicada (MNC); *Plasmodium falciparum*, genotipos, Perú.

Introducción

La incidencia de la malaria, en el mundo se estima en 300 a 500 millones de infecciones al año y más de 2,3 billones de personas en riesgo de contraer la enfermedad (1). *Plasmodium falciparum* es uno de los agentes etiológicos que produce mayor impacto en la salud mundial, produciendo 1,5 a 2,7 millones de muertes anuales, mayormente niños en África. Este parásito presenta diversidad genética, la cual le permite evadir la respuesta inmune. Esta diversidad genética ha sido observada por isoenzimas y métodos antigénicos, respuesta terapéutica y secuencia de genes (2-5). Estudios recientes indican que un mismo individuo puede sufrir infecciones múltiples con distintos genotipos de *P. falciparum.* El número y la multiplicidad de las infecciones en un huésped está relacionado al grado de endemicidad de la zona (6), grado de inmunidad de la población contra *P. falciparum* y riesgo de infectarse de malaria (7,8).

En el Perú, la malaria se distribuye en las regiones de la costa Norte de clima subtropical y la Selva de clima tropical, humedad alta y precipitaciones intensas. La re-emergencia de la malaria desde 1992, particularmente la causada por el *P. falciparum,* ha registrado 211 177 casos hasta 1998 (9). Evidencias clínicas y estudios de cohorte implementados por el Programa Nacional de Control de Malaria y Otras Enfermedades Metaxénicas del Perú (PNCM y OEM) indican a su vez la aparición de resistencia del *P. falciparum* a las drogas antimaláricas, en la costa norte y en la cuenca amazónica (10). Esta re-emergencia ha implicado también una ampliación geográfica del área de transmisión y el cambio de proporción entre especies del parásito.

En Perú más de 8 millones de personas viven en áreas de alto y mediano riesgo de malaria. En los años 1996 y 1997, los pacientes que llegaron al Hospital de Apoyo de Iquitos (HAI), diagnosticados con malaria por *P. falciparum* mostraron diversas complicaciones ingresando por diferentes especialidades (544 en Medicina, 261 en Pediatría y 93 en Obstetricia). Del mismo modo, los datos revelan que un tercio de los casos (85 de 242, 35%) tuvieron Malaria complicada (11).

En este estudio hemos examinado la frecuencia de alelos polimórficos de *P. falciparum* en pacientes con malaria no complicada y complicada en un área de alta transmisión de malaria como Loreto, específicamente Iquitos y sus alrededores. El presente estudio también demostró diversidad genética de *P. falciparum* y pacientes con infecciones múltiples.

Materiales y métodos

Muestras biológicas y área de estudio: 76 pacientes diagnosticados de malaria por *P. falciparum* por gota gruesa fueron atendidos en los establecimientos de salud de Loreto y el Hospital de Apoyo de Iquitos. Se recolectó sangre total y sangre impregnada en papel de filtro. Las características clínicas de los pacientes fueron clasificadas de acuerdo al documento de OMS Ginebra 1993 (12): Malaria No Complicada (MNC): fiebre ≥37.5 °C o antecedentes de fiebres en las últimas 48 horas (n=30); Malaria Grave Complicada (MGC): anemia severa con hemoglobina < 5 mg%, encefalitis e ictericia (n=46). Fueron considerados criterios de exclusión las infecciones mixtas de *P. falciparum* y *P. vivax* u otras especies, gestantes y pacientes con fiebres debido a otras razones.

Extracción de ADN de sangre total: La extracción de ADN se realizó a partir de 200 µL de sangre total con anticoagulante EDTA, y se empleó el método de extracción de ADN Qiamp blood (QiaGen^{TM}). Este método consistió en someter la muestra a lisis y luego se aplicó la muestra a columna de purificación basada en silica. Estas columnas fueron lavadas con una solución que provee el kit y finalmente el ADN fue eluido de las columnas con agua libre de DNAsas. Seguidamente el ADN fue cuantificado por espectrofotometría.

Extracción de ADN de papel de filtro: Para obtener el ADN de las muestras sanguíneas impregnadas en papel de filtro, se cortó el pedazos pequeños (2 a- 4 mm) de diámetro, y fueron lavados con 500 µL de solución FTA™ *Purification Reagent* , luego se lavó dos veces con 500 µL de PBS 1X. El sobrenadante fue retirado y el papel de filtro secado a 60 °C por 30 minutos. Luego el papel de filtro fue colocado en el tubo de reacción para PCR.

Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) : El ADN fue amplificado utilizando oligonucleótidos previamente reportados que amplifican el gen polimórficos de *P. falciparum* (GLURP) (13) (20). Las condiciones de PCR fueron estandarizadas previamente utilizando ADN de la cepa referencial africana de *P. falciparum* 3D7. Las concentraciones del PCR fueron: 2.5 mM de $MgCI_2$, 200 µM de cada dNTP, 1 µM de cada iniciador y 0,5 U de enzima DNA Polimerasa por tubo de reacción. El ciclo de amplificación fue el siguiente: desnaturalización inicial de 95 °C por 10 minutos; 30 ciclos de una desnaturalización de 95 °C por 30 segundos, hibridación de los iniciadores 52 °C por 1 minuto; extensión de los iniciadores a 72 °C por 1:30 minutos; y luego una extensión final de 72 °C por 10 minutos. Los controles positivos fueron 3D7 y los controles negativos fueron incluidos en cada reacción de PCR. El producto de amplificación (5 µL) se visualizó en geles de agarosa 1.5% teñidos con bromuro de etidio.

Resultados

Dos métodos de extracción de ADN fueron estandarizados, a partir de papel de filtro impregnado con sangre periférica. Las condiciones de PCR fueron estandarizadas para la amplificación del gen polimórfico GLURP.

De las 76 muestras el 80,2% presentaban un sólo alelo. Los alelos más frecuentes fueron el $GLURP_{800}$ (corresponde a 800 bp) y el $GLURP_{450}$ (corresponden a 450 bp) correspondiendo a nuestra clasificación como genotipo I y VIII respectivamente (Tabla Nº 1). Así mismo, se pudo observar que en el 19,8% del total de las muestras corresponden a infecciones múltiples (más de un alelo de *P. falciparum* presente en la muestra), lo cual puede significar que un paciente se encontraba infectado con más de un genotipo de *P. falciparum* al mismo tiempo (Tabla Nº 2).

En los cuadros clínicos de MNC se observó un polimorfismo en tamaño en el gen GLURP, obteniéndose fragmentos desde 450 pb a 800 pb. Los genotipos I y VIII fueron los más prevalentes, encontrándose (15/30) y (14/30) respectivamente. Los otros genotipos con menos frecuencia fueron: el genotipo VII (6/30), el genotipo V (3/30), el genotipo IV (3/3), genotipo II (2/30) y el genotipo VI (1/30). Asimismo, es importante mencionar que en ese grupo de muestras se encontraron infecciones múltiples, hasta cuatro genotipos de *P. falciparum* en un mismo paciente (Tabla Nº 2).

En los cuadros clínicos de MGC, se obtuvieron fragmentos desde 650 pb a 800 pb. (Figura Nº 1). El genotipo VIII fue el más prevalerte (30/46). El genotipo V

(1/46) fue encontrado sólo en un paciente. Es importante mencionar que no se detectó infecciones múltiples en los pacientes con MGC.

Tabla 1. Clasificación de los alelos en el gen GLURP de *P. falciparum* y la denominación de los genotipos

Alelos GLURP	Genotipos
$GLURP_{450}$	I
$GLURP_{500}$	II
$GLURP_{550}$	III
$GLURP_{600}$	IV
$GLURP_{650}$	V
$GLURP_{700}$	VI
$GLURP_{750}$	VII
$GLURP_{800}$	VIII

Tabla 2. Prevalencia de alelos GLURP de *P. falciparum* y la denominación de los genotipos de *P. falciparum* en pacientes con malaria no complicada (MNC n= 30) y malaria grave complicada (MGC n= 40)

GENOTIPOS	MNC	Prevalencia (%)	MGC	Prevalencia (%)	Total
I	15	28,3	0	0	15,2
II	2	3,7	0	0	2,0
III	9	17,0	0	0	9,1
IV	3	5,7	0	0	3,0
V	3	5,7	1	2,2	4,0
VI	1	1,9	10	21,7	11,1
VII	6	11,3	5	10,9	11,1
VIII	14	26,4	30	65,2	44,4
Total (*)	53*	100,0	46	100,0	100,00

* número de genotipos totales encontrados en todas las muestras, no represente el número de muestras analizadas

Discusión

La diversidad genética encontrada en el gen GLURP de *P. falciparum* en esta área del Perú es similar a la encontrada en otras áreas del mundo. En nuestro caso, esta biodiversidad observada podría estar asociada al comportamiento epidemiológico de la malaria en Loreto como son los cambios climáticos, incremento de la transmisión y el grado de la inmunidad del paciente contra el *P. falciparum* (21).

En los dos grupos de cuadros clínicos de malaria no se encontró una asociación directa de un genotipo en especial para ninguno de los cuadros clínicos; sin embargo, es importante mencionar que existe el doble de prevalencia del genotipo VIII en la MGC con respecto a la MNC; además, el genotipo VI se encontró once veces más en la MGC. Asimismo, los genotipos I, II, III y IV se presentaron exclusivamente en los

casos MNC, esto podría indicar una posible relación del genotipo VI y VIII con la MGC y de los genotipos I, II, III y IV con MGC.

Encontramos también que los genotipos I y III se encuentran siempre acompañados de otros genotipos, de esto se podría sugerir que estos genotipos fueron los antecesores. Si este fuese el caso, los genotipos II, IV, V y VII quizás sean los genotipos que se generaron recientemente. Lo mismo se podría sugerir del genotipo VIII el cual por ser el más frecuente podría ser uno de los antecesores de los demás genotipos.

La prevalencia de los genotipos de *P. falciparum* encontrados en este estudio son similares a los encontrados en los estudios son similares a los encontrados en los estudios de Senegal, donde un mayor polimorfismo genético de *P. falciparum* fue también observado en MNC en relación con MGC (22).

Nuestros resultados nos indican que el marcador polimórfico GLURP es adecuado para detectar genotipos de *P. falciparum* en esta zona endémica. Así, el uso de este marcador podría permitir el análisis de la distribución de las cepas resistente a las drogas antimaláricas en la selva amazónica. Asimismo, pueden también ser utilizados para investigar la proporción de casos de recrudescencia o reinfección de esta enfermedad (13).

A pesar de que no logramos asociar un genotipo a los casos de malaria grave complicada es importante que se realicen estudios adicionales evaluando el efecto de la diversidad genética del parásito, la variabilidad genética humana y la variabilidad genética del vector en presentación de cuadros clínicos graves de malaria en nuestro país.

Referencias

1. World Health Organization. Wkly. Epidemiology. Rec. 72, 1997: 269-292.
2. Carter R, Voller A. The distribution of enzyme variation in populations of *Plasmodium falciparum* in Africa. Trans R Soc Trop Med Hyg 69, 1975: 371-376.
3. Creasey A, Fenton B, Walter A, Thaithong S, Oliveira S, Mutambu S, Walliker D. Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* shows geographical variation. Am J Trop Med Hyg 42, 1990: 403-413.
4. McBride JS, Walliker D, Morgan G. Antigenic diversity in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Science 217, 1982: 254-257.
5. Kemp DJ, Cowman AF, Walliker D. Genetic diversity in *Plasmodium falciparum*. Adv Parasitol. 29, 1990: 75-149.
6. Konate L, Zwtyenga J, Rogier C, Bishchoff E, Fontenille D, Tall A. Variation of *Plasmodium falciparum* msp1 block 2 and msp2 allele prevalence and of infection complexity in two neighbouring Senegalese villages with different transmission conditions.Trans R Soc Trop Med Hy 93, suppl 1, 1999: 21-28.
7. Al-Yaman F, Genton B, Reeder JC, Anders RF, Smith T, Alpers MP. Reduces risk of clinical malaria in children infected with multiple clones of *P. falciparum* in a highly endemic area: a prospective community study. Trans R Soc Trop Med Hyg 91, 1997: 602-605.
8. Beck HP, Felger I, Huber W, Steiger S, Smith T, Weiss N, Alonso P, Tanner M.. Análisis of multiple *P. falciparum* infections in Tanzanian children during the phase III trial of the malaria vaccine SPf66. J Inf Dis 175, 1997: 921-926.
9. Oficina General de Epidemiología. Ministerio de Salud. Malaria en el Perú. Reporte Epidemiológico. Semana N° 52, 1998.

10. Dirección Nacional de Control de Enfermedades Transmisibles. Control de Malaria y otras enfermedades metaxénicas (DNC-ETM). Dirección General de Salud. Ministerio de Salud. Informe anual 1994. Evaluación de la nueva estrategia para e control de la malaria y de la cohorte de tratamiento antimalárico en regiones y sub-regiones de salud situadas en áreas de alto riesgo de transmisión de malaria.
11. Quino A, Durand S, Villacruz O. Malaria grave y complicada por *P. falciparum* : estudio clínico descriptivo de 242 casos. Bol SPEIT 6, 1997: 58.
12. Giles HM. Tratamiento del paludismo grave y complicado: Guía Práctica. O.M.S. Ginebra, 1993: 1-56
13. Contamin H, Fandeur T, Bonnefoy S, Skouri F, Ntoumi F, Mercereau-Puijalon O. PCR typing of field isolates of *P. falciparum*. J Clin Micr 33, 1995: 944-951.
14. Marshall VM, Anthony RL, Bangs MJ, Purnomo, Anders RF, Coppel RL. Allelic variants of the *P. falciparum* merozoite surface antigen 2 (MSA-2) in a geographically restricted area or Irain Jaya. Mol Biochem Parsitol 63, 1994:13-21.
15. Barrer R, Banchongaksom T, Courval J, Suwonkerd W, Rimwungtragoon K, Wirth D. A simple method to detect *P. falciparum* directly from blood samples using the polymerase chain reaction. Am JTrop Med Hyg 46, 1992: 416-426.
16. Kain K, Lanar D. Determination of genetic variation within *P. falciparum* merozoito surface antigens 1 and 2 (MSA-1 and MSA-2) using a dimorphic form specific polymerase chain reaction. Mol Biocheml Parasitol 68, 1991: 329-332.
17. Reeder JC, Marshall V.M. A simple method for typing *P. falciparum* merozoite surface antigens 1 and 2 (MSA-1 and MSA-2) using a dimorphic-form specific polymerase chain reaction. Mol Biochem Parasitol 68, 1994: 329-332.
18. Robson KJ, Hall JR, Davies LC, Crisanti A, Hill AV, Wellems TE. Polymorphism of the TRAP gene of *Plasmodium.* Proc R Soc London 242, 1990: 205-216.
19. Haddad D, Snounou G, Mattei D, Enamorado IG, Figueroa J. Stahl S, Berzins K. Limited genetic diversity of *P. falciparum* in field isolates from Honduras. Am J Trop Med Hyg 60, 1999: 30-34.
20. Viriyakosol S, Siripon N, Petcharapirat C, Petcharapirat P, Jarra W, Thaithong S, Brown KN, Snounou G. 1995. Genotyping of *P. falciparum* isolates by the polymerase chain reaction and potencial uses in epidemiological studies. Bull World Health Org 73, 1995: 85-95.
21. Su X, Ferdig MT, Huang Y, Huynh CQ, You J, Wootton JC, Wellens TE. A genetic map and recombination parameters of Human Malaria parasite *P. falciparum*. Science 286, 1999: 1351-1353.
22. Babiker H, Satii G, Walliker D. Genetic changes in the population of *P. falciparum* in a Sudanese village over a three year period. Am J Trop Med Hyg 53, 1995: 7-15.

No adherencia al tratamiento con antimaláricos en Quininde, provincia de Esmeraldas, Ecuador (1996-1997)

Martha Cecilia Yepez, Instituto Juan César García

Artículo original: Yepez MC, Zambrano D, Carrasco F, Yepez RF Factores asociados al incumplimiento del tratamiento antipalúdico en pacientes ecuatorianos" *Rev Cub Med Trop* 52, 2000: 81-89

Resumen: *Con el objeto de investigar las razones por las cuales los pacientes de malaria no cumplen con los tratamientos prescritos por los proveedores de salud en Ecuador se realizó un estudio en el Cantón de Quininde, Provincia de Esmeraldas para: a) Determinar la relación entre adhesión y no adhesión a los antimaláricos y sexo, edad, condición socioeconómica, etnicidad, escolaridad, origen (urbano/rural), y especie de parásito involucrada. b) Identificar elementos atribuibles al individuo, su familia y/o servicios de salud que contribuyan al comportamiento de adherencia. c) Definir un eventual perfil de "no adhesión". Los resultados señalaron cinco hechos: 1) Cada 3 pacientes que adhieren al tratamiento 2 no lo hacen. 2) La no adherencia no está asociada con sexo, edad, escolaridad, origen rural o urbano, etnicidad o el ingreso del jefe de familia. 3) El conocimiento de la severidad de la infección (*P. falciparum*) contribuye a completar el tratamiento. 4) Las características más frecuentemente identificadas por los pacientes no adherentes permiten delinear un "perfil" de los mismos: joven, hombre, mestizo, pobre o indigente, de origen rural. 5) Las razones de no adherencia estuvieron asociadas en la mitad de los casos a los efectos que provoca la droga (náusea, vómito, somnolencia) o por rechazo a tomar las tabletas. El olvido y el hecho de la "cura inmediata" fueron otras razones mencionadas por los pacientes. Se discuten los resultados en el marco de los programas de salud de Ecuador.*

Palabras clave: Malaria, adherencia, antimaláricos, Ecuador.

Introducción

El significado de la no adherencia y logros de los tratamientos médicos, dentro del papel de paciente, es un tema que ha generado una discusión importante "El papel del paciente consiste en obedecer y completar (…)la no adherencia es indeseable y también anómala" sostienen algunos autores (1), mientras otros aseveran que "los pacientes deben ser quienes juzguen las ventajas y desventajas de los tratamientos porque ellos son – en última instancia- quienes deben juzgar la calidad de su propia vida, así como establecer por ellos mismos sus prioridades vitales" (2).

En condiciones ideales el paciente puede adherir estrictamente a las prescripciones médicas, un mundo ideal en que el diagnóstico es exacto, el tratamiento es efectivo y el paciente es obediente, un mundo lejano a la situación real. En sociedades como la ecuatoriana, con altos niveles de indigencia y escolaridad, especialmente en las áreas rurales, con acceso limitado a los servicios de salud y con prácticas mágico-religiosas aún prevalentes, los pacientes son impulsados a intentar

tratamientos alternativos, a experimentar con la dosis y/o los intervalos entre tomas y/o a interrumpir el tratamiento oficial y comenzar otros, no necesariamente debido a una decisión consciente sino a un medio socio-cultural que lo ha llevado a actuar en ese sentido. Esto es evidente en hombres jóvenes quienes, en general, en el contexto de la sociedad, son un grupo etario con la decisión de cuestionar, de no aceptar las reglas, de rechazar el contexto socio-económico, de cambio, de prueba de otras alternativas (3).

Sin embargo, las razones por las cuales los pacientes de malaria no cumplen con los tratamientos prescritos por los proveedores de salud o lo cumple parcialmente, es un tópico no suficientemente estudiado en Ecuador. Por ello se realizó la presente investigación en Quininde, provincia de Esmeraldas, para establecer la relación que hay entre la adherencia al tratamiento con antimaláricos y diferentes factores como la edad o sexo de los pacientes, su situación socioeconómica, escolaridad, su origen urbano o rural y la especie de parásito involucrada. De la misma manera se intentaron identificar elementos atribuibles al individuo, su familia y/o servicios de salud que contribuyan al comportamiento de adherencia. Finalmente el estudio propone identificar determinantes que puedan eventualmente predecir el problema.

Materiales y Métodos:

Definiciones: Paciente adherente- individuo que toma la dosis recomendada: 1) durante el número de días prescrito, 2) en el período indicado, y 3) en el momento preciso, según se muestra en la tabla 1. *Pacientes no adherentes*: que no cumplieron alguno de los tres criterios mencionados arriba. De acuerdo con el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria de Ecuador (SNEM), el esquema terapéutico indicado es cada 24 hs, con el estómago lleno, así como indica no usar primaquina en mujeres embarazadas y pacientes con infección a *Plasmodium falciparum* con ictericia, desorden neurológico o renal.

Tabla 1. Esquemas de tratamiento antimalárico para infecciones a *Plasmodium vivax*, y *P. falciparum.* SNEM, Ecuador

Grupo de edad	**CLOROQUINA (1)**			**ASOCIADO (2)**			**PRIMAQUINA (3)**			
Día	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**4 a7***
< 6 meses	¼	¼	¼	-	-	-	-	-	-	
6 a 11 meses	½	½	½	-	-	-	½ inf.	½ inf.	½ inf.	½ inf.
1 a 2 años	1	½	½	-	-	-	½ inf.	½ inf.	½ inf.	½ inf.
3 a 6 años	½	½	½	1 inf.	1 inf.	1 inf.	-	-	-	½ inf.
7 a 11 años	1 ½	1	1	1 inf.	1 inf.	1 inf.	-	-	-	1 ½ inf.
12 a 14 años	2	1	1	1 ad.	1 ad.	1 ad.	-	-	-	1 ad.
≥ 15 años	4	3	3	-	-	-	1 ad.	1 ad.	1 ad.	1 ad.
Preñez o sospecha	4	3	3							

(1) 150 mg, (2) adultos (ad): cloroquina 150 mg + primaquina 15 mg; infantes (inf.): cloroquina 75 mg + primaquina 7.5 mg. (3) adultos: 15 mg; niños 7,5 mg. * Sólo infección a *P. vivax.*

Área de estudio, *universo y tamaño de muestra*b –Cantón Quininde, Departamento Esmeraldas, Ecuador, población 120635 habitantes, Índice Parasitaria Anual (IPA) 39/1000 (1989-1993). Casos esperados de malaria en 1996: 4680; número estimado de pacientes no adherentes 30%. Tamaño muestral 228 casos, 76 no adherentes, 152 adherentes (alpha 0,05; beta 0,20)
Criterios de inclusión- individuos de cualquier edad y sexo que asistieron a la consulta médica a los sitios centinela del Cantón Quininde (SNEM) y fueron diagnosticados con infección por *P. falciparum* o *P. vivax* por gota gruesa. *Criterios de exclusión*- individuos con enfermedad que requiera hospitalización, alergia documentada a los antimaláricos, hayan expresado que cambiarán de sitio de residencia en el período de estudio, o hayan rechazado firmar el consentimiento informado. En el caso de niños el consentimiento fue obtenido de sus representantes legales.

Fases de estudio
Fase I – preparatoria, incluyó contactos locales, entrevistas a informantes clave, pruebas de instrumentos y entrenamiento de encuestadores.
Fase 2 – El paciente incluido en el estudio (prueba gota gruesa positiva) recibió libre de cargo las drogas con la prescripción sobre dosis, intervalo entre tomas, momento de toma, y período de tiempo del tratamiento por el equipo del SNEM, contestando las preguntas (Ficha de Identificación Individual) formuladas por el equipo de investigación. Un médico del grupo de investigación registró la nota de evaluación previa al tratamiento y la prescripción. El seguimiento comenzó a los 4 días de iniciado el tratamiento en los casos con infección por *P. falciparum* y 8 días en los de *P. vivax*, en el puesto de atención del SNEM o su domicilio si el paciente no asistió a la cita. Un médico también realizó la evolución post-tratamiento y colectó una segunda muestra para gota gruesa. Se realizó control de calidad en el 10% de las láminas negativas y 100% de las positivas.

Características de población de estudio - Se enrolaron en el estudio 249 pacientes, 120 (48,2%) a *P. vivax* y 129 (51,8%) a *P. falciparum* La relación porcentual de sexos fue de 65,1:34,9 para hombres: mujeres, de las 87 mujeres 3 (3,4%) estaban embarazadas. La distribución por grupo etario fue 0-11 años 28,1%, 12-19 años 23,7% y > 19 años 48,2%. De los mayores de 6 años 70,7% estaban alfabetizados. Los de origen urbano fueron 18,5% y lo de origen rural 81,5%; étnicamente fueron indígenas 3,6%, 10,0% negros o africanos y 86,4 mestizos. La distribución del ingreso mensual del jefe de hogar de acuerdo al salario mínimo vital (SMV- US$ 20) fue menor < 2 SMV en el 17,8%, 2-5 SMV en 74,4%, > 5 SMV en 7,8%.

Análisis estadístico - Los datos entrados en el programa Epi-Info 6.04 fueron procesados estadísticamente mediante el programa SPSS 7.0. Se utilizó principalmente, para inferir relaciones a partir de tablas de contingencia la prueba de Chi-cuadrado. Para establecer el perfil del paciente potencialmente no adherente se realizó el análisis multivariado.

Resultados

La relación de adherencia: no adherencia fue de 3:2 (164:85). La diferencia entre los dos grupos en relación a las distintas variables consideras se puede observar en la tabla 2. Dicha asociación no fue significativa para las variables sexo, edad, escolaridad, origen rural/urbano, etnicidad, o nivel de ingreso. La adhesión fue mayor en pacientes infectados con *P.falciparum*. Después del tratamiento 19 pacientes infectados con *P. falciparum* persistieron clínicamente enfermos y parasitológicamente positivos, 9 de ellos habían completado al tratamiento.

Tabla 2. Distribución del número de casos- n (% según adhesión a tratamiento)- que adhirieron y no adhirieron al tratamiento con antimaláricos según variables sociodemográficas y clínicas, Quininde, Ecuador, 1997

	Adhesión	**No adhesión**	**p**
Sexo masculino	103 (63,6)	59 (36,4)	
Sexo femenino	61 (70,1)	26 (29,8)	0,30
0-11 años edad	47 (67,1)	23 (32,9)	
12-19 años edad	33 (55,9)	26 (44,1)	
> 19 años edad	84 (70,0)	36 (30,0)	0,17
Alfabetizado [a]	121 (67,2)	59 (32,8)	
No alfabetizado [a]	24 (61,5)	15 (38,5)	0,50
Origen urbano	32 (69,6)	14 (30,4)	
Origen rural	132 (65,0)	71 (35,0)	0,50
Mestizo	143 (66,5)	72 (33,5)	
Negro	16 (64,0)	9 (36,0)	
Indígena	5 (55,6)	4 (44,4)	0,78
< 2 SMV [b]	17 (53,1)	15 (46,9)	
2-5 SMV [b]	84 (62,7)	50 (37,3)	
> 5 SMV [b]	11 (78,6)	3 (21,4)	0,255
P. vivax [c]	75 (58,5)	54 (41,9)	
P. falciparum [c]	89 (74,2)	31 (25,8)	
P. vivax clínica + [d]	0	3 (3,5)	
P. vivax clínica - [d]	75 (59,5)	51 (40,5)	
P. falciparum clínica + [d]	9 (47,4)	10 (52,6)	
P. falciparum clínica - [d]	80 (79,2)	21 (20,8)	

[a] Sólo mayores de 6 años de edad. [b] Ingreso Jefe de familia, SMV-Salario Mínimo Vital (20 US$). [c] antes tratamiento. [d] gota gruesa post-tratamiento, clínica +/- clínica y lámina +/-

En relación a las variables que pudieron influir en la decisión de adhesión o no adhesión su distribución se muestra en la tabla 3. Casi todos los pacientes declararon haber sido informados del resultado de la gota gruesa antes del tratamiento, que es un indicador de organización de servicio de salud, como también lo es la variable tiempo de espera de atención. El conocimiento específico sobre el tipo de infección contribuyó de alguna manera a completar el tratamiento, entre aquellos con

conocimiento de infección por *P.falciparum* la relación adhesión: no adhesión fue de 2:1, mientras en *P.vivax* fue 1,5:1.

El 97% de los pacientes calificó al tratamiento como útil. De los que adhirieron al tratamiento lo consideraron útil porque "me recuperé" 119 (72,6%) y "me sentí mejor" 38 (23,2%), lo consideraron inútil "porque continué enfermo" 2 (1,2%) y 2 no pensaron sobre el tema. En el mismo grupo de adherentes consideraron que el tratamiento se completó con dificultad 65 (39,7%), sin dificultad 87 (53,0%) y no pensaron sobre ello 12 (7,3%). De los 65 pacientes adherentes con dificultades reconocidas 30 (46,2%) dijeron que "no les gustan las tabletas", 23 (35,4%) porque "las tabletas son amargas", 5 (7,7%) porque "las tabletas me causan acidez estomacal", 2 (3,1%) porque "las tabletas me causan mareo" y los restantes 2 pacientes uno por náuseas y el otro no recordó el motivo. Entre los 67 no-adherentes las razones por no tomar las tabletas fueron "no me gustan/me causan problemas" en 43 (50,6%) de los casos, "hice otro tratamiento" 14 (16,5%), no dieron su opinión 13 (15,3%), no recordaron 8 (9,4%) y "me recuperé inmediatamente (8,2%). De esta manera el principal motivo de dificultad entre adherentes y de no adhesión entre no adherentes se refirió a la droga en sí misma. Así, se observa también que la intervención de los familiares en apoyo para la adhesión al tratamiento se concentró en la administración directa de las tabletas.

Discusión

En este estudio se pudo delinear el perfil del paciente no adherente como hombre joven, mestizo, con origen en el área rural y perteneciente a la clase socioeconómica más empobrecida. Sin embargo, ¿el no-adherente debe simplemente "obedecer y completar"? Como todo adolescente o adulto joven, debe ser contenido afectivamente y se debe razonar con él, con la certeza que debe entender que la malaria es un problema serio, que es muy importante que tome todas las tabletas prescriptas para una cura completa y evitar las recaídas. Por supuesto que el mecanismo de reactivación debe ser explicado con palabras simples y accesibles, decirle que los pacientes que no completan el tratamiento pueden sentirse clínicamente mejor pero sin embargo en sus organismos los parásitos se mantienen y multiplican en pocos días o semanas.

El paciente deberá aceptar tomar las tabletas con el estómago lleno para evitar las náuseas, vómitos y acidez estomacal. Manuales como el de la OMS (4) entre otros insiste en este tópico, "se debe asegurar que el paciente no tome las tabletas con el estómago vacío porque pueden provocarle vómitos y dolores abdominales", y en el mismo texto se enfatiza el peligro de tomar todas las tabletas de una sola vez. La adherencia al tratamiento en forma completa esta claramente influida por las reacciones adversas que ocurren en un alto número de pacientes (5). De la misma forma, la revisión de 37 encuestas empíricas de orientación biológica hecha por Homedes y Ugalde (6) sugiere que la no adherencia a los tratamientos médicos está relacionada, entre otros factores, con los efectos provocados por el uso indebido de las drogas. Nuestros resultados son consistentes con dicha apreciación.

Tabla 3. Distribución del número de casos- n (% según adhesión a tratamiento)- que adhirieron y no adhirieron al tratamiento con antimaláricos según variables atribuibles al paciente, familia o sistema de salud, Quininde, Ecuador, 1997

	Adhesión	No adhesión	p
Información [a]			
Informado gota gruesa	161 (66,0)	83 (34,0)	
No informado gota gruesa	3 (60,0)	2 (40,0)	
Percepción información [a]			
"que yo tenía malaria"	131 (81,4)	72 (74,4)	
"que yo tenía malaria por *P.falciparum*"	12 (7,5)	7 (16,2)	
"que yo tenía un parásito en la sangre"	13 (8,1)	4,7 (15)	
"que yo tenía malaria por *P.vivax*"	3 (1,9)	2 (4,7)	
"no recuerdo"	2 (1,2)	0 (-)	0, 38
Espera atención por servicio salud			
Espera < 30 minutos	20 (64,5)	11 (35,5)	
Espera > 1 hora	144 (66,0)	74 (34,0)	0,865
Comprensión de prescripción [b]			
"Sí comprendí"	160 (98,2)	83 (97,6)	
"No comprendí"	3 (1,8)	2 (2,4)	0.785
Opinión sobre tratamiento			
Útil			
No útil			
No pensó sobre el tema			
Apoyo de familia para completar tratamiento			
Si	70 (42,7)	33 (38,8)	
No	94 (57,3)	48 (56,5)	
No contesta	0 (-)	4 (4,7)	
Familiar que apoyó cumplimiento tratamiento			
Padre	6 (8,7)	6 (18,2)	
Madre	49 (71,0)	22 (66,0)	
Esposo/a	9 (13,0)	1 (3,0)	
Familiares	4 (5,8)	2 (6,1)	
Otros	1 (1,4)	2 (6,1)	
Actividad de apoyo de familiar			
Recordar el momento de toma	8 (11,4)	2 (6,1)	
Dar las tabletas	34 (48,6)	23 (69,9)	
Recordar tomar las tabletas	23 (32,9)	5 (15,0)	
No contesta	5 (7,1)	3 (9,0)	
Percepción sobre contribución del tratamiento			
A quitar la fiebre SI	163 (99,4)	75 (89,4)	
A quitar la fiebre NO	1 (0,6)	10 (10,6)	
A quitar los escalofríos SI	163 (99,4)	76 (90,1)	
A quitar los escalofríos NO	1 (0,6)	9 (9,9)	
A sentirse mejor SI	153 (93,3)	70 (80,1)	
A sentirse mejor NO	11 (6,7)	15 (19,1)	

[a] antes tratamiento. [b] Valorado según número de tabletas ingeridas.

No es la falta de recomendaciones de los agentes de salud, de publicaciones u orientación la que conduce a la no adherencia. Hace falta más comunicación, una

comunicación cálida, afectiva que ayude a una mayor calidad de la atención. Todo esfuerzo entre usuarios y proveedores debe ser promovida desde el campo comunicacional, especialmente si su propósito es que los pacientes sean capaces de juzgar las tratamientos ventajosos y no ventajosos y los riesgos que implica la no adherencia.

Por otra parte, entre las razones mencionadas por los pacientes que no adhirieron al régimen terapéutico, aparece el olvido de las instrucciones posológicas, a pesar que en el momento de recibir las tabletas y sus instrucciones aseguren haberlas comprendido perfectamente. Esta expresión fue declarada por prácticamente todos los pacientes del estudio al comienzo del tratamiento, mientras al final más de 20 señalaron su incumplimiento por haberlas olvidado. En este sentido el estudio de Yeboah-Antwi realizado en Ghana y publicado en las *TDR-News* (7) demuestra las claras ventajas de entregar los antimaláricos en sobres pre-envasados para mejorar la adhesión al tratamiento completo. Consideramos esto una recomendación útil para nuestro medio. De la misma manera cuando a las instrucciones orales dadas por los agentes de salud se agrega la entrega de instrucciones escritas, tales como un diagrama explicativo (8), la adhesión mejora en forma notable, indicación que también puede ser aplicada en Ecuador. Esta última recomendación ya fue establecida por el grupo científico de OMS diez años atrás (9) "deben incluirse guías sobre el tratamiento antimalárico en los envases junto a las drogas"

Es importante enfatizar también un problema preocupante, el incremento de infecciones por *P.falciparum*. En el área de Quininde, en 1995, en un período similar al de este proyecto, el SNEM registró 3802 casos de malaria, de los cuales 30% fueron debidos a *P.falciparum* (10,11), frecuencia de infección que en nuestro estudio fue del 48%. La tasa de crecimiento de infecciones severas en Ecuador no es exclusiva de Quininde, Aguilar notificó que entre 1980 y 1993 la frecuencia global en el país aumentó de 25% a 46% (12). Este hecho ha sido atribuido, entre otras razones, al remarcable incremento de resistencia a las drogas de este parásito, la especie prevalente en 91 países (13). La emergencia y rápida dispersión de cepas resistentes de *P.falciparum* a drogas como la cloroquina, de uso frecuente en la zona de Quininde, convirtió a la malaria en una de las enfermedades infecciosas más importantes del mundo, y se constituyó en un serio obstáculo para su tratamiento (12,13).

Finalmente se enfatiza la necesidad de investigación para determinar el impacto en términos financieros, de dinero y pérdida de recursos que implica la no adherencia, no solamente en relación directa al estado de salud y bienestar del paciente, sino también debido a los problemas de ineficiencia que produce en el sistema de salud.

En conclusión este estudio señala cinco hechos: 1) Cada 3 pacientes que adhieren al tratamiento 2 no lo hacen. 2) La no adherencia no está significativamente asociada con sexo, edad, escolaridad, origen rural o urbano, etnicidad o entrada de dinero del jefe de familia. 3) El conocimiento de la severidad de la infección (*P. falciparum*) contribuye a completar el tratamiento. 4) Las características más frecuentemente identificadas por los pacientes no adherentes permiten delinear un "perfil" de los mismos: joven, hombre, mestizo, pobre o indigente, de origen rural. 5) Las razones de no adherencia estuvieron asociadas en la mitad de los casos a los efectos que provoca

la droga (náusea, vómito, mareos) o por rechazo a tomar las tabletas. El olvido y el hecho de la "cura inmediata" fueron otras razones mencionadas por los pacientes.

Esta investigación reconoce que en la base del problema de la no adherencia persisten elementos de naturaleza económica y social que la mantienen, enfatizando la pobreza con su secuencia de inequidad.

El estudio subraya que la malaria no es sólo un problema de los agentes de salud, sino que también concierne a los miembros de la comunidad y que en la lucha contra la malaria los programas correspondientes deben ser efectivamente descentralizados, así como ser flexibles para adaptarse a las circunstancias locales.

Hasta que este proceso de cambio se consolide, será esencial que el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria insista en la necesidad que los usuarios tomen la tableta en el momento preciso, con el estómago lleno, para reducir los problemas que han sido la principal razón de no adherencia. Que insista a su vez en la importancia de completar el esquema terapéutico independientemente de la desaparición de los síntomas, y en crear un sistema de "ayuda memoria" para asegurar la auto-administración de las tabletas durante el número prescrito de días y con el intervalo apropiado (por ejemplo pre-empacado individualizado acompañado de un diagrama de orientación posológica). Estas acciones deben ser priorizadas frente al no-adherente potencial identificado en el perfil no-adherente.

Referencias

1. Freedman H *et al*. (ed) Handbook of Medical Sociology. Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice Hall, 1979.
2. Donovan J, Blake R. Patient Non-compliance: Deviance of Reasoned Decisionmaking. Soc Sci Med 34: 507-513.
3. La Salud del Adolescente y del Joven. Pub. Científica N°552. OPS, Washington D.C., 1995.
4. OMS, Paludismo, Manual para los Agentes de Salud Comunitarios, Ginebra, 1997.
5. Huzli, D., Malaria Chemoprophylaxis in German Tourist: A Prospective Study on Compliance and Adverse Reactions. J Travel Med 3, 1996:148-155.
6. Homedes N, Ugalde A. ¿Qué Sabemos del Cumplimiento de los Tratamientos Médicos en el Tercer Mundo? Bol Of San Panam 116, 1994: 491-516.
7. OMS, TDR-News, 54, Ginebra, Octubre 1997.
8. OMS, TDR-News, 55, Ginebra, Febrero 1998.
9. OMS. Quimioterapia Práctica del Paludismo. Serie de Informes Técnicos 805, Ginebra, 1990.
10. Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria. Archivo de Oficina de Esmeraldas, Ecuador, 1994.
11. Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria. Archivo de Oficina de Quinindé, Ecuador, 1994.
12. Kyle DE *et al*. Revisión de la Resistencia de los Plasmodios a la cloroquina. Bol Of San Panam. 114, 1993: 346.
13. Calvopiña, M., Terapéutica Antiparasitaria. 2°. Ed. Min. Salud Pública del Ecuador / Universidad Católica Santiago de Guayaquil / Hospital Voz Andes, 1997.

Factores asociados a la adherencia al tratamiento de malaria en Piura y Tumbes, Perú

Fernando Llanos-Zavalaga, Facultad de Salud Pública y Administración. Universidad Peruana Cayetano Heredia

Resumen: *Se determinaron factores sociales, culturales y de los servicios de salud asociados a la adherencia al tratamiento de malaria, desde la perspectiva del usuario y del prestador, en poblados de los departamentos de Piura y Tumbes, Perú. Se realizó un estudio transversal cualitativo en comunidades de los departamentos de Piura y Tumbes durante febrero y marzo del 2000, para ello se aplicaron grupos focales y entrevistas en profundidad, bajo el principio de saturación. Existen factores que influyen positiva o negativamente la adherencia al tratamiento antimalárico. Dentro de los primeros se identificó: conciencia de enfermedad, confianza en la efectividad de los medicamentos, conocimiento del riesgo de presentar complicaciones, medicamentos de fácil y corta administración, tratamiento gratuito y supervisado, y participación de promotores de salud. Por otro lado la rápida recuperación de síntomas, aparición de efectos adversos, presencia de población migrante y predominancia de actividad agrícola, pobre accesibilidad, mala calidad de atención y automedicación influyen negativamente en la adherencia al tratamiento.*

Palabras clave: Malaria, tratamiento de malaria, adherencia, estudio cualitativo, Perú.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud considera al tratamiento temprano y adecuado parte fundamental del programa mundial de control de la malaria. Un problema asociado a esta estrategia es la resistencia, especialmente de *Plasmodium falciparum,* a las drogas antimaláricas. Las infecciones por *P. falciparum* son policlonales, con la consecuente posibilidad de selección espontánea de cepas resistentes; ello es facilitado por exposición a concentraciones subterapéuticas de la droga por: (a) uso de drogas poco selectivas, (b) uso de drogas *blanket* y (c) esquemas inadecuados y abandonos de tratamiento (1).

El Perú reporta el segundo número más alto de casos de malaria en América del Sur luego de Brasil (2). Los casos por *P.falciparum* se incrementaron significativamente en el período 1993-1998, para luego mostrar una tendencia al descenso en los dos años siguientes. Pese a que las normas del Ministerio de Salud (MINSA) establecen el tratamiento supervisado, en zonas rurales y de escasa accesibilidad los pacientes reciben el tratamiento completo sin que éste sea supervisado. Para el año 1999 Piura registró un porcentaje de abandono al tratamiento para *P.vivax* de 6,05% y para *P.falciparum* de 4,35%; en Tumbes el abandono al tratamiento fue 1,64% y 2,34% para *P.vivax* y *P.falciparum* respectivamente (3). A nivel mundial el porcentaje de abandono de tratamiento es significativamente más

elevado, fluctuando entre el 20% y el 90%, lo que ha llevado a implementar estrategias de intervención (4-6). Garantizar la adherencia al tratamiento permite retrasar la aparición de resistencia (4,7).

Existen estudios que describen pobre adherencia asociada a la presencia de efectos secundarios, tiempo de tratamiento, pobre consejería y asociación inversa con el deseo de curarse (7). Otras características asociadas incluyen la desaparición temprana de síntomas y ausencia de una envoltura amigable del antimalárico (5). En Asia se ha demostrado los beneficios de intervenir en factores socioculturales para mejorar la adherencia a los antimaláricos (4).

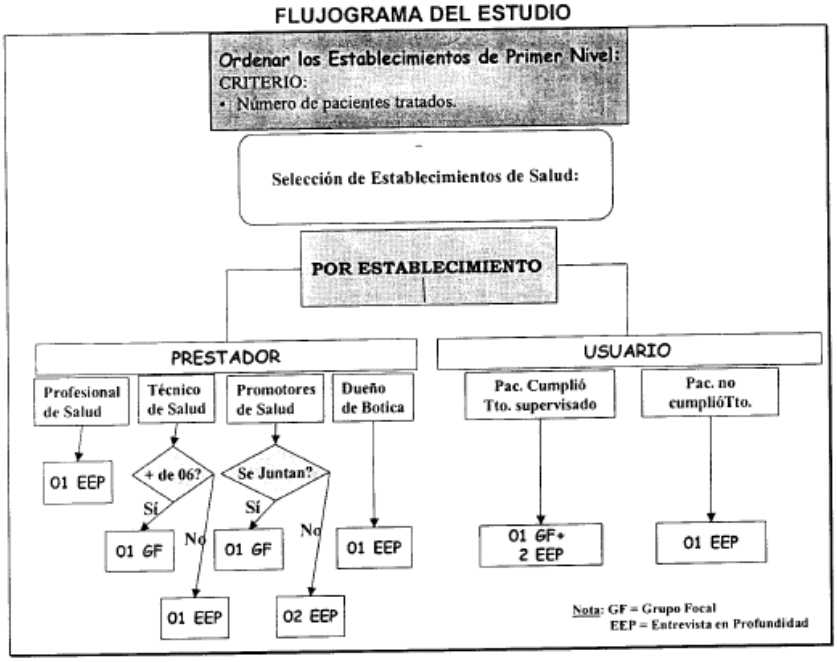
Por ello, es necesario contar con información sobre el conocimiento y creencias de la población sobre malaria y su tratamiento, dentro del marco de la cosmovisión del poblador local. El presente estudio tiene por objetivo determinar factores sociales, culturales y de los servicios de salud asociados a la adherencia al tratamiento de malaria desde la perspectiva del usuario y del prestador, en poblados de los departamentos de Piura y Tumbes, Perú.

Materiales y métodos

Se realizó une estudio cualitativo en los departamentos de Piura y Tumbes, durante los meses de febrero y marzo del año 2000. Los establecimientos de salud por departamento fueron ordenados en dos grupos (alto y bajo) en función de los casos de malaria reportados y tratados. De cada grupo se seleccionó aleatoriamente un establecimiento (Gráfico1).

En cada establecimiento se trabajó con prestadores y usuarios. Con los

GRAFICO N°1
FLUJOGRAMA DEL ESTUDIO



prestadores se realizó una entrevista en profundidad (EEP) con los profesionales de salud (médico o enfermera), y un grupo focal (GF) con técnicos asistenciales, de no ser factible se realizó una EEP al técnico asistencial. Se realizó un GF con los promotores de salud, cuando ello no fue posible se aplicaron dos EEP. Cuando se encontraron boticas o farmacias que venden antimaláricos se realizó una EEP con el dueño o encargado de la atención. Con los usuarios se definieron dos subgrupos: pacientes que cumplen o han cumplido el tratamiento supervisado en los tres meses previos y pacientes que no cumplieron el tratamiento. En total se realizaron 4 EEP a médicos, 4 EEP a técnicos de salud, 4 EEP y 2 GF a promotores de salud, 2 EEP a encargados de botica, 2 GF y 12 EEP a pacientes que cumplieron el tratamiento y 5 EEP a pacientes que lo abandonaron. La aplicación de estos instrumentos permitió lograr la saturación sobre el tema. Las guías de GF y EEP fueron diseñadas con miembros de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. La validación se realizó en un establecimiento de salud de la zona de estudio, distinto de los seleccionados. Se aplicaron EEP a 2 prestadores y 2 usuarios, las grabaciones y notas del entrevistador fueron analizadas y se realizaron las modificaciones. Al inicio de cada FG y EEP se explicó y entregó el consentimiento informado, luego se pidió la autorización expresa de los participantes para la grabación, garantizando la confidencialidad.

Se aplicó un análisis cualitativo inductivo, se conceptualizó la información para elaborar temas que expliquen el problema planteado. Para ello se evaluó de manera conjunta la visión de los usuarios y las percepciones y experiencias de prestadores en relación a malaria y adherencia al tratamiento, contrastando las diferentes perspectivas. Las EEP y GF grabados, fueron transcritos, revisados y codificados considerando los temas de interés, utilizando el software Atlas-ti (8). El nivel de textos incluyó segmentación, codificación, indexación. etc. Se realizó análisis temático inter-sujeto e intra-sujeto. En el análisis inter-sujeto se consideraron los temas planteados por cada persona con mayor énfasis en los temas relevantes. La definición de la relevancia del tema para el entrevistado (análisis intra-sujeto) fue realizada en función del número de veces que la persona hizo referencia al tópico.

Resultados y discusión

La concepción de salud forma parte de la visión del mundo de cada grupo humano; entremezclándose componentes culturales, historia socio-económica, experiencias previas (personales y del entorno), y condiciones del contexto en el espacio de convivencia. La responsabilidad, actitud, manera de enfocar la enfermedad, manifestación de conciencia o entendimiento del significado e implicancias de estar enfermo y riesgos de no continuar tratamiento, son elementos clave para la adherencia al tratamiento. Tomar conciencia de la enfermedad implica asumir una responsabilidad con el tratamiento y garantizar su cumplimiento.

El conocimiento adquirido por experiencias personales, entorno familiar o social, e información de prestadores de salud, determinan la actitud (conciencia) frente a una situación de enfermedad. En el estudio, pese al reconocimiento de la malaria como enfermedad “importante” los conocimientos “técnicos” fueron escasos, posiblemente

debido a un nivel educativo bajo y pobre consejería; sin embargo, éstos aumentan con la experiencia previa "familiar" o "social" de enfermedad. Las campañas educacionales en salud pueden mejorar las actitudes de los pobladores, en Camboya usando medios audiovisuales se aumentó la adherencia al tratamiento antimalárico (9). Esto también ha sido descrito para TBC (10,11), asma (12) y VIH/SIDA (13). Reconocer la malaria como enfermedad con un agente causal induce a confiar en las medidas terapéuticas como los antimaláricos, asegurando la adherencia. El conocimiento del curso natural de la enfermedad, la valoración de un enfermo como portador y potencial propagador, asumirse enfermo es clave para entender la necesidad de culminar el tratamiento aunque ya no presente sintomatología, a fin de estar sano: *"...como son 14 días, uno mira las pastillas y dice que no las va a tomar...pero en mi caso yo recordaba que estaba mal y que debía terminar..."* (EEP Paciente supervisado-Tumbes).

En Ecuador el conocimiento de la gravedad de la infección por *P. falciparum* favoreció la adherencia al tratamiento (14). La conciencia de enfermedad y su efecto en la adherencia al tratamiento se evidenció en asma y enfermedades crónicas renales y cardíacas en Canadá (15) y Reino Unido (16). En Perú (17), Vietnam (18), México (19) y Pakistán (20) pacientes con TBC mostraron pobre adherencia asociada a desconocimiento o conocimiento erróneo con respecto al proceso biológico de la enfermedad.

Otro factor asociado a la adherencia es el conocimiento de los riesgos de abandonar tratamiento, como complicaciones, muerte, recaídas y generación de resistencia. Sin embargo, éste no siempre es un conocimiento "correcto" de los aspectos etiológicos y evolución de enfermedad: «que la "malaria benigna" se transforme en "malaria maligna"». Asimismo, la posibilidad de recaída es mencionada al ser fácil de observar y valorar como consecuencia de la no adherencia al tratamiento, reconociendo a la vez la posible generación de resistencia como uno de sus riesgos: *"(al abandonar el tratamiento) los síntomas se incrementan y puede agravarse el cuadro..."*(EEP Paciente Supervisado-Tumbes*) // "...Si, recuerdo el amigo que fue conmigo la otra vez, ha recaído como tres veces, ya la última vez creo que terminó de tomarlas porque era mucha la recaída..."* (EEP Paciente abandono-Piura) // *"...me dijeron que seguramente había interrumpido el tratamiento y por eso ahora tengo el problema de resistencia..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes). El reconocimiento de los probables riesgos de abandonar tratamiento como condicionante de adherencia se ha observado también para la malaria en Ecuador (21), TBC en Perú (17) y Argentina (22) y SIDA en USA(23).

La confianza en el tratamiento fue descrita como factor de adherencia y es determinada por la percepción de efectividad de las drogas entendida como desaparición de síntomas, definida por experiencia propia o por transmisión oral de prestadores: *"...con esto me curo, y con esto me estoy curando igual cuando me dan mis pastillas..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"...me dieron otro tipo de medicina, eran unas tabletas, fansidar...luego desaparecieron los síntomas y así me curé felizmente"* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes). Resultados similares se encontraron en Ecuador (21).

La confianza en la terapia también está relacionada con modelos populares causa-efecto (remedio-curación) sin comprender la acción lenta en algunas de ellas, lo que genera desconfianza en la terapia motivando pobre adherencia, como en TBC (17). Son pocos los pacientes y promotores que no ponen en duda que los antimaláricos sean efectivos, situación que condiciona el abandono del mismo: *"...como yo no he terminado mi tratamiento, yo en realidad no creo que las pastillas curen..."* (EEP Paciente abandono-Tumbes) // *"...efectividad [...] ahí tengo un poco de duda..."* (EEP Promotora-Tumbes).

El año 2000 se aprobó la "Política Nacional de Medicamentos para el control de la Malaria en el Perú" optando por esquemas alternativos para malaria por *P.falciparum* no complicada, según estratos de resistencia. Usuarios y prestadores mencionaron al nuevo tratamiento como condicionante para mayor aceptación y adherencia:*"...conviene pues, una sola vez, porque, así te da ganas de seguir haciendo tu trabajo"* (EEP Paciente Supervisado- Piura) // *"...lo que más me molesta, mucho tiempo, muchas pastillas..."* (EEP Paciente Abandono-Tumbes) // *"...en el caso de vivax, a mí el tratamiento me parece muy largo, porque a veces el paciente no viene a buscar el tratamiento y te dicen que es muy largo, en cambio cuando es falciparum le damos su tratamiento y le decimos que regresen a su control, y regresan..."* (EEP Técnico Salud-Tumbes). El uso de esquemas cortos y de fácil administración como condicionante de buena adherencia al tratamiento ya fue informado para la quimioprofilaxis (24-29) y tratamiento de malaria por *P.falciparum* (7,24), de TBC (17,30-32) y de VIH positivos (33).

El tratamiento brindado por el Ministerio es gratuito y fue mencionado por muchos pacientes como factor asegurador de cumplimiento de tratamiento. Pero según los prestadores la gratuidad ocasiona desinterés y minusvaloración de la enfermedad, produciendo bajo compromiso con la terapia: *"... porque es una cosa gratuita uno las toma..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) //*"...pues prácticamente el tratamiento es gratis porque si tuviéramos que comprar pastillas, cuánto gastaríamos, acá nos lo dan en el centro de salud"* (EEP Paciente Abandono-Tumbes) //*"...«ya no le doy ninguna importancia porque no me ha costado», más o menos así me respondió..."* (EEP Técnico de Salud-Piura) En Myanmar, los usuarios no consideraron la gratuidad como un factor para la adherencia(5); tampoco para TBC en Perú, donde prestadores y usuarios consideran los fármacos gratuitos de mala calidad (17).

La gratuidad debe estar acompañada del suministro garantizado (34,35). En algunas oportunidades no hubo disponibilidad de antimaláricos por lo que fue necesaria su indicación por otros medios, complicando la supervisión: *"...cuando no hay medicina quieren que vayamos a comprar aquí en la farmacia, ahorita estarán pues las ampollas tenemos que comprarlas..."* (EEP Paciente abandono-Tumbes) // *"...fansidar el año pasado no daban en la posta y había que comprarlas en Tambo Grande, están 10 soles y no teníamos para comprarlas... veíamos la forma para prestarnos para ir a comprar pero hasta ahora yo no he tomado esa pastilla, pero hoy día dieron porque ya hay..."* (EEP Paciente abandono-Piura). El suministro no garantizado asociado a pobre adherencia ha sido observado en estudios de malaria (36) y TBC (37).

El tratamiento supervisado es considerado indispensable para la adherencia por los pacientes. La supervisión es brindada por personal del Ministerio o por personas voluntarias de la población (promotores de salud) capacitados. Así, la supervisión puede ser realizada en el centro de salud, en la localidad, en el domicilio del paciente, incluso en el local laboral, como fue manifestado. Los promotores reconocen su valor para garantizar el cumplimiento del tratamiento supervisado; y algunos prestadores expresan desconfianza por el destino de las drogas si son brindadas de manera no supervisada: *"tienen que hacértelas tomar porque si te dan así en montón tú te olvidas..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"...supervisas que el paciente tome el medicamento, porque si tú se lo das a su casa hay dos posibilidades: que lo tome o que no lo tome, o que lo venda de repente..."*(EEP Médico-Tumbes) // *"...nosotros tenemos el trabajo de irlos a buscar, a veces están trabajando... nosotros tenemos que andar con nuestra botella de agua y hacerles tomar ahí..."* (EEP Promotor de Salud-Tumbes). La ausencia de supervisión en malaria es un factor condicionante de un tratamiento inadecuado y de malaria grave (38); semejante a lo que ocurre en TBC (17,39-44). La mayoría de usuarios y prestadores reconocen que los promotores de salud son determinantes para una buena adherencia, al reducir la distancia y minimizar el tiempo de espera de atención brindada al interior de la comunidad. Sin embargo, el malestar expresado por los promotores por la falta de incentivos o reconocimiento por su trabajo genera interrogantes sobre su sostenibilidad:*"...es común que la gente vaya a las promotoras, es más fácil, más rápido..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"(los promotores) nos sacan las muestras, esperan el resultado y nos dan el tratamiento..."* / *"(los promotores" están bien, porque cundo hay bastante paludismo, las enfermeras no se alcanzan..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"...los promotores ayudan bastante, colaboran bastante"* (EEP Técnico Salud-Piura) // *"...he sido promotora de salud y hasta ahorita no he recibido ningún apoyo..."* (EEP Promotor de Salud-Tumbes). Este efecto positivo de los promotores ha sido descrito en malaria (Ecuador) (21); TBC (31,40,45) y enfermedades de transmisión sexual (46).

La sensación de sentirse "sano" luego de iniciar el tratamiento, es uno de los principales factores asociados al abandono: *"...se me hacía difícil venir (al puesto de salud) porque salíamos a las dos de trabajar... y como tomé por cuatro días y ya me sentía bien..."* (EEP Paciente abandono-Piura) // *"...algunos sí (abandonan) porque se sienten bien; dicen: ya no tengo nada, ya no vienen al centro de salud porque ya se ven bien..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes). En general, la población concibe que debe seguir tratamiento hasta que no tenga síntomas, lo que concuerda con lo reportado en el estudio de malaria grave en Piura y Loreto (38). En Ecuador 8,2% (14) y en Myanmar 25% (25) de los casos que abandonaron tratamiento antimalárico dieron como motivo el rápido alivio de síntomas, situación observada también para TBC (17,26).

La presencia de efectos adversos a los antimaláricos es otro factor asociado a la pobre adherencia y a la ausencia de búsqueda de tratamiento ante un nuevo episodio probable de malaria. Los efectos adversos más citados por los usuarios fueron dermatológicos (rash, prurito), cardiovasculares (hipotensión) y gastrointestinales (irritación gástrica, náuseas/vómitos). Algunos usuarios relacionan a estos con una

dosis "elevada" de antimaláricos, por lo que sugieren alargar el tiempo de tratamiento reduciendo la dosis diaria: *"...las pastillas cuando yo las tomo me coge una picazón fuerte, no me deja dormir, toda la noche me pica el cuerpo y siento que las pastillas que yo tomo me hacen mal porque me coge la picazón..."*(EEP Paciente abandono-Tumbes) // *"...(abandoné) porque era demasiado amarga, era una cosa que yo decía «ya no quiero tomar, no me gusta» y las pastillas cuando la tomaba como que más mal me sentía... Náuseas, vómitos luego de tomar las pastillas..."* (EEP Paciente abandono-Tumbes)**.** Esta asociación ya fue registrada en Piura y Loreto (38), causa de abandono en 50,6% de los pacientes en Ecuador(14), 37,5% en Tailandia (7), en la quimioprofilaxis de malaria (27,28) y en el tratamiento de TBC (17,44,47-50) y SIDA (33). Otro aspecto relacionado es el consumo de algunos alimentos junto con la medicación. Existe la idea de que se debe evitar el consumo de pescado y cítricos cuando uno tiene una herida cortante o recibe medicación, como en malaria: *"...me dijeron que durante el tiempo que esté tomando evitara comer pescado, todo cítrico, todo lo que es colorante no debía consumir..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes).

La migración o movilización continua por motivos laborales y comerciales también fue descrita como factor de pobre adherencia por los pacientes y prestadores. Ello sobre todo en el área cercana a la frontera como Aguas Verdes, que reporta el segundo más alto número de casos de malaria y la mayor proporción de abandonos al tratamiento en Tumbes. En Piura, algunos prestadores indicaron que este fenómeno se presenta con menor frecuencia y por temporadas, como cuando el campesino va a trabajar en época de sembrío y/o cosecha en zonas lejanas a su vivienda:*"...la gente no es de acá, la gente todos son de fuera y a veces encuentran otra posibilidad de trabajo y se van..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"...el problema del tratamiento es en el vivax, en la zona, es una población flotante, es migratoria, entonces abandonan el tratamiento, se van y es difícil, por ser zona de frontera, zona comercial..."* (EEP Técnico Salud-Tumbes) // *"...hay gente que le sale otro trabajo y se van por 15 días, un mes y uno no sabe, se van a Piura, Sullana sin decir nada..."* (EEP Técnico Salud-Piura). Ya se ha publicado que la migración temporal, por motivos laborales, favorece la transmisión de malaria (51) y TBC (52,53). Además esta población suele tener menor conocimiento y pobre conciencia de la malaria y al no reconocer los síntomas favorece un mayor tiempo de transmisión y riesgo de desarrollar malaria severa (38). La importancia de la actividad laboral es otro factor para la demora en acudir para diagnóstico y tratamiento, los prestadores refieren que se prioriza la labor que genera ingresos sobre la adherencia al tratamiento, más aún cuando en la zona la pobreza es predominante: *"...no se puede ir diario (al centro de salud) pues nos quita el tiempo de ir a trabajar, son 4 días... hasta 15 días y nosotros somos los que salimos a buscar el trabajo y si no salimos no hay para la comida."* (EEP Paciente abandono-Piura) // *"...ellos consideran que estar enfermos con malaria significa estar en cama y no salir a trabajar, entonces ellos dicen «cuando estoy tomando eso entonces ya no puedo irme», ... su trabajo es en otro lugar, ..., a veces es trabajo una de las razones de no cumplimiento del tratamiento..."* (EEP Técnico Salud-Piura). Relación ya descrita en pacientes con malaria (38) y con TBC (14).

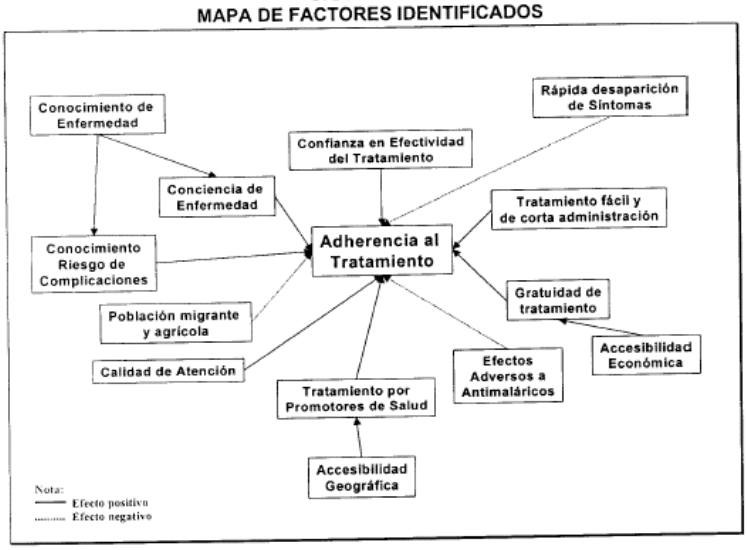
La distancia del establecimiento al domicilio es un obstáculo para el uso adecuado de los servicios de salud; los horarios de atención no son los más apropiados considerando los horarios laborales. El regreso diario para recibir tratamiento se hace una tarea difícil para el que trabaja o vive distante del establecimiento. En algunos casos, los síntomas limitaban la accesibilidad al centro y la adherencia al tratamiento. Esta relación entre accesibilidad y adherencia ha sido descrita en malaria (5), TBC (31,54) e inmunizaciones (55), y se torna más relevante en la región amazónica peruana pues obliga a pensar en métodos de diagnóstico rápido y tratamiento supervisado a través de promotores de salud: *"porque como no viven cerca y como tienen esos síntomas del paludismo,..., ya se van y la compran hasta que lleguen al centro de salud, hasta que abran..."* (EEP Paciente Supervisado-Piura) // *"...cuando salíamos a trabajar, por ejemplo, entrábamos a las 9 a.m. y salíamos a las 3 p.m. y cuando llegábamos a la posta ya todos estaban saliendo, o a veces estamos cansados por eso ya no íbamos..."*(EEP Paciente abandono-Piura).

Aunque la mayoría de usuarios mencionó que la calidad de atención era buena, algunos comentaron que el tiempo de espera era muy largo convirtiéndose en una razón para no acudir al establecimiento e interrumpir tratamiento. Esta percepción negativa de la calidad de atención genera desconfianza y rechazo a los servicios y plantea la opción de recurrir a otros servicios de salud, donde esperan obtener atención más personalizada: *"...la segunda vez que me sentí mal, fui con mi mamá... le dijeron que no podían atendernos, que están muy ocupados,... y que no podíamos ir al hospital de Tumbes, porque no atendían sin orden de transferencia..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"...a mí cuando me trajeron tenía que estar esperando porque la señorita se ponía a conversar y no nos atendía"* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) // *"No me gustó la atención, tuve que ir a Corrales [Centro de Salud*] *para que me atendieran* (EEP Paciente Supervisado- Tumbes). En China (6) la pobre calidad de atención y escasa información brindada por los prestadores es causa de pobre adherencia al tratamiento antimalárico, como también ocurre en TBC (17-19,54) y VIH (56).

La automedicación es reconocida por los usuarios y relacionada con el abandono del tratamiento. Para los prestadores, la capacidad de adquirir antimaláricos está asegurada por la presencia de otros dispensadores: farmacias, boticas o bodegas, que se expenden sin previo examen diagnóstico ni prescripción. Esto impide mantener un control, aumentando el riesgo de tratamiento incompleto, complicaciones y resistencia parasitaria: *"...en la farmacia le dicen que deben tomarse dos o tres pastillas nada más y ya la persona que se siente bien ya no toma más..."* (EEP Paciente Supervisado-Tumbes) //*"...ellos son los que usan automedicación, dicen «voy a ir a la zona de los valles del inca y como hay malaria allá, ya me ha dado y sigo mal mejor tomo», entonces se toman dos o tres pastillas de cloroquina y se van..."* (EEP Médico-Piura). Con la automedicación existe el riesgo de tratamientos inapropiados como se reportó en Vietnam, donde sólo 30% de los vendedores de antimaláricos recomendaban esquemas terapéuticos adecuados (57). Los prestadores refieren que los pacientes justifican esta práctica por la rapidez de inicio de tratamiento y el menor tiempo de administración, mayormente un día con sulfadoxina/pirimetamina.

En conclusión existen factores que influyen positiva o negativamente en la adherencia a la terapia antimalárica. Entre los primeros se identificó la conciencia de enfermedad, la confianza en la efectividad de medicamentos, el conocimiento del riesgo de presentar complicaciones, drogas de fácil administración y corta duración, tratamiento gratuito y supervisado y la participación de promotores de salud. Entre los que influyen negativamente están la rápida recuperación de síntomas, aparición de efectos adversos, presencia de población migrante y predominio de actividad agrícola, la pobre accesibilidad, la mala calidad de atención y la automedicación (gráfico 2).

GRAFICO N°2
MAPA DE FACTORES IDENTIFICADOS



Esta descripción nos lleva a reconocer la necesidad de implementar estrategias de educación, información y comunicación dirigidas a la población de la zona y población emigrante para mejorar su conocimiento, actitud y conciencia sobre la malaria. Simultáneamente, desde la oferta de los servicios, es necesario capacitar a los prestadores y promotores para brindar una adecuada consejería al momento del diagnóstico presuntivo para informar adecuadamente del proceso de la enfermedad y la importancia de mantener el tratamiento independientemente de la mejoría sintomática. Todo ello dentro de una consejería integral que incluya aspectos biológicos, sociales y culturales. El tratamiento de población en constante movimiento es un tema complejo que requiere mayor profundización. EL tratamiento supervisado brindado por promotores permite afrontar parcialmente este problema.

Finalmente, disminuir la automedicación es otro aspecto que debe ser abordado de manera integral. Este es un tema complejo que está relacionado, entre otros, a la pobreza, accesibilidad a los servicios, derecho de libre comercio y venta regularizada de medicamentos, tratamiento gratuito y garantizado, conocimiento y conciencia de enfermedad.

Referencias

1. Newton P, White N Malaria: New developments in treatment and prevention. Ann Rev Med 50, 1999:179-183.
2. Aramburú Guarda J, Ramal Asayag C, Witzig R. Malaria Reemergence in the Peruvian Amazon Region. Emerg Infect Dis 5, 1999. http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no2/aramburu.htm
3. Ministerio de Salud. Estudio de cohorte del tratamiento de malaria. *Programa* Nacional de control de malaria y OEM. Lima, Perú. 1999.
4. Gomes M. Wayling S, Pang L. Interventions to improve the use of antimalarials in south-east Asia; an overview. Bull World Health Organ 76 (Suppl 1), 1998: 9-19.
5. Shwe T, Lwin M, Aung S. Influence of blister packaging on the efficacy of artesunate + mefloquine over artesunate alone in community based treatment of non severe falciparum malaria in Myanmar. Bull World Health Organ 76 (Suppl 1), 1998: 35-41.
6. Qingjun L, Jihui D, Laiyi T et al. The effect of drug packaging on patients' compliance with treatment for *Plasmodium vivax* malaria in China. Bull World Health Organ 76(Suppl 1), 1998: 21-27.
7. Fungladda W, Honrado ER, Thimasarn K et al. (1998) Compliance with artenusate and quinine + tetracycline treatment for uncomplicated falciparum malaria in Thailand. Bull World Health Organ 76 (Suppl 1), 1998: 59-66.
8. Atlas-ti. Versión 4.1 Scientific Software Development. Berlin. 1997.
9. Denis MB. Improving compliance with quinine + tetracycline for treatment of malaria: Evaluation of health education interventions in Cambodian Villages. Bull World Organ 76 (Suppl 1), 1998: 59-66.
10. Liefooghe R, Suetens C, Meulemans H, Moron ME, Muynck A. A randomized trial of the impact of counseling on treatment adherence of tuberculosis patients in Sialkot, Pakistan. Int J Tuberc Lung Dis 3, 1999: 1073-1080.
11. Morgan L. A decade review: methods to improve adherence to the treatment regimen among hemodialysis patients. Nephrol Nurs J 27, 2000: 299-304.
12. Chang AB, Shannon C, O'Neil MC, Tremann AM. Asthma management in indigenous children of a remote community using an indigenous health model. J Paediatr Child Health 36, 2000: 249-251.
13. Mc Pherson-Baker S, Malow RM, Penedo F, Klimas NG. Enhancing adherence to combination antiretroviral therapy in non-adherent HIV positive men. AIDS Care 12, 2000: 399-404.
14. Yépez M, Zambrano D, Carrasco F, Yépez R. Factores asociados con el cumplimiento del tratamiento antipalúdico en pacientes ecuatorianos. Rev Cuban Med Trop 52, 2000: 81-89.
15. Simpson SH, Farris KB, Johnson JA, Tsuyuki RT. Using focus groups to identify barriers to drug use in patients with congestive heart failure. Pharmacotherapy 20, 2000: 823-829.
16. Hofner R, Weinman J. Patient's beliefs about prescribed medicines and their role in adherence to treatment in chronic physical illness. J Psychosom Res 47, 1999:555-567.
17. Ministerio de Salud. Vivir la tuberculosis, Estudio socioantropológico de la tuberculosis en dos zonas de alto riesgo de Lima: San Cosme y El Agustino. Lima-Perú. 2000.
18. Johansson E, Long NH, Diwon VK, Winfuist A. Attitudes to compliance with tuberculosis among women and men in Vietnam. Int J Tuberc Lung Dis 3, 1999: 862-868.
19. Alvarez-Gordillo GC, Alvarez-Gordillo JE, Dorantes-Jimenez JE, Halperin-Frisch D. Perceptions and practices related with tuberculosis and treatment compliance in Chiapas, México. Salud Public Mex 42, 2000: 520-528.
20. Liefooghe R, Muynck AD. The dynamics of tuberculosis treatment adherence. J Pak Med Assoc 51, 2001: 3-9.
21. Kroeger A, Mancheno M, Ruiz W, Estrella E. Malaria y Leishmaniasis Cutánea en el Ecuador. Centro Latinoamericano del Instituto de Higiene Tropical y Salud Pública. Universidad de Heidelberg. Heidelberg, Alemania. 1993.
22. Polo Friz H, Dain A. Treatment with tuberculostatic drugs: compliance at a general hospital. Rev Fac Cienc Med Univ Nac Cordoba 55, 1997: 21-25.
23. Gao X, Nau DP, Rosenhluth SA, Scott V, Woodward C. The relationship of disease severity, health beliefs and medication adherence among HIV patients. AIDS Care 12, 2000: 387-398.

24. Wilairatana P, Krudsood S, Chokejindachaiw et al. A clinical trial of combination of artesunate and mefloquine in the treatment of acute uncomplicated falciparum malaria: a short and practical regimen. Southeast Asian J Trop Med Public Health 29, 1998: 696-701.
25. Ko Ko Hla. The study of the efficacy and safety of oral dihydroartenisinin tablet (cotecxin) on uncomplicated Plasmodium falciparum malaria patients. En: Abstracts of papers presented at the Myanmer Medical Association Specialty Conference, Mandalay, 1995.
26. Liam CK, Lim KH, Tang BG. Attitudes and knowledge or newly diagnosed tuberculosis patients regarding the disease, and factors affecting treatment compliance. Int J Tuberc Lung Dis 3, 1999: 300-309.
27. Petersen E, Ronne T, Roon A, Bygberj I, Larsen SO. Reported side effects to chloroquine, chloroquine plus proguanil, and mefloquine as chemoprophylaxis against malaria in Danish travelers. J Travel Med 7, 2000: 79-84.
28. Chattergee S. Compliance of malaria chemoprophylaxis among travelers to India. J Travel Med 6, 1999: 7-11.
29. Abraham C, Clift S, Grabowski P. Cognitive predictors of adherence to malaria prophylaxis regimens on return from a malarious region: a prospective study. Soc Sci Med 48, 1999: 1641-1654.
30. Martinez Alfaro E, Solera J, Serna E, Cuenca D, Castillejos ML, Espinoza A, Saez L. Compliance, tolerance and effectiveness of a short chemoprophylaxis regimen for the treatment of tuberculosis. Med Clin (Barc) 111, 1998: 401-404.
31. Nuwaha F. High compliance in an ambulatory tuberculosis treatment programme in a rural community of Uganda. Int J Tuberc Lund Dis 3, 1999: 79-81.
32. Jasmer RM, Snyder DC, Daley CL. Twelve months of isoniazid compared with four months of isoniazid and rifampin for persons with radiographic evidence of previous tuberculosis: an outcome and cost-effectiveness analysis. Am J Respir Crit Care Med 162, 2000:1648-1652.
33. Roberts KJ, Mann T. Barriers to antiretroviral medication adherence in HIV-infected women. AIDS Care 12, 2000: 377-386.
34. Scott RA, Chatoo SD, Sander JW. The treatment of epilepsy in the developing countries: where do we go from here? Bull World Health Organ 79, 2001: 344-351.
35. Mong Q, Liu X, Shi J. Comparing the service and quality of private and public clinics in rural China. Health Policy Plan 15, 2000: 349-356.
36. Kaneko A, Taleo G, Kalkoa M, Yamar S, Kobayakowa T, Bjorkman A. Malaria erradication on islands. Lancet 356(9241), 2000: 1560-1564.
37. Isema MD. Management of multidrug-resistant tuberculosis. Chemotheraphy 45 (Suppl 2), 1999; 3-11.
38. Ministerio de Salud. Estudio de los condicionantes de la morbimortalidad por malaria grave producida por el *Plasmodium falciparum*. Lima-Perú 2001.
39. Desvarieuro M, Hyppolite PR, Pape JW. A novel approach to directly observed therapy for tuberculosis in an HIV-endemic area. Am J Public health 91, 2001: 138-141.
40. Balasubramanian VN, Oommen K, Samuel R. DOT or not? Direct observation of anti-tuberculosis treatment and patient outcomes, Kerala state, India. Int J Tuberc Lund Dis 4, 2000: 409 - 413.
41. Al-Hajjaj MS, Al-Khatim IM. High rate of non-compliance with antituberculosis treatment despite a retrieval system: a call for implementation of directly observed therapy in Saudi Arabia. Int J Tuberc Lund Dis 4, 2000: 345-349.
42. Corvick J, Thompson S, Edlin BR, Watlers BK. Incentives and accessibility: a pilot study to promote adherence to TB prophylaxis in a high-risk community. J Urban Health 76, 1999: 461-467.
43. Akkslip S, Rasmithat S, Sawert H. Direct observation of tuberculosis treatment by supervised family members in Yasothorn Province, Thailand. Int J Tuberc Lung Dis 3, 1999: 1061-1065.
44. Davidson BL. A controlled comparison of directly observed therapy vs. self-administered therapy for active tuberculosis in the urban United States. Chest 114, 1998: 1239-1243.
45. Ministerio de Salud. Informe Técnico: Resistencia del *Plasmodium falciparum* a medicamentos antimaláricos en el Perú. Proyecto Vigía/MINSA – USAID. 1999.
46. Pineda Y, Palma H. Capacitación de Promotores de Salud para la formación grupal de mujeres en áreas rurales para trabajar en presencia de ETS VIH/SIDA. Congreso Centroamericano de Enfermedades de Transmisión Sexual Lima-Perú 1997.

47. Cook SV, Fujwara PJ, Friedan TR. Rates and risk factors for discontinuation of rifampicin. Int J Tuberc Lung Dis 4, 2000: 118-122.
48. Galván Olivares F, Santiuste C. Factors related with compliance with tuberculosis chemoprophylaxis. Med Clin (Barc) 111, 1998: 655 - 657.
49. Heal G, Elwood RK, Fitzgerald JM. Acceptance and safety of directly observed versus self-administered isoniazid preventive therapy in aboriginal people in British Columbia. Int J Tuberc Lung Dis 2, 1998: 979-983.
50. Minodier P, Lanza-Sillol F, Unal D. Imported pediatric malaria in Marseille. Arch Pediatr 6, 1999: 935-943.
51. Ishikawa N. Tuberculosis among immigrants in Japan – epidemiological, clinical and sociological features, and the future of control. Kekkaku 70, 1995: 691-703.
52. King K, Dorner RI. Are health undertakings effective in follow-up of migrants for tuberculosis? Med J Aust 163, 1995: 407-411.
53. Comolet TM, Rakotomalala R, Rajaonarioa H. Factors determining compliance with tuberculosis treatment in an urban environment, Tamatave, Madagascar. Int J Tuberc Lung Dis 2, 1998: 891-897.
54. Vaahtera M, Kulmala T, Maleta K, Culliman T, Salim ML, Ashorn P. Childhood immunization in rural Malawi: time of administration and predictors of non-compliance. Ann Trop Paediatr 20, 2000: 305-312.
55. Wright MT. The old problem of adherence: research on treatment adherence and its relevance for HIV/AIDS. AIDS Care 12, 2000: 703-710.
56. Dihn Long L, Thi Yen P, Van Nhu T, Nguyen L. Use and quality of antimalarial drugs in the private sector in Vietnam. Bull World Health Organ 76 (suppl 1), 1998: 51-58.

Portadores asintomáticos de *Plasmodium spp.* como fuente de infección para mosquitos vectores de malaria en la región amazónica de Brasil

Fabiana Piovesan Alves, Centro de Pesquisa em Medicina Tropical, Porto Velho, Rondônia, y Departmento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Artículo original: Alves FP, Gil LHS, Marrelli MT, Ribolla PEM, Camargo EP, da Silva LHP. Asymptomatic carriers of *Plasmodium* spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon. *J Med Entomol* 42, 2005: 777 - 779.

Resumen: *Se describe la existencia de portadores asintomáticos de* Plasmodium vivax *y* P. falciparum*, usualmente con muy baja parasitemia, en poblaciones nativas del litoral fluvial del estado de Rondônia, en la región amazónica del Brasil. Se seleccionaron 14 adultos asintomáticos (positivos sólo por PCR) y se realizaron infecciones experimentales de* Anopheles darlingi *mediante xenodiagnóstico directo e indirecto con alimentador artificial de membrana. El grupo control estuvo constituido por 17 adultos sintomáticos con alta parasitemia. La tasa de infección de mosquitos a partir de sangre de los individuos asintomáticos fue del 1,2% y para los sintomáticos 22%. Aunque el grupo de asintomáticos infectó* Anopheles *con una tasa mucho menor, estas personas permanecen infectivas más tiempo que los pacientes sintomáticos que son tratados. Además la prevalencia de las infecciones asintomáticas es de 4 a 5 veces más alta que la de infecciones sintomáticas entre estos grupos nativos. De esta manera se pudo verificar que los individuos asintomáticos pueden infectar a* A. darlingi*, el principal vector de malaria en Brasil, y que actúan como reservorios del parásito en la región. Estos resultados tienen consecuencias para el programa de control de la malaria de Brasil, que focaliza sus acciones principalmente en el tratamiento de pacientes sintomáticos.*

Palabras clave: Malaria, infección asintomática, alimentación de mosquitos, *Anopheles darlingi.*

Introducción

El estado de Rondônia, al oeste de la región amazónica, es responsable de gran parte de los casos de malaria registrados en Brasil desde la década de 1970. Este aumento de incidencia ha sido consecuencia de la inmigración de poblaciones empobrecidas, atraídas por proyectos de colonización, minería, construcción de autopistas y vías fluviales (1). Las epidemias de malaria en Rondônia estuvieron históricamente asociadas a los flujos migratorios provocados por los ciclos del caucho, en la segunda mitad del siglo XIX y durante la segunda guerra mundial, cuando se poblaron las áreas del litoral fluvial con el "ejército del caucho". La población ribereña actual es el resultado del mestizaje de nordestinos y aborígenes amazónicos (2). Sin embargo, en los últimos 30 años la población del estado

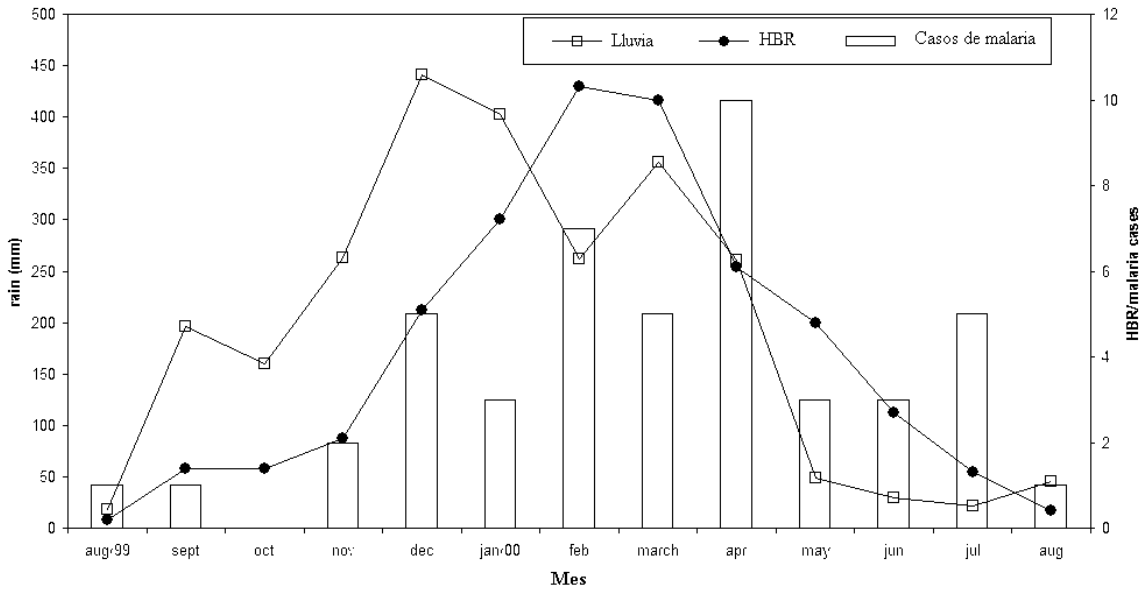
aumentó 10 veces, y actualmente la mayoría de los habitantes en centros urbanos y asentamientos rurales son inmigrantes recientes o sus hijos. Este nuevo flujo migratorio no tenía exposición previa a malaria, constituyéndose en una población no inmune instalada en una región endémica de la enfermedad, sin servicios asistenciales de salud, en condiciones de vivienda precaria, y con abundancia de insectos vectores (el principal *Anopheles darlingi*) (3). En este escenario se observó un aumento continuo y explosivo de malaria en el estado de Rondônia hasta 1988 con 278.408 casos, para declinar luego en forma progresiva, y en 1998 registrar 77.995 casos (Índice Parasitario Anual-IPA 61,1/1.000 habitantes, población estimada 1.276.173 habitantes)

Estudios epidemiológicos realizados a partir de 1990 demostraron que la mayor incidencia ocurría en migrantes, hombres adultos con exposición de riesgo laboral (4,5). No obstante, una investigación en la localidad ribereña de Portuchuelo (figura 1) registró mayor incidencia en menores de 16 años y sospecha de casos asintomáticos, proponiéndose que estas comunidades habían adquirido inmunidad para malaria (6). Estudios posteriores mediante encuestas, seguimiento clínico, diagnóstico microscópico y diagnóstico por PCR anidada (*nested*- PCR), que permitió aumentar la sensibilidad casi en cuatro veces, demostraron la presencia de

adultos asintomáticos con bajas densidades parasitarias, que evolucionaron sin manifestación clínica, caracterizándose así como portadores asintomáticos (7, 8). Los estudios entonces se extendieron a comunidades aisladas del río Machado (o Ji-Paraná), localizadas a 100 a 150 Km. de su desembocadura en el río Madeira (figura 1) donde la transmisión es mayor que en Portuchelo y la infección asintomática llegó al 60% de los adultos. Estudios longitudinales ejecutados por agentes comunitarios entrenados por nuestro equipo en Portuchelo, las capturas de anofelinos (CEPEM), y los registros del equipo de FUNASA (región 5 municipio de Porto Velho) mostraron un patrón estacional de transmisión de malaria en el litoral fluvial, mayor en el período de lluvias de noviembre a abril (figura 2). Este período comienza con la formación de grandes lagunas de hasta 6 m de profundidad, probables criaderos de anofelinos, con el aumento consecuente de abundancia de vectores y registro de casos sintomáticos.

El presente trabajo se propone determinar mediante xenodiagnóstico, infección experimental y competencia vectorial de los insectos así infectados, si los individuos asintomáticos en Portuchelo y Ji-Paraná son potenciales reservorios de la enfermedad, y discutir las consecuencias que dicho resultado puede tener en los programas de control de malaria en la región amazónica

Figura 2. Variación estacional de la transmisión de malaria en Portuchelo



Materiales y métodos

-*Área y población de estudio*: Comunidad de Portuchelo (08°37'44"S, 63°49'28"O) sobre la margen derecha del río Madeira, 34 Km. abajo de la capital Porto Velho. Población aproximada 200 habitantes, la mayoría naturales de la región. Las viviendas se distribuyen 5 Km. a lo largo del río, desde la orilla hasta 3 Km. en de la vegetación, la mayoría son palafitos de madera y paja rodeados de la selva en galería, con aberturas entre las tablas de las paredes. El clima es amazónico con período de lluvias de octubre a abril y estación seca de mayo a setiembre, rango de temperatura de 15ºC a 39ºC y humedad relativa siempre alta. El suelo arcilloso favorece las lagunas de inundación denominadas *igapós*, que permanecen 3 a 4 meses desde las primeras lluvias hasta abril, en la estación seca sólo se conservan con agua los *igarapés* pequeños afluentes del río Madeira. El acceso terrestre por la autopista 28 está restringido en la estación lluviosa, mientras la vía fluvial está abierta todo el año, limitando el área de estudio al sector A (38 familias, 130 habitantes) y sector B accesible sólo por río (8 familias, 60 habitantes).

- *Aspectos éticos*: El proyecto fue aprobado por la Comisión de Ética del Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia (CEPEM), Consejo Regional de Medicina de Rondônia.
- *Infección experimental*:
a) Material entomológico: Los insectos se capturaron con cebo humano (miembros de CEPEM) de 18:00 a 21:00-22:00 hs en Portuchelo y alrededores del municipio de Porto Velho. Se trasladaron al insectario del CEPEM (27±2 ºC y 70±10% HR). Se alimentaron con sangre de codorniz, determinó la especie, y las hembras de *A. darlingi* se separaron individualmente en vasos plásticos con agua mineral, sin alas para inducir oviposición. Los huevos se colocaron en bandejas con agua mineral hasta eclosión, las larvas I recibieron alimento líquido (liquid Small Fry baby fishfood-Wardley^{R}), y los demás estadios alimento para peces finamente triturado (TetraMin). Las pupas se transfirieron a vasos plásticos colocados en jaulas hasta la emergencia del adulto. Luego de la ecdisis se separaron las hembras de la F1 para los experimentos de infección.
b) *Estudio de base para Infección*: este estudio se realizó para evaluar y estandardizar la técnica de infección experimental. A pacientes ambulatorios atendidos en el CEPEM, con diagnóstico microscópico o QBC (*Quantitative Buffy Coat*) de malaria, que aceptaban participar del proyecto, luego de realizada la determinación y cuantificación del parásito se les extrajo ~5 ml de sangre mediante *vacutainer* con heparina. La sangre se transfirió inmediatamente a un alimentador artificial por membrana Hemotek^{R}, precalentado a 37^{o}C (9). En cada recipiente se colocó 1 ml de sangre, y se expuso por 15 minutos a 30 hembras de la F1 previamente ayunadas por 12 hs. Los mosquitos alimentados a repleción fueron mantenidos en el insectario con sacarosa 10% en ayuno sanguíneo hasta su disección el día 7º post-ingesta. La búsqueda de oocistos se realizó en el tracto digestivo removido a 400 X en microscopio óptico. Se calculó la tasa de infección como: Nº insectos infectados/ Nº total de insectos disecados.
c) *Infección Portuchelo. c.1) Primera Fase*: En abril del 2000 en un estudio transversal de toda la comunidad se identificaron 11 adultos asintomáticos (7 por *Plasmodium vivax*, 3 por *P. falciparum* y 1 infección mixta), que no presentaron síntomas hasta junio cuando fueron expuestos a la F1 de *A. darlingi* . Dado que estas infecciones son sólo detectables por PCR, se realizó un xenodiagnóstico directo, más sensible que la infección por membrana (10), aunque la relación entre parasitemia y tasa de infección es discutida (10,11). La modificación fue aceptada por la Comisión de Ética del CEPEM con la condición que las hembras pertenecieran a la F1 de insectos capturados en Portuchelo. Los *A. darlingi* fueron colectados en mayo del 2000 en Portuchuelo y se procedió para su cría como se describe más arriba. Los individuos con infección asintomática, luego del consentimiento informado, fueron expuestos por 15 minutos a 20 hembras de la F1 con 12 horas de ayuno, confinadas en un vaso plástico, en la pantorrilla o la cara anterior del antebrazo según opción del paciente. Posteriormente se colocó una pomada de un antihistamínico (prometazina) en el sitio de las picaduras. Las hembras alimentadas a repleción, se procesaron como en el estudio de base. El material obtenido de la disección se conservó en nitrógeno líquido para ser utilizado en la extracción de ADN - PCR anidada (12,13). En la

estación seca, período de baja transmisión (figura 2), no se realizaron experimentos por no contar con suficiente número de casos sintomáticos o asintomáticos para justificar el mantenimiento del insectario, y las capturas de hasta 12 horas realizadas de agosto a octubre en el sector B produjeron apenas 12 hembras de *A. darlingi*. *c.2) Segunda fase:* Las capturas se reiniciaron en noviembre del 2000 y en enero del 2001 se disponían de 600 hembras F1 de *A. darlingi*. Se invitó a participar a 20 adultos de Portuchelo con infección asintomática previa, que aceptaran voluntariamente y firmaron el consentimiento informado. Se colectó sangre para gota gruesa a partir de punción de pulpejo, y 10 gotas (~200µl) en papel de filtro, de este último ~100µl se utilizaron para la extracción de ADN (método de fenol/cloroformo, precipitación en isopropanol), PCR anidada (12). Los individuos con diagnóstico positivo por PCR se realizó la infección por xenodiagnóstico directo y por membrana, para aumentar la cantidad de insectos alimentados a partir de un mismo individuo. El procedimiento se realizó en el CEPEM de Porto Velho. El xenodiagnóstico indirecto se realizó según se describe en el estudio de base, utilizando 3 vasos (75 hembras) por paciente, el xenodiagnóstico directo y procesado de los mosquitos se realizó como se describe en la primera fase.

d) Grupo control: Individuos sintomáticos con parasitemia elevada. En Portuchelo los casos con estas características eran pocos y menores de 12 años de edad, por ello se utilizaron casos atendidos en el ambulatorio del CEPEM. Luego del consentimiento informado, se le extrajeron ~5 ml de sangre en tubo heparinizado para la infección por membrana según se describe en el estudio de base, y con una alícuota se realizó gota gruesa, conteo de leucocitos en Cámara de Neubauer, conteo inmediato de formas asexuales de parásito y de gametocitos por 200 leucocitos, e identificación de especie de *Plasmodium sp*. a partir de frotis.

Resultados

Estudio de base: 7 pacientes con infección por *P. vivax*, 3 por *P. falciparum*, parasitemias cuantificadas en < +/2 a 4 +. De los 115 mosquitos expuestos, la sangre de 5/10 pacientes (50%) infectó un total de 8 hembras que presentaron una media de 1,6 oocistos cada una, resultando en una tasa de infección de 6,9%. En base a esta baja tasa de infección se optó por realizar el xenodiagnóstico directo de asintomáticos.

Infección Portuchelo, primera fase: 7 individuos con infección asintomática por *P. vivax*, 3 por *P. falciparum* y 1 mixta, diagnosticados por PCR (diagnóstico microscópico negativo). De los 220 mosquitos expuestos, sobrevivieron 113 hasta el 7º día, observándose 1 oocisto en un mosquito alimentado sobre un individuo infectado por *P. vivax*, tasa de infección 0,88%. El PCR realizado sobre 54 tractos digestivos (São Paulo) confirmó un único mosquito infectado por P. vivax.

Infección Portuchelo, segunda fase: 4/20 individuos fueron diagnosticados con infección asintomática por *P. vivax*. De 94 mosquitos alimentados a repleción por xenodiagnóstico directo 58 sobrevivieron hasta el 7º día. Se observó un mosquito infectado con un oocisto, tasa de infección 1,7%. De los 178 mosquitos alimentados con membrana sobrevivieron 123, no observándose infección en ninguno.

Grupo control: 16 individuos con infección sintomática por *P. vivax* y 1 por *P. falciparum*. La parasitemia de formas asexuales varió de 1.803 a 12.260/µl, y el conteo de gametocitos de 0 a 537/µl. De los 17 individuos 8 infectaron insectos (47%). De 250 mosquitos alimentados, 114 sobrevivieron hasta la disección, de los cuales 31 resultaron infectados con 1-88 oocistos por tracto digestivo (media 19,5 oocistos/mosquito), tasa de infección 22%.Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de mosquitos alimentados, disecados, e infectados en diferentes grupos experimentales

	N alimentados	N disecados	N infectados	Tasa infección	de oocisto/tracto igestivo*
Asx Directo	94	58	1	1,7%	1
Asx Membrana	178	123	0	0	0
Sx Membrana	250	141	31	22%	19,5

Asx= individuos con infección asintomática
Sx= pacientes con infección sintomática
* media de conteo de oocistos por tracto digestivo infectado

Discusión

La epidemia de malaria que se inició en la década de 1970 en el estado de Rondônia, con la llegada de inmigrantes no inmunes, focalizó la atención hacia los nuevos asentamientos rurales y urbanos. En esta área el perfil epidemiológico característico resultó así en una mayor incidencia en adultos masculinos con riesgo laboral de exposición, sin infección asintomática, y predominio de transmisión extradomiciliario durante la estación seca. Este patrón se extrapoló entonces a todo el estado.

Sin embargo, las comunidades del litoral fluvial están conformadas por el mestizaje de aborígenes y nordestinos llegados para la explotación del caucho hasta mediados del siglo XX. En consecuencia presentan un perfil epidemiológico diferente al resto del estado con mayor incidencia sintomática en niños y adolescentes, infecciones asintomáticas en adultos, exposición de riesgo semejante en todos los grupos etarios y mayor incidencia en la estación lluviosa. Los infectados asintomáticos, con parasitemia apenas detectable por PCR, podrían actuar como reservorios por largos períodos. Para definir este riesgo potencial de infectividad se realizaron xenodiagnósticos directos e indirectos, y los resultados se compararon con individuos sintomáticos de alta parasitemia.

En los primeros ensayos realizados con individuos asintomáticos se obtuvo una tasa de infección de apenas el 0,88%. Lamentablemente entre el diagnóstico del individuo y el xenodiagnóstico existió un intervalo de 2 meses. Por ello se puede suponer que al momento del ensayo un 40% de estos individuos ya no portaban la infección, basándose en investigaciones longitudinales previas realizadas en Portuchelo, que habían demostrado negativización de la parasitemia y del PCR en el tiempo. En la segunda fase, con 5 días de intervalo entre el diagnóstico y xenodiagnóstico, la tasa de infección obtenida resultó de 1,7%. En esta fase no se logró infección mediante el alimentador de membrana, método que sería menos sensible ante individuos con baja parasitemia, aunque alcanzó tasas de infección del 22% a partir de sangre de casos sintomáticos con parasitemia entre 1.803 y 12.260/µl. Tasa semejante esta última al 27,5 a 30% de infección descrito para *A. darlingi* en el área (14).

Se observó una gran variabilidad de infectividad, sangre con parasitemia asexual no infectó a ningún mosquito, mientras otra infectó a todos los insectos alimentados produciendo 12 a 88 oocistos por tracto digestivo, y sangre de un tercer individuo solamente infectó a un *Anopheles* del lote con 1 a 3 oocistos. Aparentemente existe una relación entre bajo conteo de gametocitos y menor infectividad, pero el número de ensayos realizados no permite hacer inferencias estadísticas, y en la literatura existe controversia sobre esta asociación (10,11). Se han propuesto otros factores que también pueden tener influencia en la tasa de infección como ser los anticuerpos presentes en el suero, la edad de los gametocitos, diferencias en el tiempo de digestión y cantidad de sangre (15).

A partir de los datos obtenidos se estimó la magnitud del papel epidemiológico que pueden tener los individuos asintomáticos. En Portuchelo durante el período de alta transmisión, basándose en las capturas realizadas por el equipo de Entomología, cada persona recibe el siguiente número promedio de picaduras: sector A - peridomicilio 10/hora, intradomicilio 1,75/hora; sector B - peridomicilio 25/hora, intradomicilio 6,5/hora. Considerando que en estas comunidades se retiran al intradomicilio entre las 20:00 y 21:00hs cada individuo recibe: sector A - (10x3hs) + (1,75x9hs)= 46 picaduras/noche; sector B - (25x3hs) + (6,5x9hs)= 133,5 picaduras/noche. Y si un individuo con infección asintomática permanece infectivo al menos por un mes, con una tasa de infección de 1,7%, el número de mosquitos infectados en un mes sería: sector A – 1.380 picaduras, 24 mosquitos infectados; sector B – 4.005 picaduras, 68 mosquitos infectados.

Una estimación similar para los casos con infección sintomática, período de infectividad de 5 días (tiempo entre inicio de síntomas y tratamiento) y tasa de infección de 22% resulta en: sector A – 46x5 = 230 picaduras – 50 mosquitos infectados; sector B – 133,5x5= 667,5 picaduras – 147 mosquitos infectados. La tasa a partir de casos sintomáticos fue calculada con alimentador por membrana y la de asintomáticos con xenodiagnóstico, este último método sería 50% más eficiente que el indirecto (10), por lo que un individuo sintomático en 5 días tendría una capacidad de infección aproximadamente 4 veces la de un asintomático en un mes.

Dado que el 21% de los habitantes de Portuchelo presenta infección asintomática en el período de alta transmisión, estos resultan una fuente considerable de parásitos

para el vector. De esta manera la población asintomática genera un tamaño de reservorio suficiente para mantener la transmisión en la comunidad, aunque se reduzca el tiempo de infectividad de sintomáticos mejorando la eficiencia de su diagnóstico y tratamiento. Si extrapolamos esta estimación para una región de alta transmisión como Ji-Paraná, con prevalencia de infección asintomática del 43%, y un mayor número de picaduras/hombre/noche, el potencial de infección del reservorio asintomático se torna aún más importante.

Las estrategias empleadas actualmente para el control de la malaria en la región amazónica actúan principalmente sobre el diagnóstico y tratamiento de casos, detectados por búsqueda pasiva, en la red de laboratorios del FUNASA y municipios, y mediante el rociado con insecticidas. No se contempla ninguna medida sobre los individuos con infección asintomática. Los resultados presentados aquí, que indican el papel relevante en la transmisión de este grupo, sugieren la revisión de las estrategias de control. La misma debería hacerse por un grupo multidisciplinario que pueda alcanzar un consenso sobre la estrategia más adecuada para actuar sobre los portadores asintomáticos. Algunas de las cuestiones a resolver serían: ¿Tratamiento de individuos que viven en el litoral fluvial?, ¿qué grupos etarios?, ¿tratar a los que presentan infección o realizar toma en papel de filtro-PCR a miles de ribereños?, ¿costo beneficio de estas acciones en zonas con diferente incidencia?, ¿la incidencia de malaria es un indicador para definir la acción más adecuada en cada área?, ¿las posibles recaídas de *P. vivax* serían suficientes para reiniciar el ciclo o reestablecer los reservorios?

Estas cuestiones deberán ser resueltas en la medida que al discutir el tema "individuos con infección asintomática de malaria como reservorios de enfermedad en la región amazónica", estamos discutiendo las soluciones para uno de los factores que componen un problema mayor, el del control de la malaria en la zona amazónica.

Referencias

1. Marques AC, Pinheiro EA. Fluxos de casos de malária no Brasil em 1980. Rev Bras Malariol 34, 1982: 1-31.
2. Pinto, Emanoel Pontes. Rondônia, Evolução Histórica. A criação do território do Guaporé, fator de integração nacional. Ed. Expressão e Cultura, 1993.
3. Marques AC. Human migration and the spread of malaria in Brasil. Parasitology Today 3, 1987: 166-170.
4. Camargo LMA, Ferreira UM, Krieger H, Camargo EP, da Silva LHP. Unstable hypoendemic malaria in Rondonia (western Amazon region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. Am J Trop Med Hyg 51, 1994: 16-25.
5. Camargo LMA, Dal Colletto GMD, Ferreira UM, Gurgel SM, Escobar AL, Marques A, Krieger H, Camargo EP, da Silva LHP. Hypoendemic malaria in Rondonia (Brazil, western Amazon region): seasonal variation and risk groups in an urban locality. Am J Trop Med Hyg 55, 1996: 32-38.
6. Camargo LMA, Noronha E, Salcedo JMV, Dutra AP, Krieger H, da Silva LHP, Camargo EP.The epidemiology of malaria in Rondonia (western Amazonian region, Brazil): study of a riverine population. Acta Tropica 72, 199: 1-11.
7. Camargo EP, Alves FP, Pereira da Silva LH. Symptomless *Plasmodium vivax* infections in native Amazonians. The Lancet 353(9162), 1999: 1415-1416.

8. Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Pereira da Silva LH, Camargo EP. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am J Trop Med Hyg* 66, 2002: 641-648.
9. Rutledge LC, Ward RA, Gould DJ. Studies on the feeding response of mosquitoes to infective solutions in a new membrane feeder. Mosquito news 24, 1964: 407-419.
10. Bonnet S, Gouagna C, Safeukui I, Meunier JY, Boudin C. (2000). Comparison of artificial membrane feeding with direct skin feeding to estimate infectiousness of *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers to mosquitoes. Trans R Soc Trop Med Hyg 94, 2000: 103-106.
11. Drakeley CJ, Secka I, Correa S, Greenwood BM, Targett GAT. Host haematological factors influencing the transmission of *Plasmodium falciparum* gametocytes to *Anopheles gambiae* s.s. mosquitoes. Trop Med Int Health 4, 1999: 131-138.
12. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, Rosario VE, Thaithong S, Brown KN. High sensitivity of detection of human malaria parasites by use of nested polymerase chain reaction. Mol Biochem Parasitol 61, 1993: 315-320.
13. Snounou G. Detection and Identification of the four malaria parasites species infecting humans by PCR amplification. Methods in Molecular Biology, vol.50: Species Diagnostics Protocols: PCR and other nucleic acids methods. Cap. 20: 263-291, 1996.
14. Marrelli MT, Honório NA, Flores-Mendonza C, Lourenço-de-Oliveira R, Marinotti O, Kloetzel JK. Comparative susceptibility of two members of the *Anopheles oswaldoi* complex, *An. oswaldoi* and *An. konderi*, to infection by *Plasmodium vivax*. Trans R Soc Trop Med Hyg 93, 1999: 381-384.
15. Mulder B, Tchuinkam T, Dechering K, Verhave J., Carnevale P, Meuwissen JHETh, Robert V. Malaria transmission-blocking activity in experimental infections of *Anopheles gambiae* from naturally infected *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers. Trans R Soc Trop Med Hyg 88, 1994: 121-125.

La importancia del tiempo de desactivación de áreas de excavaciones auríferas (*garimpos*), en zonas endémicas de malaria, para el mantenimiento de la transmisión en el estado de Mato Grosso, Brasil

Ana Lúcia María Ribeiro, Universidade Federal de Mato Grosso

Resumen: *Se exploró la asociación entre el tiempo de abandono de las excavaciones auríferas, y el proceso de colonización de estas por larvas de anofelinos en Peixoto de Azevedo y Matupá, Mato Grosso, Brasil. Se determinaron los factores físico-químicos, botánicos y de entomofauna asociados a la presencia y abundancia de vectores de malaria. Fueron visitadas 18 áreas de explotación desactivadas tomándose muestras de 74 excavaciones en el período lluvioso (87,8% positivo para larvas de anofelinos) y 60 durante el período seco (86,7% positivo). Se encontraron larvas de* Anopheles albitarsis *(l.s.),* A. darlingi*, grupo* galvaoi, A. nuneztovari, A. strodei, A. triannulatus (l.s.) y A. evansae.*El 17,33% de las excavaciones fueron positivas para* Anopheles darlingi*, algunas sin macrofitas acuáticas y poca sombra, con larvas junto a detritos, a una distancia mínima de 8 km de los centros urbanos.* Anopheles albitarsis *fue la especie más frecuente y abundante en todas las excavaciones de distintas edades de abandono, independiente de la distancias a la ciudad. Se encontraron 118 especies de plantas superiores y 83 géneros de algas. Se concluye que las áreas de excavaciones auríferas desactivadas proporcionan una mayor disponibilidad de sitios de cría de mosquitos, especialmente anofelinos. El tiempo de abandono de las excavaciones en la región de Peixoto de Azevedo y Matupá no influyó la distribución de especies de anofelinos y la sucesión biológica fue rápida. La población urbana aún se encuentra protegida de la transmisión por* A. darlingi *pero la presencia de vectores secundarios en la proximidad de las ciudades requiere la vigilancia de brotes ante una eventual adaptación del ciclo parasitario.*

Palabras clave: Malaria, *Anopheles*, criaderos, excavaciones, garimpos, Brasil.

Introducción

La "Marcha hacia el Oeste" en 1937, la "Expedición Roncador-Xingu" en 1943, y "Plan de Integración Nacional" (PIN) de1970, han sido parte de las políticas de ocupación y seguridad de las dictaduras militares en el Brasil (1). El PIN preveía asentar 100.000 personas hasta 1970 a lo largo de la ruta Transamazónica y Br 163 entre Cuibá y Santarém. A fin de 1979 la empresa colonizadora INDECO expulsó a 15000 trabajadores de las excavaciones auríferas (*garimpeiros*), que se fueron a ciudades de Pará, a la hacienda Cachimbo, o áreas sin pastizales bajo control de la empresa. Otros se instalaron en el río Río Peixoto de Azevedo (km 688), donde la colonizadora Coopercana permitió su permanencia, y en 1980 contaba con 4000 personas distribuidas a lo largo de los riachos, modificando intensamente el paisaje con sus maquinarias y prácticas(1).

El oro, especialmente a partir de la década de 1980, condujo así el avance de la frontera amazónica superpuesto al frente agrícola, produciendo un desequilibrio ecológico que favoreció la diseminación de enfermedades, especialmente la malaria (2). En este sentido la región amazónica notifica el 99% de los casos de malaria Brasil (3), país en el que se produjo el 52% de los casos del mundo en 1989, 82% de los cuales eran de estado productores de oro (4). Mato Grosso posee 126 municipios,10% en áreas de "alto riesgo" para la transmisión de malaria, y 52,6% de sus casos de malaria ocurridos en áreas de explotación aurífera (*garimpos)* (5). En 1995 el Índice Parasitario Anual (IPA) de Peixoto de Azevedo fue 292,8 $^{0}/_{00}$ habitantes y de Matupá 519,5 $^{0}/_{00}$ (6). Analizando la serie histórica de IPA de Mato Grosso se observa que a partir de una tendencia en aumento hasta 1992 con 94,1$^{0}/_{00}$ habitantes en 1992, hubo un descenso continuado (1993: 59,5$^{0}/_{00}$, 1994: 44,0 $^{0}/_{00}$, 1995: 25,5$^{0}/_{00}$) (6). Esta disminución se debió a la implementación de medidas alternativas de control, la participación comunitaria, pero también a una caída importante de la actividad minera. La producción de oro, una de las actividades principales entre 1980 y 1990 disminuyó en la región observándose una asociación directa positiva entre la explotación del oro y la malaria (7)

En la región amazónica *Anopheles darlingi* es considerado el vector primario de la malaria, con varias especies como vectores secundarios (8). Las excavaciones utilizadas para extraer oro y luego abandonadas forman lagunas de lluvia, pero la potencialidad de estas como criaderos de anofelinos no ha sido demostrada. Se ha argumentado que la colonización de estos acuíferos por *Anopheles* está relacionada al tiempo de abandono y posibilidad de cambios ambientales en su entorno, como el crecimiento de vegetación y estabilización de factores físico-químicos del agua. El conocimiento de la dinámica poblacional de las larvas de anofelinos a su vez, es un componente importante dentro del estudio de la ecología del género, favoreciendo el diseño de acciones de control efectivas (estimación de densidad larval, variación en tiempo y espacio) (8,9).

Por ello, en este estudio se propone explorar la asociación entre el tiempo de abandono de las excavaciones auríferas, y el proceso de colonización de estas por larvas de anofelinos en Peixoto de Azevedo y Matupá, identificando factores físico-químicos, botánicos y de entomofauna asociados a la presencia y abundancia de vectores de malaria.

Materiales y métodos

Área de estudio- Matupá (10°10'02" S, 54°55'46" O), 11325 habitantes, en el cruce de rutas BR 163 y 80 a 665 km de Cuiabá. *Peixoto de Azevedo* (10°14'51"-10°14'30" S 54°59'10"-54°59'11" O), 29379 habitantes, a 661 Km de Cuiabá ((IBGE/96, 10) (Figura 1) La región pertenece a la Floresta Abierta Tropical (*Floresta Ombrófila*

Aberta Tropical) y Floresta submontana con palmeras *cipós* (RADAM BRASIL, 1980). Desde el punto de vista geológico y geomorfológico los municipios se encuentran dentro del Complejo Xingu, en la Depresión Interplanáltica de la Amazonia Meridional. Las temperaturas medias anuales oscilan entre 23ºC y 25°C, con el período lluvioso en octubre-marzo (80% de la precipitación anual, 2000-2500 mm), y una temporada seca con medias y mínimas más bajas. La región posee una importante red hidrográfica que drena en los ríos Juruena y Teles Pires, que confluyen en el Tapajós (afluente del Amazonas).

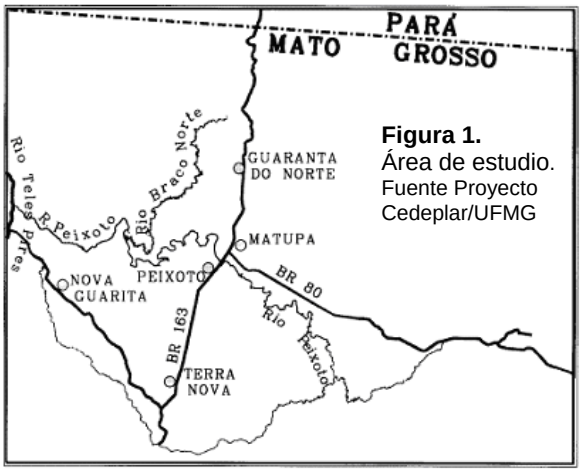


Figura 1. Área de estudio. Fuente Proyecto Cedeplar/UFMG

Excavaciones auríferas desactivadas-Se las definió como aquellas donde se desarrollaron actividades minerales extractivas mediante maquinaria, con un abandono ≥ 24 meses (según informantes locales) y no existían actividades de extracción al momento de la visita del equipo de campo, cuando se realizó un croquis de las mismas y las georreferenció. Criterios de exclusión: proximidad a cursos de agua o su influencia directa, dificultad de acceso, tiempo de abandono < 24 meses, reactivación durante el período de estudio. Se establecieron 5 categorías según años de abandono (*número de excavaciones*): 2,1-4 (*17*); 4,1-6 (*80*); 6,1-8 (*38*); 8,1-10 (*36*); > 10 (*13*). La unidad de análisis fue la excavación, certificando la independencia entre las vecinas al realizar un análisis estratificado de área de excavaciones (*garimpo*) y excavación; si dos o más excavaciones estaban ligadas por un canal se consideraron como una unidad. Para el tamaño de la muestra se asumió una positividad general de larvas de anfelinos de 50% (30% en >4 años, 70% ≥ 4 años), y una relación <4/≥ 4 años de 3/1, α 5% y poder 80%, lo que resultó en un n=72 excavaciones, aumentado a 77 por eventual pérdida. Se realizó un muestreo probabilístico sistemático donde la primera excavación a ser incluida fue sorteada y a partir de allí se seleccionaron en intervalos de 2,4 (184/77) excavaciones, para obtener un muestreo proporcional al tamaño de cada categoría según años de abandono (*número de excavaciones*): 2,1-4 (*7*); 4,1-6 (*33*) ; 6,1-8 (*16*); 8,1-10 (*15*); > 10 (*6*). Las localidades con excavaciones sorteadas fueron: Peixoto de Azevedo: Dona Raimunda, Garimpo Buriti, Garimpo aboboreira, Garimpo Vizagem (grota seca), Grota do Gaúcho, Biaxão Novo Pepita II, Segredinho y Bela Vista. Matupá: Garimpo Sargento, Filão do Aeroporto, Santa Luzia, Fazenda São José-Serrinha/Barro Preto/Buriti II/Grota Rica/ Grota do Papelão.

Muestras - Estación lluviosa-bajante (abril/junio 1997), estación seca-estiaje (septiembre 1997). Según la forma de las márgenes se caracterizaron las

excavaciones como realizadas con "agua a presión" o "maquinaria" pesada (11). El área con sombra fue determinada visualmente, los detritos se observaron en la vegetación flotante en el borde de las excavaciones, y la profundidad a un metro del mismo. La vegetación acuática se clasificó como emergente, flotante y sumergida (12). Basado en estudio piloto se estimó una media de 3,22 larvas por cucharón (var 12,85, DE 3,58), así 60 cucharones (450ml, cabo 1,20 m)/excavación permiten estimar 2,32-4,14 larvas con un IC 95% (13). Se determinó la especie de las larvas a partir de estadio III según clave (14). Los insectos no anofelinos se determinaron en el Departamento de Entomología de la UFMT según claves (15,16). El material se depositó en el Núcleo de Entomología da FUNASA/CRMT Se tomaron muestras de agua para analizar pH, O_2 CO_2, nitratos, fosfatos, sílica, dureza total, dureza de calcio, sulfito, nitrógeno, alcalinidad e cloruros (17). El fitoplancton y perifiton fue recolectado con red de 38µm, se conservó en solución de Transeau 6:3:1 en proporción 1:1 con agua del sitio, determinándose según bibliografía (18-31). Las macrofitas acuáticas y vegetales superiores terrestres fueron determinados según claves. El material se depositó en la UFMT.

Resultados

Fueron visitados 18 áreas de explotación (*garimpos*) desactivados (Matupá 8, Peixoto de Azevedo 10), con 148 excavaciones de diferente edad, tomándose muestras de 74 en el período lluvioso. De los sitios muestreados 87,8% resultó positivo para larvas de anofelinos. En el estiaje 22,7% de las excavaciones estaba seca, y se tomó muestra de 60 de ellas, con una positividad de 86,7%. La positividad varió según los estratos de abandono. La media de larvas de *Anopheles* muestra un incremento en el período lluvioso con una caída en la clase de abandono de 8,1 a 10 años, y ningún patrón en el estiaje (tabla 1)

Tabla 1. Número de larvas de *Anopheles* (media), según tiempo de abandono (años), en excavaciones de auríferos desactivados , Peixoto de Azevedo y Matupá/MT 1997.

Tiempo abandono	Lluviosos	Estiaje
2,1 – 4	8,0	20,8
4,1 – 6	20,5	19,0
6,1 – 8	25,6	10,2
8,1 – 10	13,1	23,5
+ de 10,1	44,0	3,7
Total	20,8	17,6

Fueron identificadas siete especies de *Anopheles*. Período lluvioso: *A. albitarsis (l.s.)* Lynch-Arribálzaga, 1878. *A. darlingi* Root, 1926, grupo *galvaoi, A. nuneztovari* Galbadon, 1926, *A. strodei* Root, 1926, *A. triannulatus (l.s.)* Neiva & Pinto, 1922. Estiaje: las citadas excepto *A. nuneztovari* y se adiciona *A. evansae* Brethes, 1926 Galbadon. Las medias por especie y período se muestran en la tabla 2: *A. albitarsis* fue la dominante en casi todas las categorías de abandono, en ambos períodos, tuvo

una tendencia creciente según años de abandono cayendo en la categoría 8,1-10 años en bajante y 6,1-8 y >10 años en estiaje, en esta última resultó más abundante *A. albitarsis.*

Tabla 2. Abundancia (Abun) y media del número de larvas de *Anopheles* por categorías de abandono, colectadas en las excavaciones auríferas desactivadas, en bajante y estiaje. Peixoto de Azevedo yMatupá/MT, 1997

LLUVIOSO												
Abandono	*A. albitarsis*		*A. strodei*		*A. darlingi*		*A. triannulatus*		*Grupo galvaoi*		*A. nunestovari*	
	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media
2,1 – 4	19	2,71	16	2,29	1	0,14	0	0,00	1	0,14	0	0,00
4,1 – 6	171	5,70	78	2,60	12	0,40	6	0,7	0	0,00	1	0,03
6,1 – 8	100	6,25	25	1,56	3	0,19	9	0,56	0	0,00	0	0,00
8,1 – 10	77	5,13	23	1,53	4	0,27	1	0,07	0	0,00	1	0,07
+ 10,1	50	8,50	26	4,33	17	2,83	10	1,67	6	1,00	0	0,00
Total	418	5,65	168	2,27	37	0,50	46	0,62	7	0,09	2	0,02
ESTIAJE												
Abandono	*A. albitarsis*		*A. strodei*		*A. darlingi*		*A. triannulatus*		*Grupo galvaoi*		*A. evansae*	
	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media	Abun	media
2,1 – 4	3	0,60	0	0,00	30	6,00	0	0,00	2	0,40	0	0,00
4,1 – 6	207	7,70	5	0,20	0	0,00	7	0,30	15	0,50	1	0,04
6,1 – 8	74	6,20	9	0,80	0	0,00	1	0,10	1	0,10	0	0,00
8,1 – 10	135	10,40	27	2,10	9	0,70	10	0,80	2	0,20	0	0,00
+ 10,1	0	0,00	0	0,00	11	3,70	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	419	6,90	41	0,69	50	0,83	18	0,30	20	0,33	1	0,02

La caracterización de las excavaciones se muestra en la tabla 3, y la sombra y tipo de vegetación en la tabla 4.

Tabla 3. Caracterización según método, transparencia del agua y presencia de detritos en las excavaciones auríferos desactivados, Peixoto de Azevedo y Matupá/MT, 1997

Abandono	Excavación		Naturaleza del agua		Detritos	
	Agua a presión	Máquina	Límpida	Turbia	Presencia	Ausencia
2,1 – 4	2	5	4	3	6	1
4,1 – 6	21	10	22	9	28	3
6,1 – 8	10	6	10	6	14	2
8,1 – 10	13	2	12	3	13	2
+ 10,1	0	6	6	0	5	1
Total	46	29	54	21	66	9
%	60%	40%	72%	28%	88%	12%

Tabla 4. Caracterización según sombra (% cubierto) y vegetación de las excavaciones auríferas desactivadas, Peixoto de Azevedo y Matupá/MT, 1997

Abandono	Sombra			Plantas emergentes		Plantas flotantes		Plantas sumergidas	
	0-25	25-50	50-75	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
2,1 – 4	5	1	0	6	1	0	7	0	7
4,1 – 6	27	4	1	28	3	3	28	0	31
6,1 – 8	11	5	0	13	3	4	12	1	15
8,1 – 10	14	1	0	15	0	1	14	0	15
+ 10,1	4	2	0	1	5	1	5	6	0
Total	61	13	1	63	12	9	66	7	68
%	81,3	17,3	1,4	84	16	12	88	9,3	90,3

La temperatura acuática presentó poca variación en relación a la temperatura del ambiente, el pH mostró tendencia a valores neutros, el oxígeno disuelto a la disminución y el CO_2 fue variable, con pocos nutrientes y minerales disueltos (Tab 5).

Tabla 5. Variables limnológicas en excavaciones auríferas desactivadas, Peixoto de Azevedo y Matupá/MT, 1997

Abandono		*Temp. agua °C*	*Temp. ambiente °C*	*pH*	*O_2 ppm*	*CO_2 ppm*	*Sílica ppm*	*Dureza agua ppm*	*Dureza calcio ppm*	*Cloruros ppm*
	Media	28,86	29,04	6,14	7,06	11,43	6,86	29,43	24,86	32,00
2,1 – 4	DE	1,21	1,52	0,38	0,59	9,69	,86	7,55	8,78	8,00
	Amplitud	27-31	27-31,3	6 a 7	6-7,8	3-25	a 8	20-36	14-40	16-40
	Media	26,63	26,29	6,03	6,95	8,77	4,84	31,55	20,32	32,06
4,1 – 6	DE	2,56	2,53	0,18	1,16	5,24	2,54	8,43	5,19	7,03
	Amplitud	21-31	21-31,2	6 a 7	4-8,6	4 a 20	a 10	20-40	12 a 26	20-40
	Media	27,50	27,15	6,00	6,39	8,25	6,43	28,69	27,88	25,88
6,1 – 8	DE	1,97	1,74	0,00	1,35	4,97	2,59	8,84	10,24	8,01
	Amplitud	21-29	22,2-29	6 a 6	4,2-8,8	4 a 10	ald-10	12 a 40	8 a 40	20-40
	Media	27,87	30,72	6,03	6,23	9,00	6,80	32,00	16,80	24,53
8,1 – 10	DE	1,13	2,04	0,23	1,40	5,52	,86	12,19	2,70	7,23
	Amplitud	25-29	26-32,7	5,5-6,5	3-7,4	3 a 15	a 8	16 a 68	12 a 20	16-36
	Media	28,50	30,53	6,50	5,87	8,17	,17	34,67	27,33	22,33
+ 10,1	DE	1,22	0,73	0,55	1,54	4,22	2,99	7,23	7,34	8,62
	Amplitud	26-29	29,6-31,2	6-7	3,2-7,2	3 a 15	a 10	20-38	16-32	16 a 20

ald = abajo límite de detección

La entomofauna en las excavaciones desactivadas fue bastante diversificada (Tabla 6). Analizando la composición de taxiones la estructura de las comunidades varió poco en relación al tiempo de abandono. Además de insectos acuáticos se encontraron otros invertebrados: *Crustácea (Copepoda, Malacostraca), Arachnidae (Acari y Aranae), Annelidae (Oligochaeta)* y *Molusca (Bivalva)* y algunos insectos terrestres: *Formicidae (Hymenoptera)* y *Homoptera.*

Tabla 6. Número de individuos y porcentaje de órdenes y familias de entomofauna acuática en excavaciones auríferos desactivadas, Peixoto de Azevedo y Matupá/MT, 1997

		Lluvioso		**Estiaje**	
Orden	***Género***	**nº**	**%**	**nº**	**%**
Díptera	*Ceratopogonidae*	593	4,39	385	7,39
	Chironomidae	6528	48,28	1970	37,78
	Culicidae	2300	20,21	21054	20,21
	Stratiomyidae,	1	0,01	2	0,04
	Tipulidae	0	0,00	2	0,04
Hemíptera	*Belostomatidae*	110	0,81	47	0,90
	Corixidae	212	1,57	54	1,04
	Gerridae	15	0,11	52	1,00
	Hebridae	0	0,00	4	0,08
	Hydrometridae	8	0,06	0	0,00
	Mesoveliidae	46	0,34	5	0,48
	Naucoridae	7	0,05	5	0,10
	Nepidae	7	0,05	7	0,13
	Notonectidae	226	1,67	318	6,10
	Pleiade	47	0,35	103	1,98
	Veliidae	299	2,12	239	4,58
Coleoptera	*Curculionidae*	0	0,00	2	0,04
	Dytiscidae	567	4,00	260	4,99
	Elmidae	2	0,01	0	0,00
	Gyrinidae	6	0,04	0	0,00
	Hydrophilidae	209	1.55	92	1,76
	Scirtidae	107	0,79	18	0,35
Ephemeroptera	*Baetidae*	265	1,96	172	3,30
	Caenidae,	509	3,76	87	1,67
	Polymitarcyidae	198	1,46	0	0,00
Orthoptera	*Acrididae*	0	0,00	1	0,02
	Gryllotalpidae	0	0,00	1	0,02
Odonata	*Aeshnidae*	30	0,22	0	0,00
	Coenagrionidae	385	2,85	0	0,00
	Libellulidae	454	3,36	-	-
	Protoneuridae	154	1,14	-	-
	No determinada	-	-	300	5,75
Tricoptera	*Hydroptilidae*	199	1,47	14	0,27
	Hydropsychidae	3	0,02	0	0,00
Total		13520	100	5214	100

Excavaciones con 2,1-4 años de abandono presentan un gran diversidad de insectos, principalmente el criadero 2 con gran cantidad de materia orgánica, en las de 4,1-6 años hubo dominancia de culicídeos con presencia importante de *A. darlingi*, en las de 6,1-8 años *Chironomidae* fue la familia mejor representada con presencia de *A. darlingi*, de 8,1-10 años predominaron tanto *Culicidae* (especialmente criadero 1265 pero sin *Anopheles*) como *Chironomidae.* El orden *Tricoptera* no se encontró en criaderos de 2,1-4 años ni en > 10 años.

Se inventariaron a partir de las 74 muestras de las 14 localidades 32 familias y 65 géneros de ficoflora (tabla 7)

Tabla 7. Fitoplancton encontrado en excavaciones auríferas desactivadas, Peixoto de Azevedo y Matupá/MT, 1

BACILLARIO PHYTA	*Coelastreceae*	*Staurastrum*	*Gloeocystis*	*Gloecocapsa*	EUGLENOPHYTA
Naviculaceae	*Ankistrodermus*	*Staurodesmus*	Scenedesmaceae	*Gloeothece*	Euglenaceae
Brebissonia	*Closteriopsis*	*Teilingia*	*Scenedesmus*	*Merismopedia*	*Euglena*
Frustulia	*Coelastrum*	*Tetmemorus*	Treubariaceae	Chloococaceae	*Phacus*
Gonphonema	*Monoraphidium*	Gomatozygaceae	*Treubaria*	*Microcystis*	*Strombomonas*
Navicula	Closteriaceae	*Gonatozygon*	Ulothricaceae	*Synechocystis*	*Trachelomonas*
Pinnularia	*Closterium*	Hydrodictyaceae	*Ulothrix*	Nostocaceae	Peranemaceae
Stauronectis	Desmidaceae	*Pediastrum*	Ulvaceae	*Anabaena*	*Entosiphon*
Nitzchiaceae	*Actinotaenium*	Mesotaeniaceae	*Enteromorpha*	Scytonema	RHODOPHYTA
Gomponitzschia	*Arthrodesmus*	*Cylindrocystis*	*Schizomeris*	*Spirulina*	Batrachospermaceae
Surirellaceae	*Bambusina*	*Netrium*	Volvocacaeae	Oscillatoriaceae	*Batrachospermum*
Suricella	*Cosmarium*	Oocystaceae	*Volvulina*	*Oscillatoria*	Hildebrandiaceae
Thalassiosiraceae	*Desmidium*	*Oocystis*	*Zygnemacea*	Stigonemataceae	*Hildebrantdia*
Stephanodiscus	*Euastrum*	Oedogoniaceae	*Spirogyra*	*Albrightia*	XANTOPHYTA
CHLOROPHYTA	*Micrasterias*	*Bulbochaete*	CYANOPHYTA	DINOPHYTA	Tribonemataceae
Botryococcaceae	*Pleurotaenium*	*Oedogonium*	Chroococcaceae	Peniaceae	*Bumilleria*
Botryoccocus	*Penium*	Radiococcaceae	*Chroococcus*	*Peridinum*	

La flora de vegetales superiores en su gran mayoría es de especies de amplia distribución geográfica. Se determinaron ejemplares pertenecientes a 62 familias, 118 especies. *Andropogon bicornis* L. fue la más común, encontrada en casi todas las excavaciones. *Trema micrantha* (L) Engler, *Cecropia pachystachya* Cecr., *Ludwigia suffruticosa* (L) Hara in Journ se destacan entre las especies más frecuentes. Las familias que presentaron mayor número de especies fueron Cyperaceae, Compositae, Graminaea y Leguminosae principalmente Leguminosae Papillonoideae.

De las 74 excavaciones muestreadas 13 resultaron criaderos de *A. darlingi*, todos situados a más de 8 Km de las áreas urbanas. La mayoría de los criaderos de esta especie fue excavado mediante agua a presión (*bico de jato*), el tamaño varió entre < 150m a >300 m de diámetro y solamente uno de ellos no estuvo asociado con otras especies de *Anopheles*, encontrándose usualmente junto a *A. albitarsis*. Los criaderos de *A. darlingi* se caracterizaron en general por tener detritos vegetales (75%), plantas emergentes (25%), sin plantas flotantes (92%) y sin plantas sumergidas (100%), con una superficie de sombra < 50%. En el criadero Nº 20, con una edad de abandono de 4,1-6 años, de gran diversidad, la flora dominante fue *A. bicornis* (40%) seguida de la especie acuática *T. micrantha* (30%), y detritos (troncos, raíces y hojas) recién encontradas en el segundo muestreo. El criadero Nº 179, edad > 10 años, *A. bicornis* representó el 40%, la *Mimosa pellita* sólo con 6 individuos y raíces bajo el agua favoreció el sombreado. De los 32 géneros de algas presentes en los criaderos *Navicula* fue la mejor representada. La profundidad en la mayoría de ellos fue mayor a un metro.

Fueron positivas 73,3% de las excavaciones para larvas de *A. albitarsis*, la especie más frecuente y abundante del género, siendo *A.strodei* la que mostró mayor

asociación con la misma. La distancia de la ciudad no influyó en la presencia de *A.albitarsis*, que presentó criaderos cerca y lejos de ella. En su mayoría los criaderos fueron realizados mediante agua a presión (60%), poseían detritos vegetales (89,8%), plantas emergentes (87,0%) con pocas plantas flotantes (14,5%) o sumergidas (1,8%). El 76% de estas excavaciones tenían agua límpida, y 47% un tamaño entre 150 m y 300 m. El oxígeno varió de 4 a 8,8 ppm y el gas carbónico de 3 a 35 ppm. Los géneros de algas encontrados con mayor frecuencia fueron: *Cosmarium* (63,6%), *Naviclua* (52,7%) y *Closterium* (50,9%).

Se encontraron criaderos de *A.strodei* en el 50% de las excavaciones, sin influencia de la distancia a las ciudades. En la mayoría el agua fue límpida (73,7% con detritos vegetales (89,0%) y plantas emergentes (89,0%). El género de fitoplancton más frecuente fue *Closterium.* Para las especies de *A. triannulatus, Grupo falvaoi, A. evansae* y *A. nuneztovari* no se encontró ningún patrón de ocurrencia.

La figura 2 muestra la distribución de especies de *Anopheles* en las áreas de excavaciones (*garimpos*) investigados, superpuesto a una imagen satelital. Se puede observar la distribución en relación a las áreas urbanas y los patrones de vegetación de la región.

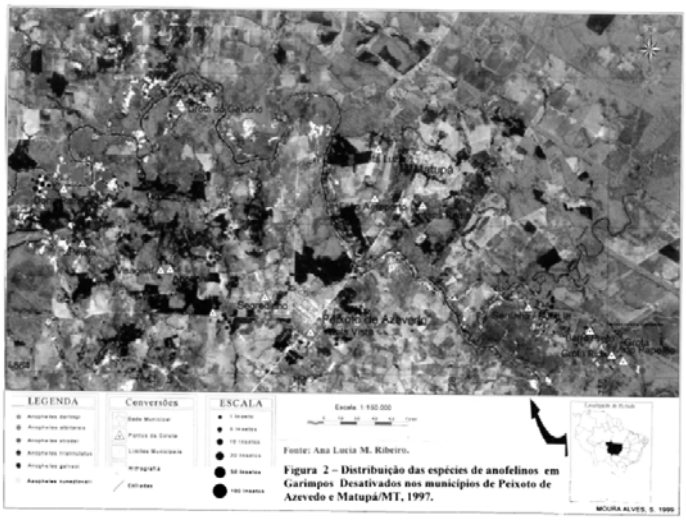


Figura 2 – Distribuição das espécies de anofelinos em Garimpos Desativados nos municípios de Peixoto de Azevedo e Matupá/MT, 1997.

Discusión

Las excavaciones auríferas (*garimpos*) transforman intensamente el medio, pudiendo tornarse fuente de polución y degradación del medio (32). Interrumpidas las actividades de extracción el ecosistema busca llegar a nuevas condiciones de equilibrio. En la región del estudio se observaron poblaciones vegetales y animales desde las primeras categorías de abandono con una rica biodiversidad. El modelo de Washimo & Wood (33), para predecir la distribución espacial del vector de malaria y riesgo de transmisión distingue tres hábitats, para reproducción, alimentación y refugio, considerando entre ellos la distancia, tipo de cobertura de suelo y desarrollo del dosel vegetal. En nuestro estudio, se observó así una mayor disponibilidad de sitios de reproducción de mosquitos, dada la diversidad de hábitat creados, desde al abandono de las actividades antrópicas.

Las características físicas óptimas del ambiente acuático varían entre especies de mosquitos (34). *Anopheles darlingi*, principal vector da malaria en la región amazónica se encuentra a bajas altitudes, asociado a grandes reservorios de agua limpia y profunda, soleadas o parcialmente sombreadas(14). En nuestro estudio 17,33% de las excavaciones fueron positivas para *Anopheles darlingi,* algunas sin

macrofitas acuáticas y poca sombra, con larvas junto a detritos, a una distancia mínima de 8 km de los centros urbanos. En la literatura se citan criaderos en las ciudades de Belém y Porto Velho (35,36) y se cita también como indígena en áreas rurales de la región amazónica(37b).

Anopheles albitarsis fue la especie más frecuente y abundante en todas las excavaciones de distintas edades de abandono, independiente de la distancias a la ciudad. Esta especie sería un complejo de especies crípticas con diferentes hábitat, grados de antropofilia y nivel de salinidad de criaderos (12,14). Es considerado vector secundario aunque poco susceptible a *P.vivax* (14,36). *Anopheles strodei*, el segundo en abundancia concurrente en criaderos con *A. albitarsis*, entra en domicilios (12) y se encontró naturalmente infectado, probablemente durante el pico de las epidemias producidas por el vector primario (36-38). *Anopheles triannulatus* (l.s.) fue moderadamente abundante con criaderos diversificados, siendo zoofílico y por lo tanto vector secundario de malaria(12). *Anopheles nuneztovari* y *Anopheles evansae*, especies que se han encontrado con infección natural, fueron poco frecuentes en el estudio. Las especies del Grupo galvaoi (*galvaoi, evansae* y *rangeli*) no pueden distinguirse en sus estadios larvarios, no pudiendo por ello hacer mayores inferencias sobre su hallazgo.

De los insectos acuáticos la familia *Chironomidae (Díptera)* son importantes bioindicadores de las condiciones ambientales (39), y base de la cadena alimentaria de invertebrados predadores en la cuenca amazónica (40), lo que concuerda con su co-ocurrencia con larvas de odonatos. En las excavaciones se encontraron a su vez 118 especies de plantas superiores y 83 géneros de algas, Los vegetales pueden estar directamente relacionados con los anofelinos como alimento o indirectamente sirviendo de sombra para las formas inmaduras y refugio para los adultos.

En conclusión las áreas de excavaciones auríferas (*garimpos*) desactivadas proporcionan una mayor disponibilidad de sitios de cría de mosquitos, especialmente anofelinos. El tiempo de abandono de las excavaciones en la región de Peixoto de Azevedo y Matupá no influyó la distribución de especies de anofelinos, la sucesión biológica fue rápida. *Anopheles darlingi* fue encontrado a una distancia mínima de 8 Km de las ciudades contribuyendo así a la protección de las poblaciones urbanas. Las otras especies de anofelinos fueron encontradas en la proximidad de las ciudades, lo que requiere vigilancia de brotes de malaria en dichas zonas pues aunque la capacidad vectorial de estas especies es baja, los parásitos podrían estar adaptándose a nuevos situaciones. Por ello se recomienda una mayor atención a la población rural y *garimpeira* usualmente desprotegida, utilizar tentativamente estos datos como iniciales para otras áreas de la región, y crear una base de datos con el objeto de diseñar futuras de monitoreo.

Referencias

1. Preti O. Terra, ouro e sangue em Guarantã do Norte: 20 anos de luta pela terra. Cadernos do NERU/Núcleo de Estudos Rurais e Urbanos – ICHS-UFMT, N° 1. Cuiabá: EDUFMT, 1993.
2. Cãmara V de M, Corey G. Epidemiologia e meio ambiente: O caso dos garimpos de ouro no Brasil. Centro Panamericano de ecologia humana e saúde, programa de saúde ambiental, OPS/OMS, México, 1992.
3. Marques AC, Gutierrez HC. Combate à malaria no Brasil: evolução, situação atual e perspectivas. Rev Soc Bras Med Trop 27 *(*Supl. III), 1994: 91-108.
4. OMS. La situation du paludisme dans le monde en 1989. Rélève Epidemiologique Hebdomadaire, N. 23, 1991.
5. SUCAM – Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Relatório técnico administrativo da Delegacia Regional do Pará. Brasília, Ministério da Saúde, 1989.
6. SIS/SUS. Sistema de Informação em Saúde do Sistema Único de Saúde "Avaliação do SUS/MT". Secretaria de Estado de Saúde, 1996.
7. Duarte EC, Fontes CJF. Associação entre índice parasitário anual de malária e produção garimpeira de ouro em Mato Grosso. 1989-1996. Rev Soc Bras Med Trop 31 Suplemento I, 1998.
8. Zimmerman RH. Ecology of malaria vectors in the Americas and future direction. Mem Inst Osw Cruz 87 (Supl. III), 1992: 371-383.
9. Service MW. Studies on sampling larval populations of the *Anopheles gambiae* complex. Bull Wld Hlth Org 45, 1971:169-180.
10. Ferreira JCV. Mato Grosso e seus municípios: Cuiabá: Secretaria do Estado da cultura, 1997. 668p.
11. Miranda JG, Copriani M, Mártires RAC, Giaconi WJ. Atividades garimpeiras no Brasil: aspectos técnicos, econômicos e sociais. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq. 1997, 61p.
12. Forattini OP. Entomologia Média Vol. I., Faculdade de higiene e Saúde Pública, S. Paulo, 662pp, 1962.
13. Dean GA. Epi-Info Sistema de processamento de texto, banco de dados e estatística para Epidemiologia em microcomputadores*,* 1994.
14. Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância de sanitária no Brasil. FIOCRUZ 1994.
15. Pennak RW. Fresh water invertebrates of the United States. 2° ed. A. Wiley. Interscience Publication John Wiley & Sons, 1978.
16. Merrit RW, Cummins KW. An Introduction to the aquatic insect of North America.2da. Ed. Kendall/Hunt Publishing company, Iowa. 1984. 722p.
17. Renn CE. Investigating water problems: a water analysis manual. Lamonte Company, Chestertown, Maryland, 1970.
18. Bicudo CEM, Castro AAJ. Desmidioflórula paulista 4: gêneros *Closterium* e *Spinoclosterium.* Biblioteca Phycologica, Vaduz 191:1994.
19. Borge O. Die Algen 2: Desmidiaceen. Arl. Bot., Uppsala, Stockholm 1, 1903: 71-138.
20. Borge O. Die Algen der ersten Regnellschen Expedition, e: Zygnemaceen. Ark. Bot., Uppsala, Stockholm 1, 1903: 277-285.
21. Borge O. Die von Dr. F.C. Hoehne während der Expedition Roosevelt Rondon gesammelten Süsswasseralgen. Ark. Bot., Upssala Stockholm, 19, 1925: 1-56,
22. De-Lamonica-Freire EM. Desmidioflórula da Estação Ecológica da Ilha de Taiamã, Município de Cáceres, Mato Grosso *(*Tese/Doutorado em Ciências na área de Botânica). São Paulo. Univ. São Paulo, 538p. 1985.
23. De-Lamonica-Freire EM. Catálogo das algas referidas para o Estado de Mato Grosso. Brasil. 1. Rev. Brás. de Biol., Rio de Janeiro 49, 1989: 671-677.
24. De-Lamonica-Freire EM. Catálogo das algas referidas para o Estado de Mato Grosso. Brasil. 2. Rev. Brás. de Biol., Rio de Janeiro 49, 1989: 679-689.
25. De-Lamonica-Freire EM. Desmídias filamentosas (Zygnemaphuceae, Desmidiales) da Estação Ecológica da Ilha de Taiamã, MT, Brasil. Acta Limnológica Brasileira 4, 1992: 315-325.

26. De-Lamonica-Freire EM. O gênero *Xanthidium* (Zygnemaphuceae, Desmidiales) na Estação Ecológica da Ilha de Taiamã, Estado de Mato Grosso, Brasil. Boletim do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso N° 1:1-9. 1992 .
27. De-Lamonica-Freire EM, Sant'Anna CL. Chlorococcales (Chlorophyceae) da Estação Ecológica da Ilha de Taiamã, Estado de Mato Grosso, Brasil. Hoehnea, 20(1/2):1993, 107-118.
28. Bourrely P. Une nouvelle coupure generique dans la famille des Desmidiées: le denre Teilingia. Revue algol. – ser. Nov., Paris, 7 (2):187-191, fig. 1-11. 1964.
29. Bourrely P. Les algues d'eau douce, Initiation à La Systématique, I. Lês Algues vertes – Paris. Boubée & Cie. Vol I, 1972. 569 p.
30. Bourrely P. Les algues d'eau douce, Initiation à La Systématique, 3: les algues bleues et rouges Les Eugléniens, Peridiniens et Crypotomonadines. Paris. Boubée & Cie. Vol.3, 1985. 606 p.
31. Schults FP. Flórula de Desmídias (Chlorophyta, Zygnemapyceae) do Pantanal de Poconé, Mato Grosso, Brasil. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Mato Grosso, MT: 1993. 55p.
32. Farid LH. Diagnóstico preliminar dos impactos ambientais gerados por farimpos de ouro em Alta Floresta/MT. Estudo de caso. Rio de Janeiro CETEM/CNPq. 190p (Tecnologia Mineral, 2) 1992.
33. Washino RK, Wood BL. Application of remote sensing to arthropod vector surveillance and control. Am J Trop Med Hyg 50, 1994: 134-144.
34. Soares-Filho BS, Sawyer DO. Correlatos ambientais da distribuição espacial da malária em municípios endêmicos no norte do Estado de Mato Grosso. *Informe epidemiológico do SUS* (Brasília) – Ano V – N° 3 – Jul a Set/1996.
35. Deane LM, Damasceno R. Notas sobre distribuição e a biologia dos anofelinos das Regiões Nordestina e Amazônica. Rev Esp Saúde Públ 1, 1948: 827-966.
36. Deane LM. Malaria Vectors in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 81, Suppl. II, 1986: 5-14.
37. Tadei W, Santos JMM, Costa WLS, Scardena VM. Biologia dos anofelinos amazônicos. XII Ocorrência de espécies de *Anopheles*, dinâmica da transmissão e controle da malária na zona urbana de Ariquemes, Rondônia. Rev Inst Med Trop S. Paulo 30, 1988: 221-251.
37b. Oliveira-Ferreira J, Lourenço de Oliveira R, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT. Feeding preference of *Anopheles darlingi* in malaria endemic areas of State – Northwestern Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 87, 1992: 601-602.
38. Lourenço de Oliveira R, Guimarães AG, Arlé M, Silva TF, Castro MG, Mota MA, Deane LM. Anopheline species, some of their habits in relation to malaria in endemic areas of Rondônia state, Amazon region of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 84, 1989: 501-514.
39. Truvubi-Strixino S, Striximo G.. larvas de Chironomidae (Diptera) do Estado de São Paulo – Guia de identificação e diagnose dos gêneros.PPG-ERN/UFSCar, São Carlos S.P. 230p.
40. Ohara LB. Comunidade de insetos aquáticos em uma nascente do rio Benito Gomes, Nossa Senhora do livramento . MT (monografia). UFMT 1997. 26p.

Distribución de las subclases de Igg en anticuerpos adquiridos en forma natural contra *Plasmodium falciparum*, en relación a la exposición y a la severidad de malaria

Marcelo U. Ferreira, Emília A. S. Kimura, Alejandro M. Katzin, Leopoldo L. Santos-Neto, José O. Ferrari, Juan M. Villalobos, Maria E. de Carvalho, Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Brasil

Artículo original: Ferreira MU, Kimura EAS, Katzin AM, Santos-Neto LL, Ferrari JO, Villalobos JM, de Carvalho ME. The IgG-subclass distribution of naturally acquired antibodies to Plasmodium falciparum, in relation to malaria exposure and severity. *Ann Trop Med Parasitol* 92, 1998: 245-256.

Resumen: *Se ha propuesto un papel crítico para la conmutación de las subclases de anticuerpos IgG_2 no citofílicos por anticuerpos IgG_1 e IgG_3 citofílicos observada en la respuesta inmune humoral a* Plasmodium falciparum *en individuos africanos. Estos pacientes habían adquirido inmunidad clínica de forma natural, luego de años de exposición a malaria holoendémica. En este trabajo se investigó la posibilidad que la exposición de larga duración a bajos niveles de endemicidad de malaria pueda estar asociada a cambios en la composición de las subclases de IgG de los anticuerpos contra* P. falciparum *en una comunidad nativa de la Amazonia. Se trabajó con 138 aborígenes Karitiana expuestos pero no infectados con malaria. En un estudio separado, se compararon las concentraciones de las subclases de IgG en anticuerpos de pacientes agudos con malaria severa (N=22) y de controles pareados por edad y sexo que presentaban malaria no complicada (N=44). Las concentraciones plasmáticas de IgG contra un extracto antigénico de esquizontes de* P. falciparum, *obtenido por solubilización con detergentes, fueron cuantificados mediante una prueba de ELISA con estandarización indirecta. En la población Karitiana las concentraciones de anticuerpos de todas las subclases contra el parásito aumentaron con la edad, y no hubo correlación entre la edad y la proporción de anticuerpos citofílicos y no citofílicos. La predominancia de anticuerpos citofílicos IgG_1 y de no citofílicos IgG_2 en todos los grupos de edad de los Karitiana representa un ejemplo de un patrón intermedio en la respuesta inmune a* P. falciparum*, el cual contrasta con los descritos previamente en poblaciones clínicamente inmunes y no inmunes. Aunque las concentraciones medias de IgG_1 citofílico contra* P. falciparum *en los controles fueron considerablemente mayores que en los pacientes con malaria severa, no hubo diferencias significativas en las otras subclases de IgG. La falta de exposición previa a malaria fue asociada a la severidad de la manifestación clínica (OR=4,75, IC 95%= 1,31-17,42) y podría explicar, al menos parcialmente, las respuestas defectuosas, bajas en anticuerpos IgG_1 contra* P. falciparum*, en casos de malaria grave*

Palabras clave: Malaria, anticuerpos, subclases de IgG, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, Brasil

Introducción

El papel de los anticuerpos humanos, adquiridos en forma natural, en la inmunidad contra los estadios asexuales sanguíneos de los parásitos de malaria ya ha sido demostrado desde comienzos de la década de 1960 (1). Las respuestas mediadas por anticuerpos incluyen posiblemente el bloqueo directo de la invasión del merozoíto a los glóbulos rojos, la inhibición de la dispersión del merozoíto luego de la ruptura del esquizonte, la opsonización y la fagocitosis del glóbulo rojo infectado, y la destrucción de merozoítos libres, dependiente por anticuerpos, inducida por mediadores solubles liberados por monocitos, denominada inhibición celular anticuerpo dependiente (ICAD). Recientemente, experimentos *in vitro* y *ex vivo* han reforzado la hipótesis de ICAD; inmunoglobulinas con efecto protectivo *in vivo* (2), purificadas de adultos africanos clínicamente inmunes, indujeron a monocitos humanos a liberar *in vitro* el factor de necrosis tumoral TNF-α, y probablemente otros mediadores solubles que matan los parásitos, inhibiendo de esta forma el crecimiento parasitario (3,4).

Aunque los anticuerpos son esenciales, altos niveles de IgG contra una amplia gama de antígenos de los estadios sanguíneos de *Plasmodium falciparum* son usualmente malos indicadores de protección clínica. La adquisición de inmunidad clínica, en individuos expuestos a malaria holoendémica, parece estar correlacionada con un cambio cualitativo en los anticuerpos contra *P. falciparum*, con predominancia de la subclase IgG_2 no citofílica en niños y de las subclases IgG_1 e IgG_3 citofílicas en los individuos clínicamente inmunes (5). Sólo los anticuerpos citofílicos son capaces de cooperar con los monocitos y macrófagos humanos, vía los receptores FcγRI y FcγRII, en la opsonización y fagocitosis del glóbulo rojo infectado (6) y la ICAD (2,4,5). Los anticuerpos no citofílicos pueden inhibir estas respuestas efectoras, mediante competencia con los anticuerpos citofílicos por los mismos dominios o dominios vecinos (5,6). Los anticuerpos citofílicos también inducen protección contra la malaria experimental en ratones (7,8) y monos *Saimiri* (9).

La transmisión de malaria en la Amazonia brasilera es hipoendémica o mesoendémica e inestable. Típicamente los individuos con exposición intensa son los inmigrantes no inmunes contratados para proyectos agrícolas de frontera y actividades temporales como la exploración aurífera y la extracción de madera (10). Individuos de todos los grupos de edad son susceptibles de enfermedad severa. El desarrollo gradual de inmunidad a *P. falciparum,* dependiente de exposición acumulativa, no está bien caracterizado en este contexto. En este trabajo fue utilizada una prueba estandarizada de ELISA cuantitativa (11) para medir las concentraciones plasmáticas de las subclases de anticuerpos IgG contra *P. falciparum* en: (a) aborígenes Karitiana amazónicos no infectados y expuestos en forma continua a un bajo nivel transmisión malárica, y (b) en pacientes con malaria falciparum aguda no complicada y con enfermedad severa.

Materiales y métodos

Indios Karitiana y área principal de estudio - La Reserva de Indios Karitiana ocupa un área de 89862 ha, cubierta por selva lluviosa y situada 90 km al SO de Porto Velho, la capital del estado de Rondônia, al SO de la Amazonia brasilera (Fig.1). El clima, ecuatorial y húmedo, se caracteriza por altas temperaturas medias mensuales (17-34ºC) y una prolongada estación lluviosa entre septiembre y mayo. Los aborígenes Karitiana, miembros de la familia lingüística Tupí-Arikén, viven en la misma área desde comienzos de la década de 1960. En el momento de la encuesta de campo se encontraron 152 personas en la reserva; todos son habitantes de una villa localizada en las márgenes de un curso de agua permanente. Los adultos realizan actividades al aire libre como la agricultura de subsistencia, la caza y la pesca, sus principales fuentes de alimentos. La Fundación Nacional del Aborigen les provee de atención primaria de salud, y el diagnóstico de malaria depende de la presencia de síntomas clínicos (los cuales son frecuentemente observados aún en adultos), y el examen microscópico de los extendidos de sangre teñidos con Giemsa por nativos entrenados sin supervisión externa. Quinina, cloroquina y primaquina son rápidamente asequibles en la reserva. No existen estudios epidemiológicos previos de malaria en esta población, pero hay trabajos detallados en área próximas con transmisión inestable, hipoendémica, de *P. falciparum* y *P. vivax* (12,13). La transmisión de malaria ocurre a lo largo de todo el año, aunque se incrementa típicamente durante la corta estación seca. El principal vector de malaria en la región es *Anopheles darlingi* (14).

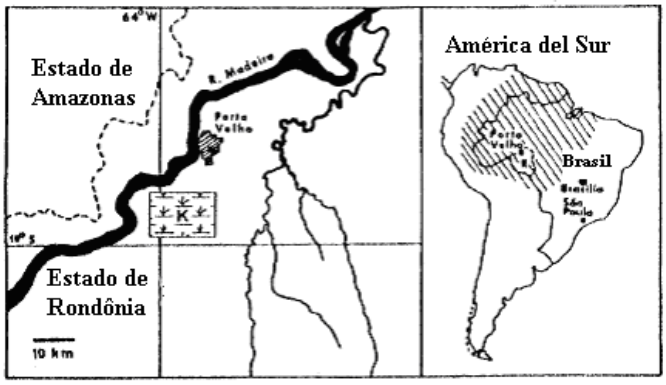


Figura 1. Mapa de América del Sur mostrando la cuenca amazónica (\\\), el área de Porto Velho al norte del estado de Rondônia (R), y la ubicación de Reserva Karitiana (K)

Como parte de una extensa investigación de morbilidad, una encuesta seroepidemiológica transversal fue realizada en la reserva al comienzo de la estación lluviosa de 1994 (15). Un cuestionario sobre salud fue contestado por los 152 habitantes (72 hombres y 80 mujeres). Las edades de todos los niños y de la mayoría de los adultos fueron calculadas según la fecha de nacimiento registrada en los documentos oficiales (certificados de nacimiento o documentos de identidad), pero para algunos adultos mayores sólo se contó con la edad autoreferida. Luego del consentimiento informado de los donantes, sus familiares o responsables legales, se colectó sangre venosa de 138 individuos (91% en la reserva) para la separación de

plasma. Los otros 14 aborígenes no estaban en condiciones de participar o rechazaron la extracción (10 casos), o eran menores de 1 año (4 casos), y fueron excluidos.

La población estudiada estaba compuesta por 65 hombres y 73 mujeres, con una media de edad de 17,9 años (rango 1-76 años). Ninguno de ellos presentó parasitemia detectable en extendidos finos de sangre ($\geq$ 400 campos de 1000×/persona) o fiebre en el momento de incorporarse a este estudio.

Casos severos de malaria y controles con malaria no complicada - Se definieron como casos severos de malaria los pacientes hospitalizados donde se detectaron formas asexuales de *P. falciparum* y que cumplían con al menos uno de los criterios estándar para malaria severa (16): (a) malaria cerebral, (b) anemia severa, (c) convulsiones generalizadas repetidas, (d) falla renal aguda, (e) edema pulmonar y falla respiratoria, (f) choque circulatorio y (g) hemorragias espontáneas o prolongadas. Fueron excluidos pacientes con edades menores a un año, embarazadas y aquellos con tratamientos antimaláricos durante las dos semanas previas. Los controles fueron pacientes externos con malaria aguda sintomática a *P. falciparum* que no tenían ninguno de los indicadores de malaria severa. Los criterios de pareado entre casos y controles (1:2) fueron edad, sexo e institución en la que fueron incorporados. Se aceptaron diferencias de edad entre los dos grupos de ± 2 años para pacientes de 1-40 años y de ± 5 años para mayores de 40 años. De los casos con malaria severa 14 se incorporaron en 1994 o 1995 en el Centro de Medicina Tropical de Rondônia (CEMETRON), un hospital de enfermedades tropicales ubicado en el área endémica de malaria de Porto Velho (Fig.1). Otros ocho fueron casos importados de malaria incorporados entre 1990 y 1992 en el Hospital Universitario de Brasilia, un hospital de referencia situado fuera de la Amazonia (Fig. 1). Las muestras de plasma se colectaron durante la admisión, luego del consentimiento informado, para los casos de malaria severa y para los controles. A todos se les administró el protocolo estándar de quinina endovenosa o artesunato, y los datos clínicos fueron registraron por el equipo médico (MUF, LLS-N, JMV) en un cuestionario estándar.

Inmunoglobulinas de individuos africanos inmunes – La presencia de subclases de anticuerpos IgG contra *P. falciparum* se investigó también en un "pool" de inmunoglobulinas purificadas obtenidas de adultos clínicamente inmunes expuestos a malaria holoendémica en Costa de Marfil. Esas inmunoglobulinas se demostraran efectivas para la protección, por transferencia pasiva, a humanos no inmunes (2) y monos *Saimiri* (17) infectados con *P. falciparum*. Alícuotas liofilizadas de esas inmunoglobulinas purificadas fueron cedidas por el Profesor L Pereira da Silva (Instituto Pasteur, París) y diluidas para obtener una concentración final de 2,5 g/100 ml, antes de probarlas. Las pruebas serológicas fueran hechas por cuadruplicado.

Prueba de ELISA - Los antígenos y los procedimientos del ensayo utilizados en la prueba de ELISA ya fueran descriptos (11). Se utilizo un extracto antigénico soluble en detergente, obtenido de esquizontes de *P. falciparum* del aislado S20 de Porto Velho. Un antígeno control, preparado con eritrocitos no infectados, fue probado en paralelo. Todas las muestras fueron diluidas (1:256) antes de la prueba para

anticuerpos IgG totales, utilizando conjugado de peroxidasa, y anticuerpos caprinos anti-IgG humana (Biosys). Las muestras positivas para anticuerpos IgG fueron ensayadas luego para anticuerpos de las subclases de IgG, en una dilución 1:50, usando anticuerpos monoclonales de ratón contra IgG_1 (clon HP-6012, Oxoid), IgG_2 (clon HP-6014, Sigma), IgG_3 (clon HP-6010, Immunotech), o IgG_4 (clon HP-6025, Sigma). La especificidad de los anticuerpos monoclonales utilizados se evaluó mediante varios métodos inmunológicos en un estudio conjunto de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (IUIS) y la OMS (18). Las uniones anticuerpo humano-anticuerpo monoclonal fueron detectadas con inmunoglobulina anti-ratón, preparada en carnero, conjugada con peroxidasa (Amersham International). Luego de usar como sustrato o-fenilenediamina y peróxido de hidrógeno a pH ácido, la absorbancia fue medida a 492 nm. Las comparaciones cuantitativas de las concentraciones de anticuerpos plasmáticos de cada subclase de IgG se basaron en el procedimiento de estandarización indirecto (19). Curvas estándar, obtenidas con inmunoglobulinas de cada subclase de IgG purificadas de mieloma (Sigma) fueron incluidas en cada placa de microtitulación, y las concentraciones de cada subclase de IgG contra *P. falciparum* fueron interpoladas de los valores de absorbancia netos (antígeno de *P. falciparum* menos antígeno control de eritrocitos) con una regresión cuadrática. Los resultados se expresaron como μg de anticuerpo antiparasitario/ml de plasma.

Análisis estadísticos - Las concentraciones de anticuerpo se muestran como medias aritméticas con su error estándar. La diferencia entre concentraciones pareadas de anticuerpos (control menos casos) fue explorada para comparar los casos de malaria severa y sus controles. En ausencia de una asociación entre malaria severa y concentraciones de cualquiera de las subclases de IgG (hipótesis nula), el valor medio de las diferencias entre pares sería cero, y la distribución total sería simétrica alrededor de dicho punto (20). Esta hipótesis nula se probó con la prueba de *t* para una muestra. La correlación entre concentraciones de anticuerpo y edad fue evaluada mediante el coeficiente de correlación de rangos de Spearman (r_s). Los análisis fueron hechos con el programa *EpiInfo* 6.0 (CDC) y *Epidat* (OPS). Se definió como significativo un nivel de 5%.

Resultados

Concentraciones de subclases de IgG asociadas a edad en anticuerpos contra P. falciparum *en aborígenes Karitiana* - Utilizando la prueba de ELISA fueron detectados anticuerpos contra *P. falciparum* en 67 de las muestras plasmáticas, las cuales fueron evaluadas luego para las subclases de IgG. Los anticuerpos IgG_1 e IgG_2 predominaron en todos los grupos etarios (Fig. 2). La IgG_1 se detectó (concentración > 1 μg/ml) en las 67 muestras de los indios Karitiana positivas para anticuerpos IgG. La proporción total de anticuerpos IgG citofílicos contra *P. falciparum* (IgG_1 e IgG_3) fue del 62%. La concentración de cada subclase de IgG contra *P. falciparum* mostró

una correlación positiva con la edad, con valores de r_s de 0,681, 0,702, 0,578 y 0,277 para IgG_1, IgG_2, IgG_3 e IgG_4 respectivamente ($P< 0,05$ para cada una). Como el incremento de la prevalencia y la concentración de anticuerpos es edad dependiente y corre aproximadamente en paralelo para cada subclase de IgG, la proporción de anticuerpos citofílicos parásito específicos, en los individuos IgG positivos, fue similar en todos los grupos de edad (r_s = -0,067 $P> 0,05$).

Concentraciones comparativas de subclases de anticuerpos IgG contra P. falciparum *en malaria severa y no complicada* - La tabla 1 presenta los datos demográficos y clínicos de los 22 pacientes con malaria severa (MS) que se incluyeron en el estudio. Estos pacientes fueron clínicamente heterogéneos; falla renal (59%) y anemia severa

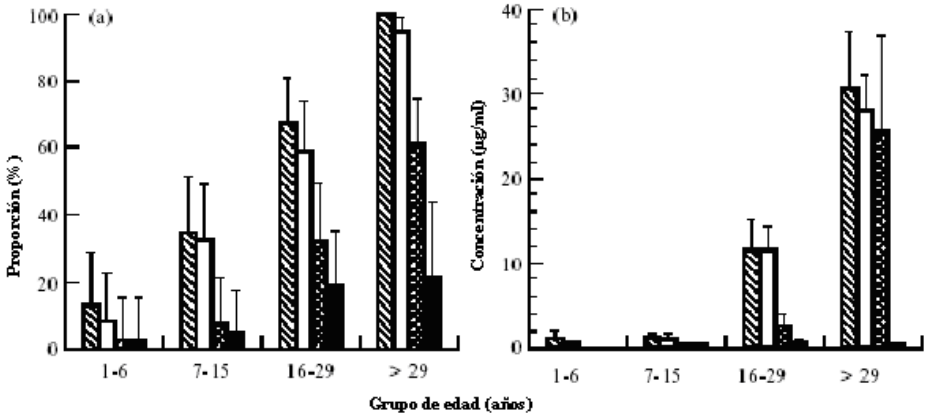


Figura 2. Prevalencias edad específicas (a) y concentraciones medias (b) de anticuerpos IgG_1 (\\\), IgG_2 (□), IgG_3 (▒) e IgG_4 (■) contra *Pl. falciparum* en 138 indios Karitiana, detectadas mediante la prueba de ELISA. Las barras de error indican el límite superior del intervalo de confianza del 95% en (a) y el error estándar en (b)

(36%) fueron los criterios de severidad hallados con mayor frecuencia. La tasa de letalidad global fue alta (23%).

Tabla 1. Características de los 22 pacientes con malaria severa

Paciente[a]	Edad (años)	Sexo	Nº Episodios[b]	Tiempo(días)[c]	Severidad[d]	Otras compl.[e]	Resultado[f]	Paciente	Edad (años)	Sexo	Nº Episodios[b]	Tiempo(días)[c]	Severidad[d]	Otras compl.[e]	Resultado[f]
1	5	M	0	2	AS	I	Al	12	34	M	NA	7	FR,MC		Ob
2	30	M	>20	3	AS,FR	I,C	Al	13	57	M	7	5	FR		Al
3	20	M	0	3	FR		Al	14	44	M	3	7	AS,CS	H	Al
4	13	F	3	7	AS,FR,MC		Al	15	40	M	0	2	FR		Al
5	24	M	NA	2	FR,MC		Ob	16	23	M	2	15	FR		Al
6	9	M	2	NA	MC		Al	17	23	M	3	6	MC,EP,CS,Hi	H	Ob
7	31	M	0	7	FR		Al	18	24	M	0	4	CS		Al
8	8	M	0	10	AS,He	I,S	Al	19	27	M	8	12	CS		Al
9	34	F	0	7	AS,FR	I	Al	20	61	M	0	1	FR,CS	S,H	Al
10	1	M	0	5	AS,MC,CR		Al	21	17	M	0	8	EP	H	Al
11	48	F	>10	1	AS,FR,He,EP	I	Ob	22	23	F	0	11	FR,EP,CS,Hi		Ob

[a] Pacientes 1-14 estudiados en el centro de Medicina Tropical de Rondônia, 15-22 en el Hospital Universitario de Brasilia. [b] Nº de episodios previos de malaria, incluyendo infecciones por *P. falciparum* y *P. vivax*. [c] Tiempo entre el comienzo auto-referido de síntomas y la admisión. [d] Criterios de severidad: AS-anemia severa, FR-falla renal, MC-malaria cerebral, He-hemoglobinuria, CR-convulsiones generalizadas repetidas, EP-edema pulmonar, Hi-hipoglicemia. [e] Otras Complicaciones: I-ictericia, C-convulsiones, S-somnolencia, H-hiperparasitemia (>200000 estadios asexuales en sangre/µl). [f] Resultado: Al-alta, Ob- óbito

La tabla 2 compara características seleccionadas de estos pacientes con los 44 controles con malaria no complicada (MNC), pareados por edad y sexo. Cuando fueron incorporados, 11 (55%) pacientes con MS pero sólo 9 (20%) de los MNC sufrían su primer ataque de malaria (χ^2 corrección de Yates= 6,11, gl 1, *P*= 0,0134).

Tabla 2. Características seleccionadas de los 22 pacientes con malaria severa y sus 44 controles pareados por edad y sexo con malaria no complicada

Característica	Nº y (%) con malaria severa	Nº[a] y (5) de controles
Edad (años)[a]		
1-10	4 (18)	8 (18)
11-20	3 (14)	6 (14)
21-30	7 (32)	15 (34)
>30	8 (36)	15 (34)
Nº de ataque previos de malaria[b]		
0	11 (55)	9 (20)
1-10	7 (35)	19 (43)
>10	2 (10)	16 (36)
Tiempo comienzo síntomas-admisión (días)		
1-2	5 (24)	14 (32)
3-7	11 (52)	23 (52)
>7	5 (24)	7 (16)

[a] La media (desviación estándar) de edad fue 27,0 (15,9) para malaria severa y 27,0 (15,6) para controles. [b] Auto-referido por los pacientes en la admisión incluyendo *P. falciparum* y *P. vivax*, información perdida en dos casos La proporción de primoinfecciones fue significativamente mayor entre los casos de malaria severa que entre los controles 55% vs. 20% (χ^2 corrección de Yates= 6,11, gl 1, *P*= 0,0134). La falta de una exposición previa de malaria fue asociada con un incremento de 4,75 veces de malaria severa (IC 95% = 1,31-17,42). [c] Sin información en un caso. Media (desviación estándar) 5,9 (3,8) días para pacientes con malaria severa y 5,0 (6,8) días para los controles (prueba *U* de Mann-Whitney , *P*= 0,105)

Veinte de los pacientes con MS (86%) y todos los MNC tuvieron concentraciones de anticuerpos IgG detectables mediante la prueba de ELISA (Fig. 3).

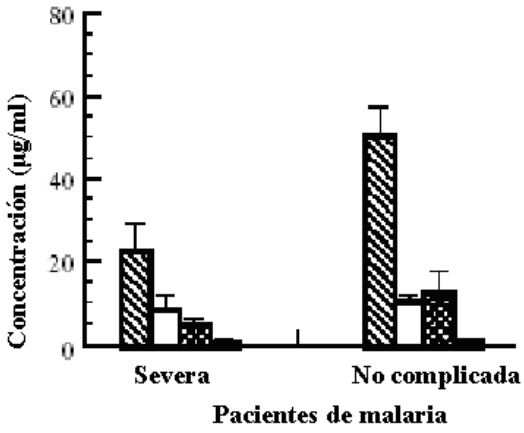


Figura 3. Concentraciones medias de anticuerpos IgG_1 (\\\), IgG_2 (□), IgG_3 (▒) e IgG_4 (■) contra *P. falciparum* en enfermos agudos de Amazonia, con malaria severa y malaria no complicada, pareados por edad y sexo. Las barras de error indican el error estándar. Una diferencia significativa se observó entre los dos grupos en términos de anticuerpos IgG_1 (t= 3,97, P= 0,0021).

La única diferencia significativa entre MS y MNC se observó al evaluar las diferencias pareadas de concentración de IgG_1(MNC menos MS): la diferencia media fue de 28,5 µg/ml (IC 95% 11,8-45,1 µg/ml, t= 3,97, gl 1, P= 0,0021). Los datos indicaron también una tendencia hacia concentraciones más altas de IgG_3 en MNC que en MS, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa (diferencia media = 8,4 µg/ml, IC 95% -4,2-21,0 µg/ml, t= 1,54, gl 1, P= 0,129). Las subclases citofílicas de IgG correspondieron al 74% de los anticuerpos parásito específicos de isotipo IgG en MS y 84% en MNC.

Distribución de las subclases de IgG contra P. falciparum *en el "pool" de inmunoglobulinas de individuos africanos* - Como era de esperar (4), la mayor parte de anticuerpos IgG detectados mediante la prueba de ELISA en el "pool" de inmunoglobulinas de individuos africanos pertenecía a las subclases IgG_1 (68%) e IgG_3 (19%). Sólo el 11% y el 2% de los anticuerpos fue IgG_2 e IgG_4 respectivamente. La mayor parte de los anticuerpos IgG parásito específicos correspondía a las subclases citofílicas.

Discusión

La intensidad de la transmisión de malaria en poblaciones humanas ha sido tradicionalmente descrita mediante parámetros simples, como los "índices" parasitarios o esplénicos. En este estudio, la imposibilidad para detectar parásitos en las muestras de sangre de los aborígenes Karitiana debe ser interpretada con cautela, ya que sólo se dispuso para el examen de extendidos finos de sangre, donde las bajas parasitemias tienden ha no ser detectadas. Asimismo, el uso generalizado de drogas antimaláricas y la variación estacional en la transmisión de malaria constituyen

fuentes adicionales de error en las encuestas transversales que pretenden estimar prevalencias representativas de la parasitemia. Una situación comparable se encontró en poblaciones amerindias de Xingu, donde la prevalencia de infección según edad fue significativamente menor a las esperada por el modelado de los datos serológicos (12). Sin embargo, la prevalencia real de malaria entre los indios Karitiana fue probablemente muy baja, debido a que los anticuerpos IgM contra *P. falciparum* o *P. vivax* fueron sólo detectados con inmunofluorescencia indirecta en el 6% y 2% de los individuos respectivamente (observación inédita), y usualmente se observan índices globales de parásitos bajos (0,5%-2,0%) en las localidades próximas durante la estación de lluvias (12,13). Por razones operativas no se tomaron las medidas esplénicas durante el trabajo de campo.

No hubo evidencia de una correlación nítida entre edad y la proporción de anticuerpos no citofílicos y citofílicos contra *P. falciparum,* entre los Karitiana expuestos a niveles relativamente bajos de transmisión de malaria desde su nacimiento. Estos resultados contrastan con los obtenidos en el África holoendémica (4,5). La predominancia de anticuerpos IgG citofílicos en africanos adultos, clínicamente inmunes, ha sido caracterizada mediante inmunoensayos semicuantitativos y cuantitativos (5,11,19,22,23). La composición de subclases de IgG, medidas en este trabajo por la prueba de ELISA, en el "pool" de sueros inmunes africanos resultó coherente con dichos resultados registrados en la literatura. Un perfil bastante diferente, caracterizado por niveles altos de IgG_2, es típico de la primoinfección (19). Sin embargo, el cuadro no es tan claro en las situaciones intermedias, como cuando están involucradas poblaciones semi-inmunes. Las respuestas citofílicas a *P. falciparum* predominan durante las infecciones de malaria agudas en la mayor parte de los adultos de la Amazonia de Brasil (11) y en algunos pacientes de Colombia (24), pero los anticuerpos citofílicos tienden a ser de vida corta y baja avidez (11). En Brasil, los inmigrantes semi-inmunes expuestos a malaria hipoendémica inestable, en ambientes rurales de Rondônia, muestran patrones heterogéneos de respuesta de anticuerpos luego de un episodio agudo de malaria, los cuales reflejan aproximadamente su experiencia previa con malaria (23). Los patrones de respuesta descritos en los Karitiana para las subclases de IgG, con altos niveles de anticuerpos IgG_1 e IgG_2, son intermedios entre aquellos descritos en sujetos clínicamente inmunes e individuos no inmunes.

Los niveles relativamente bajos de anticuerpos citofílicos (especialmente IgG_1) contra *P. falciparum* encontrado en los casos con malaria severa en la Amazonia pueden estar asociados con: (a) la falta de una exposición previa a malaria en la mayoría de los pacientes y/o (b) una conmutación defectuosa de isotipo hacia anticuerpos citofílicos, como resultado de la desregulación inmune causada por la malaria severa. Ambos factores están probablemente ligados, a pesar que no se detectó una correlación positiva entre la exposición acumulada a malaria en los indios Karitiana no infectados y la proporción de anticuerpos IgG_1 contra *P. falciparum*. A partir de los datos transversales presentados aquí es difícil determinar si las respuestas de anticuerpos defectuosas a *P. falciparum*, caracterizadas por bajas concentraciones de IgG_1 (y quizás IgG_3), son causa o consecuencia de la malaria severa.

Oudart (25) y Erunkulu (26) no encontraron evidencias de una asociación entre los niveles de IgG contra *P. falciparum* y la severidad de la malaria en pacientes del oeste de África, pero los bajos títulos de IgG serían indicadores de un mal pronóstico en la malaria severa en Tailandia (27). Un trabajo reciente en Senegal ha descrito niveles comparables de anticuerpos IgG contra esquizontes de *P. falciparum* en pacientes con malaria severa fatal y no fatal, pero la ausencia de anticuerpos IgG_3 fue asociada con un mal pronóstico (28); no fue incluido en el estudio un grupo control sintomático con malaria no complicada. Altos niveles de anticuerpos citofílicos podrían, en consecuencia, estar asociados negativamente con la severidad de malaria pero, si es así, no está claro cuál de las subclases de IgG está involucrada en forma primaria (IgG_1 o IgG_3). La intensidad de la respuesta de las subclases de IgG en los pacientes de Senegal fue expresada como valores de absorbancia, los cuales no están correlacionados en forma lineal con la concentración real de anticuerpos (29). Como resultado, las comparaciones estadísticas de valores de absorbancia pueden fallar en la detección de diferencias significativas en la concentración de anticuerpos. Puede plantearse la hipótesis que estudios con tamaños de muestra suficientemente grande serían probablemente capaces de detectar diferencias significativas en las concentraciones de anticuerpos a *P. falciparum*, en la subclase IgG_1 como en la IgG_3.

Aunque los blancos precisos de los anticuerpos citofílicos son aún desconocidos, ensayos de ICAD indican que deben ser antígenos de la superficie del merozoíto (3). El mecanismo que activa las respuestas de anticuerpos citofílicos en humanos clínicamente inmunes tampoco ha sido bien comprendido hasta el momento. Un mecanismo antígeno-dirigido ha sido propuesto; algunos antígenos de los estadios sanguíneos asexuales de *P. falciparum* inducen con preferencia anticuerpos citofílicos y por ello han sido propuestos como candidatos para una vacuna (30,31). Un balance huésped-dirigido también ha sido propuesto, el cual es mayormente dependiente de las respuestas de citoquina tipo-1 y tipo-2 y de la exposición acumulada a malaria del huésped. Ese balance de citoquinas puede correlacionarse con las respuestas anticuerpo protectivas y la inmunidad clínica en el hombre y en el ratón (32,33). Las respuestas de citoquina tipo-1 involucran interferón-γ, interleuquina-2 y factor de necrosis tumoral TNF-α, implicados en el control de las parasitemias en la infección aguda. Las citoquinas tipo-2, por otra parte, pueden estar involucradas en la adquisición de protección de larga duración contra los estadíos sanguíneos asexuales. Una de las citoquinas tipo-2 , la interleuquina-10, induce una conmutación de isotipos hacia anticuerpos citofílicos en células humanas B *naive* (34). Es interesante señalar que dos antígenos principales de la superficie del merozoíto de *P. falciparum* (MSA-1 y MSA-2) aparentemente inducen diferentes patrones de respuesta de anticuerpos en infecciones naturales: MSA-1 está asociado tanto con las respuestas de IgG_1 como de IgG_3 (35, Ferreira MU, Kimura EAS, Katzin AM, Tanabe K, observación inédita), mientras las respuestas MSA-2 están restringidas a la subclase IgG_3 (36). Permanece aún sin resolver claramente cuales son los factores que conducen a una respuesta predominante IgG_1 o IgG_3 en las respuestas de anticuerpos humanos a los antígenos proteicos.

Una observación de interés práctico para el desarrollo de vacunas es que los anticuerpos citofílicos pueden ser rápidamente inducidos con inmunizaciones en

ratón, usando adyuvantes (37) o antígenos de malaria incorporados a liposomas conteniendo lípido A (38). La calidad de las respuestas de anticuerpos contra las vacunas de malaria en humanos podrán entonces ser moduladas mediante esquemas de inmunización mejorados y nuevos adyuvantes desarrollados para usos humanos (39).

Referencias

1. Cohen S, McGregor IA, Carrington S. Gamma globulin and acquired immunity to human malaria. Nature 192, 1961: 733-737.
2. Bouharon-Tayoun H, Attanath P, Sabchareon A, Chonsuphajarsiddhi T, Druilhe P. Antibodies that protect humans against *Plasmodium falciparum* blood stages do not on their own inhibit parasite growth *in vitro* but act in cooperation with monocytes. J Exp Med 172, 1990: 1633 -1641.
3. Bouharon-Tayoun H, Oeuvray C, Lunel L, Druilhe P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages. J Exp Med 182, 1995: 409-418.
4. Druilhe P, Sabchareon A, Bouharon-Tayoun H, Oeuvray C, Perignon J-L. *In vitro veritas:* lessons from immunoglobulin-transfer experiments in malaria patients. Ann Trop Med Parasitol 91 (Suppl. 1), 1997: S37- S53.
5. Bouharon-Tayoun H, Druilhe P. *Plasmodium falciparum* malaria: evidence for an isotype imbalance which may be responsible for the delayed acquisition of protective immunity. Infect Immun 60, 1992: 1473-1481.
6. Groux H, Gysin J. Opsonisation as an effector mechanism in human protection against asexual blood stages of *Plasmodium falciparum*: functional role of IgG subclasses. Res Immunol 141, 1990: 529- 542.
7. White WI, Evans CB, Taylor DW. Anti-malarial antibodies of the immunoglobulin G2a isotype modulate parasitaemias in mice infected with *Plasmodium yoelii*. Infect Immun 59, 1991: 3547-3556.
8. Waki S, Uehara S, Kanbe K, Nariuch H, Suzuki M. Interferon-gamma and the induction of protective IgG2a antibodies in non-lethal *Plasmodium berghei* infections in mice. Parasite Immunol 17, 1995: 503-508.
9. Groux H, Perrault R, Garraud O, Poingt JP, Gysin J. Functional characterisation of the antibody-mediated protection against blood stages of *Plasmodium falciparum* in the monkey *Saimiri sciureus*. Europ J Immunol 20, 1990: 2317-2323.
10. World health organization. World malaria situation in 1993. Part II. Weekly Epid Rec 71,1996: 25-29.
11. Ferreira MU, Kimura EAS, Souza JM, Katzin AM.The isotype composition and avidity of naturally acquired anti-*Plasmodium falciparum* antibodies: differential patterns in clinically immune Africans and Amazonian patients. Am J Trop Med Hyg 55, 1996: 315- 323.
12. Camargo LMA, Ferreira MU, Krieger H, Camargo EP, Pereira da Silva LH. Unstable hypoendemic malaria in Rondônia (Western Amazon Region, Brazil): epidemic outbreaks and work-associated incidence in an agro-industrial rural settlement. Am J Trop Med Hyg 51, 1994: 16-25.
13. Camargo LMA, Dal Colletto GMD, Ferreira MU, Gurgel SM, Escobar AL, Marques A, Krieger H, Camargo EP, Pereira da Silva Hypoendemic malaria in Rondonia (Brazil, Western Amazon Region): seasonal variation and risk groups in an urban locality. Am J Trop Med Hyg 55, 1996: 32-38.
14. Deane LM. Malaria vectors in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 81 (Suppl. 2), 1986: 5-14.
15. Ferrari JO. A saúde dos indios: um desafio sem endereço. Os Karitiana de Rondônia. Disertación de Maestría de la Escuela de Salud Pública, Universidad de São Paulo, Brasil, 1996
16. Warrell DA, Molyneux ME, Beales PF. Severe and complicated malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 84 (Suppl. 2), 1990: 1-65.

17. Gysin J, Moisson P, Pereira da Silva L, Druilhe P. Antibodies from immune African donors with a protective effect in human *Plasmodium falciparum* infection are also able to control asexual blood forms of the parasite in *Saimiri* monkeys. Res Immunol 147, 1996: 397- 401.
18. Jefferis R, Reimer CB, Skvaril F, De lange G, Ling NR, Lowe J, Walker MR, Phillips DJ, Aloisio CH, Wells TW, Vaerman JP, Magnusson CG, KUbagawa H, Cooper M, Vertdal F, Vandvik B, Haaijman JJ, Makela O, Sarnesto A, Lando Z, Gergely J, Rajnavolgyi E, Laslo G, Radl J, Molinaro Evaluation of monoclonal antibodies having specificity for human IgG subclasses: results of an IUIS/WHO collaborative study. Immunol Lett 10, 1985: 223-252.
19. Wahlgren M, Berzins K, Perlmann P, Persson M. Characterization of the humoral immune responses in *Plasmodium falciparum* malaria. II. IgG subclass levels of anti-*P. falciparum* antibodies in different sera. Clin Exp Immunol 54, 1983: 135- 142.
20. Herrington LJ, Weiss NS, Beresford SAA, Wolfla DM, Feng Z, Scott CR. Lactose and galactose intake and metabolism in relation to the risk of epithelial ovarian cancer. Am J Epidemiol 141, 1995: 407- 416.
21. Burattini MN, Massad E, Coutinho FAB, Baruzzi RG. Malaria prevalence amongst Brazilian Indians assessed by a new mathematical model. Epidemiol Infect 111, 1993: 525±-537.
22. Thelu J, Sheik-Zakiuddin I, Boudin C, Peyron F, Picot S, Ambroise-Thomas P. Development of natural immunity in *Plasmodium falciparum*: study of antibody response by western immunoblotting. J Clin Microbiol 29, 1991: 510-518.
23. Ferreira MU, Kimura EAS, Camargo LMA, Alexandre COP, Pereira da Silva LH, Katzin AM. Antibody responses against *Plasmodium falciparum* exoantigens and somatic antigens: a longitudinal survey in a rural community in Rondonia, western Brazilian Amazon. Acta Trop 57, 1994: 35- 46.
24. Wahlgreen M, Perlmann H, Berzins K, Bjorkman A, Larsson A, Ljungstrom I, Patarroyo ME, Perlmann P. Characterization of the humoral immune responses in *Plasmodium falciparum* malaria. III. Factors influencing the coexpression of antibody isotypes (IgM and IgG-1 to 4). Clin Exp Immunol 63, 1986: 343-353.
25. Oudart J-L, Mar ID, Sow A, Garre MT. Fluorescent antibodies in the cerebrospinal fluid and serum of patients suspected of cerebral malaria caused by *Plasmodium falciparum*. Bull Soc Path Exot 69, 1976: 224-231.
26. Erunkulu OA, Hill ASV, Kwiatkowski DP, Todd JE, Iqbal J, Berzins K, Riley EM, Greenwood BM. Severe malaria in Gambian children is not due to lack of previous exposure to malaria. Clin Exp Immunol 89, 1992: 296-300.
27. Brasseur P, Ballet J-J, Druilhe P. Rasseur, P., Ballet, J.-J. & Druilhe, P. (1990). Impairment of *Plasmodium falciparum*-specific antibody response in severe malaria. J Clin Microbiol 28, 1990: 265-268.
28. Sarthou J-L, Angel G, Aribot G, Rogier C, Dieye A, Toure Balde A, Diatta B, Seignot P. Roussilhon C. Prognostic value of anti-*Plasmodium falciparum*-specific immunoglobulin G3, cytokines, and their soluble receptors in West African patients with severe malaria. Infect Immun 65,1997: 3271-3276.
29. De Savigny D, Voller A The communication of ELISA data from the laboratory to clinician. J Immunoassay 1, 1980: 105-128.
30. Gysin J, Gavoille S, Mattei D, Scherf A, Bonnefoy S, Mercereau-Puijalon O, Feldman T, Muçeller-Hill B, Pereira da Silva L. *In vitro* phagocytosis inhibition assay for the screening of potential candidate antigens for sub-unit vaccines against the asexual blood stage of *Plasmodium falciparum*. J Immunol Methods 159, 1993: 209-219.
31. Perrault R, Mercereau-Puijalon O, Mattei D, Bourreau E, Garraud O, Bonnemains B, Pereira da Silva L, Michel JC. Induction of opsonising antibodies after injection of recombinant *Plasmodium falciparum* vaccine candidate antigens in preimmune *Saimiri sciureus* monkeys. Infect Immun 63, 1995: 554-562.
32. Good MF. Development of immunity to malaria may not be an entirely active process. Parasite Immunol 17, 1995: 55-59.

33. Smith NC. An immunological hypothesis to explain the enhanced susceptibility to malaria during pregnancy. Parasitol Today 12, 1996: 4-6.
34. Brière F, Servet-Delprat C, Bridon JM, Saint-Remy J-M, Banchereau J. Human interleukin 10 induces naive surface immunoglobulin D1 (sIgD 1) B cells to secrete IgG1 and IgG3. J Exp Med 179, 1994: 757-762.
35. Shi YP, Sayed U, Qari SH, Roberts JM, Udhayakumar V, Oloo AJ, Hawley WA, Kaslow DC, Nahlen BL, Lal, AA. Natural immune response to the C-terminal 19-kilodalton domain of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1. Infec Immun 64, 1996: 2716-2723.
36. Ferrante A, Rzepczyk CM. Atypical IgG subclass antibody responses to *Plasmodium falciparum* asexual stage antigens. Parasitol Today 13, 1997: 145-148.
37. Kenney JS, Hughes BW, Masada MP, Allison AC. Influence of adjuvants on the quantity, affinity, isotype and epitope specificity of murine antibodies. J Immunol Methods 121, 1989: 157-166.
38. Glenn GM, Rao M, Richards RL, Matyas GR, Alving CR. Murine IgG subclass antibodies to antigens incorporated in liposomes containing lipid A. Immunol Letters 47, 1995: 73-78.
39. Ferreira MU. Malaria vaccine trials: the missing qualitative data. Immunol Cell Biol 74, 1996: 301-305.

Evaluación de la resistencia *en vivo* de la malaria vivax a cloroquina en el estado de Rondônia (Amazonía occidental), Brasil

Juan M. Villalobos-Salcedo, Juan Abel Rodríguez, Joana d'Arc Nieves, Luiz H. Pereira da Silba, Centro de Investigación en Medicina Tropical, Secretaría de Salud de Rondônia, Brasil. Departamento de Medicina, Universidad Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil

Fue realizado un estudio clínico para evaluar la sensibilidad del PLASMODIUM VIVAX a cloroquina, en los pacientes de la clínica de malaria del centro de investigación en Medicina Tropical (CEPEM) de Porto Velho. El esquema terapéutico utilizado fue el recomendado por la Fundación Nacional de Salud que combina cloroquina (3 días) y primaquina (14 días). Las dosis de los comprimidos usados fue analizada por el Instituto de Tecnología en Fármacos (Far-manginhos) de la Fundación Oswaldo Cruz que determinó la dosificación exacta de los mismos. Fueron elaborados protocolos experimentales para asegurar la absorción de los medicamentos en las dosis indicadas. El acompañamiento clínico y parasitológico de los pacientes fue realizado diariamente hasta la negativización de la gota gruesa, una vez por semana en el primer mes y después mensualmente hasta completar los 90 días. Entre los 80 pacientes que se habían incorporado al estudio y habían completado por lo menos 30 días del acompañamiento, no fueron observados casos de reactivación que pudieran indicar resistencia a la cloroquina. De los 73 pacientes que terminaron el acompañamiento de 90 días, ocho (10.9%) podrían corresponder a posibles recaídas, todos después de 45 días de terminado el tratamiento. Se realizaron asimismo estudios de biología molecular en los parásitos de primoinfección y recaída, como también se estudió la dosificación sérica de la cloroquina. Concluimos que la asociación de cloroquina y primaquina usada para el tratamiento de la malaria vivax, continúa siendo eficiente sin existir evidencia de resistencia del P. vivax *a la cloroquina en la región de Porto Velho, Rondônia.*

Palabras clave: Rondônia, malaria, resistencia, Amazonia, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax.*

Introducción

Las tres especies menos virulentas de los parásitos de la malaria hasta hace poco tiempo seguían siendo aparentemente sensibles a los medicamentos antimaláricos. Sin embargo, estudios limitados desarrollados en África (Brandicourt, Brasseur, Druilhe, datos inéditos) sugieren que la resistencia a la cloroquina se ha extendido al *Plasmodium ovale* desde 1987 y al *P. vivax* desde 1989.

La malaria por *P. vivax* es la malaria humana más extensamente distribuida en el mundo y, hasta hace poco tiempo, el tratamiento con la asociación de cloroquina y primaquina era segura y eficaz , curando la fase aguda y previniendo la infección crónica. En años pasados, fueron notificados casos de resistencia clínica, inicialmente

en Papua Nueva Guinea (1) y más tarde en otras regiones de sudeste asiático (2-7). En contraste con otros estudios desarrollados en la misma región señalan la susceptibilidad completa del *P. vivax* a la combinación de cloroquina y primaquina, cuando es utilizada en pacientes adultos (8-10). Estos resultados en conflicto pueden indicar la existencia de una distribución irregular de la resistencia y acentúa la necesidad de evaluar en forma continua la sensibilidad de este parásito a las drogas en uso.

En las Américas, el primer registro de resistencia fue realizado en Brasil por Garavelli y Corti (11), sin embargo, algunos autores concluyeron que se trataba de un caso de múltiples recaídas y no de verdadera resistencia (12,13). En 1996, Phillips (14) describe el primer caso de resistencia verdadera en Sudamérica, en la Guyana, y más recientemente Padilla lo hace para Guatemala (15), Alecrym en la amazonia brasilera (16) y Soto en Colombia (17).

La resistencia de *P. vivax* a la cloroquina resulta evidente cuando la parasitemia persiste después del curso del tratamiento normal. Sin embargo, las recaídas, que por definición derivan de los hipnozoítos en el hígado, no pueden ser confundida con la resistencia. Es posible que la capacidad de *P. vivax* de causar recaídas, no visto con *P. falciparum*, es la causa en parte de las dificultades actuales tanto en el tratamiento como en el control. Este fenómeno ha cautivado los parasitólogos por más que un siglo y sus mecanismos permanecen son todavía un enigma (18). Algunos estudios clínicos demuestran que infecciones adquiridas en diversas regiones del mundo, tienen patrones de recaídas diferentes (19,20). Por ejemplo, cepas de *P. vivax* originarias de las zonas tropicales, desarrollan una infección primaria precoz seguida de un período corto de estado latente (5-10 semanas) antes de la recaída. En contraste, cepas de *P. vivax* de regiones templadas, tienen un período variable de incubación antes de la infección primaria, seguido por un largo período de latencia (5-10 meses) antes de la primera recaída (revisado en 19 y 20). Estas recaídas pueden ser reproducidas en diversos modelos animales y parecen ser independiente del estado inmune del individuo (18). De esta forma, el tiempo transcurrido entre la infección primaria y la recaída depende directamente de la cepa, por lo tanto es dependiente de la carga genética del esporozoíto creándose el concepto de taquiesporozoíto (cepas con corto período de latencia) y bradiesporozoíto (cepas con largo período de latencia (21,22).

Con el objeto de descubrir si existe una posible distribución irregular de la resistencia de *P. vivax* a la cloroquina en la región amazónica y entender el comportamiento de las recaídas de las cepas locales, se desarrolló este estudio médico de evaluación de la sensibilidad *in vivo* de la malaria vivax al esquema terapéutico usado en el Estado de Rondônia, región occidental de la amazonia de Brasil.

Materiales Y Métodos

Área de estudio- Centro de Investigación de Medicina Tropical de Rondônia (CEPEM), Secretaría de Salud del Estado de Rondônia, ciudad de Porto Velho.
Tipo de estudio - Análisis clínico controlado de la sensibilidad *in vivo*.

Esquema de tratamiento - Cloroquina 10mg/kg/dosis, por vía oral, como dosis única el primer día, 7,5mg/kg/dosis los días segundo y tercero, asociada con primaquina 0,25mg/kg/dosis, en dosis diarias durante 14 días (23).
Población de estudio - Pacientes que asistieron al CEPEM, con diagnóstico parasitológico, de una o más cruces, de malaria por *P. vivax*, con edad mayor de 12 años, residencia fija en Porto Velho, cuadro clínico de malaria no complicada, consentimiento formal escrito. Fueron excluidas las gestantes, pacientes que habían utilizado drogas antimaláricas en los 15 días anteriores y pacientes con otras patologías que impidieran el cumplimiento de los protocolos establecidos.
Diagnóstico parasitológico - Examen de gota gruesa y extendido con coloración de Giemsa, según la técnica de Walker, examinada en microscopio (24). Cada lámina fue examinada por dos técnicos diferentes. El conteo de los parásitos fue realizado por 200 leucocitos y expresado sobre la base de 5000 leucocitos/ml, según la técnica de la OMS adaptada a la realidad de la región. El examen, con objetivo de inmersión, fue considerado negativo cuando no fueron encontrados parásitos en 200 campos examinados (25).
Flujograma - Después llenar la ficha clínica se recolectó una muestra de 10 ml de sangre venosa para los exámenes bioquímicos (transaminasas, bilirrubinas, urea y creatinina), la dosificación de cloroquina plasmática y biología molecular (PCR). Luego de administrada la primera dosis el paciente era conducido hasta su residencia. Se realizó el conteo parasitario diario hasta la negativización. La administración de las medicinas fue supervisada por un miembro del equipo de investigación. El control de curación se realizó a los días 7, 14, 21, 28, 35, 60, y 90. Cuando un paciente era detectado positivo en el seguimiento junto a la muestra para gota gruesa, se tomó una nueva muestra de sangre venosa para la caracterización de la cepa. No se utilizó ninguna otra droga antimalárica en los pacientes durante los 90 días de seguimiento, excepto en los casos de recaída cuando los pacientes fueron tratados nuevamente con el esquema tradicional.
Criterios de la evaluación terapéutica -
Resistencia: Se utilizaron los criterios para las pruebas *in vivo* descritas para *P. falciparum* (22): Sensible (S): pacientes en los que desaparece la parasitemia en las primeras 48 hs (extendido hasta 96 hs) y que se mantuvieron así en todos los exámenes de controles (días 7 a 35). Resistente tipo I (RI): pacientes con gota gruesa negativa en las primera 48 hs (extendido hasta 96 hs) que se vuelven positivos antes del día 14 postratamiento. (RII) Resistente tipo II: pacientes con disminución de la parasitemia sin negativización del examen. Resistente tipo III (RIII): pacientes en los cuales no disminuyó cuantitativamente la parasitemia (y en ocasiones aumenta) en los controles a 24 y 48 hs postratamiento. Hemos definido la sensibilidad a primaquina como la ausencia de parasitemia asexuada por *P. vivax* en pacientes luego de 3 meses de seguimiento. La resistencia o baja sensibilidad de primaquina como la presencia de formas asexuadas de *P. vivax* en pacientes luego de 30 días y hasta 90 días postratamiento.
Definición de cura - Aquellos pacientes con gota gruesa negativa a los días 4,7, 14, 21, 28, 35, 60 y 90.

Definición de recaída - Aquellos pacientes con gota gruesa positiva después del día 30 de tratamiento y hasta el día 90 de seguimiento.
Análisis estadístico - Todos los datos se analizaron mediante proporciones para poder ser comparados con los datos de otros estudios similares.
Consideraciones éticas - El ensayo clínico se realizó de acuerdo con los principios éticos postulados por la Asamblea Médica Mundial de 1975 y del *Ministério da Saúde* (Resolución 196 del 10 de octubre de 1996), que se refiere a experimentación en humanos. El proyecto de investigación fue analizado por la Comisión de Ética del CEPEM y por el Consejo Regional de Medicina de Rondônia y se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los participantes del estudio.

Resultados

Características de los pacientes - Entre el 12/11/2001 y el 23/09/2002, ingresaron al estudio 80 pacientes. Las características principales de estos se resumen en la tabla 1. Los síntomas referidos al momento del ingreso están resumidos en la tabla 2, destacándose la importancia de la fiebre (96,3%) como el principal de estos síntomas. El examen físico mostró que 49 pacientes (61,3%) presentaban temperatura axilar > 37,5 ºC, mientras los restantes no registraban fiebre en el examen clínico inicial. El resto de los datos obtenidos en el examen clínico y de laboratorio al ingreso se resumen en la tabla 3.

Tabla 1. Características de la población

Características	
Pacientes (N)	80
Sexo: Hombre/Mujer	60/20
Edad (años): Media *-desviación estándar-*	31,9 - *12,7* -
Residencia en Rondônia (años): Media *-desviación estándar-*	15,9 - *8,9* -
Antecedentes de malaria: Si /No	70/10
Número de episodios de malaria: 1-4 / 5 o +	39/31
Último episodio: Menos 3 meses/ más 3 meses	22/48

Tabla 2. Síntomas principales referidos por los pacientes

Síntoma	**Número de pacientes**	**Porcentual**
Fiebre	77	96,3
Cefalea	76	95,0
Artralgia	62	77,5
Escalofríos	69	86,3
Anorexia	45	56,3
Náuseas/Vómito	53	66,3
Sudoración	57	71,3
Mialgia	68	85,0

Tabla 3. Signos vitales en el examen clínico y de laboratorio al ingreso

Signo vital	**Total**
Temperatura:< 37,5^{0}C/> 37,5^{0}C	49/31
Pulso: < 80/> 80	28/52
Hepatomegalia: Si/no	35/45
Esplenomegalia. Si/no	18/62
Examen de laboratorio	
Parasitemia inicial: Media *-desviación estándar-*	6,406 - *4,063* -
Bilirrubina directa: Media *-desviación estándar-*	0,54 - *0,37* -
Bilirrubina indireta: Media *-desviación estándar-*	0,86 - *0,45* -
Alaninoaminotransferasa: Media *-desviación estándar-*	54,55 - *49,91* -
Aspartatoaminotransferasa: Media *-desviación estándar-*	72,92 - *64,17* -
Urea : Media *-desviación estándar-*	31,7 - *8,96* -
Creatinina: Media *-desviación estándar-*	1,05 - *0,16* -

Pacientes excluídos - Luego de su ingreso al estudio, y a pesar de cumplir con todos los criterios de selección, se excluyeron 9 pacientes debido a la imposibilidad de supervisión de todas las dosis del esquema de tratamiento estipuladas en la metodología.

Recaídas - Presentaron posibles recaídas 8 pacientes y sus características se resimen en la tabla 4, el tiempo medio de recaída fue de 73,9 días.

Tabla 4. Características principales de los pacientes con recaída

ID	Fecha ingreso	Malaria previa	Fecha última malaria	Especie última malaria	Número episodios malaria	Parasitemia inicial	Fecha recaída	Días entre ingreso y recaída
6	26/11/01	si	06/01	NS	3	3,000	06/02/02	72
7	26/11/01	si	1990	NS	4	13.400	21/03/02	115
21	30/01/02	si	1982	*vivax*	1	4.700	19/04/02	79
23	15/02/02	si	12/01	*vivax*	20	1.626	29/04/02	73
27	28/02/02	no	-	-	-	2.535	17/05/02	78
54	27/05/02	si	2000	*falciparum*	2	1.365	10/07/02	44
56	06/06/02	si	NS	*vivax*	1	3.364	22/08/02	77
61	05/07/02	si	06/02	*vivax*	1	2.054	27/08/02	53

ID: número de paciente en estudio. NS: no sabe

Porcentual de curación - de los 80 pacientes que permanecieron en el estudio 73 (91,3%) completaron los tres meses de seguimiento y todos fueron acompañados al menos por 35 días.

Sensibilidad a la cloroquina- Todos los pacientes negativizaron la gota gruesa en las primeras 96 hs, sin recaídas en los controles de los días 7, 14, 21, 28 y 35 postratamiento, mostrando un porcentual de curación del 100% a la cloroquina.
Sensibilidad a la primaquina- Considerando sólo los 73 pacientes que completaron el seguimiento a 3 meses, presentaron recaída 8 con un porcentual de curación del 89%.
Eficacia de los medicamentos - el tiempo de negativización de la parasitemia fue 46,3hs +/- 23,1 hs y los datos se muestran en la tabla 5.
Efectos colaterales de medicación - Fueron mínimos y autolimitados. Los síntomas más comunes fueron cefalea y mareos. No fueron registrados fenómenos hemolíticos
El análisis molecular de las recaídas se publicará en un trabajo complementario.

Tabla 5. Negativización de la parasitemia

Parámetros	Pacientes
1. Número de pacientes con gota gruesa negativa a la	
hora 24	19
hora 48	70
hora 72	77
hora 96	80
2. Tiempo de negativización de la parasitemia (horas):	
Media - desviación estándar -	46,2 - *23,1* -

Discusión

Los primeros registros de resistencia *P. vivax* a la cloroquina fueron de resistencia tipo I (1,2,4) luego el problema se agravó siendo mas del 30% de las resistencias observadas recientemente de tipo II y III (7). Es importante definir el término resistencia y diferenciarlo claramente del fenómeno de recaídas en la malaria vivax. Según la OMS la resistencia es "la habilidad de una cepa parasitaria de sobrevivir y/o multiplicarse a pesar de la administración y absorción del medicamento en doses iguales y aún mayores de las utilizadas normalmente, siempre demtro del límite de tolerancia del individuo" (26). Esta definición, creada para definir la resistencia de *P. falciparum al grupo de las* das 4-aminoquinoleinas*,* puede ser extendida a otras especies y medicamento antimaláricos possa ser estendida a outras espécies e a outros medicamentos antimaláricos, especialmente la cloroquina. Con el surgimiento de cepas resistentes de *P. vivax* el fenómeno adquirió una nueva dimensión.

La resistencia a la malaria vivax es evidente cuando persisten formas asexuadas luego de aplicar un esquema normal de tratamiento con cloroquina (1,5g en 3 días). Las “recurrencias” luego de la negativización del examen clínico han sido normales en las notificaciones de resistencia con algunas excepciones (27) por lo que es necesario diferenciar reactivación de recaida. la primera corresponde a la parasitemia originaria de trofozoítos sanguíneos subpatentes, la segunda deriva de hipnozoítos quiescentes del hígado. Por esto la decisión de clasificar una cepa de *P. vivax* como

resistente a la cloroquina, requeire del conocimiento preciso del intervalo transcurrido entre la administración del tratamiento y el inicio de la parasitemia recurrente.

Recientemente fue propuesto un consenso para interpretar la sensibilidad *in vivo* de *P. vivax* (28). Al final de la década de 1940 se estudiaron pacientes infectados con cepas de *P. vivax* con recaída precoz y fue señalada la ausencia de rcurrencia antes del día 35 de postratmiento con cloroquina. Los niveles plasmáticos de este medicamento (141 ng/ml) eran activos aún después del tratamiento previniendo o al menos retardando, la aparición del período patente. De esta manera toda parasitemia recurrente en el período de 28 días postratamiento con cloroquina constituye una evidencia clara de resitencia. Si esta recurrencia aparece en los primeros 16 días representa sin duda una reactivación.

Según estos criterios la sensibilidad de *P. vivax* a la cloroquina en la región de Porto Velho (Rondônia) sería de 100%, confirmando los estudios anteriores en esta misma región (29) aunque diferentes de otros realizados en el sudeste asiático y en las Américas. En Myanmar en el seguimiento de 50 pacientes con malaria vivax tratados con cloroquina (1,5g en 3 días) se encontraron 7 (14%) fueron resistentes, 1 RI , 3RII y 3-RIII (7). sin embaro sim el esquema de cloroquina utilizado fue el mismo que en este estudio, la administración de primaquina fue direrente, ya que ellos administraron 45 mg un día luego de la cloroquina (4º día de tratamiento), y posteriormente una vez por semana por 8 semanas. es importante señalar esta diferencia ya que en la *8ª Reunião Nacional de Pesquisadores em Malária* realizada en Porto Velho, se planteó la hipótesis que una administración simultánea de los medicamentos en el esquema tradicional podría enmascarar la resistencia de *P. vivax* a la cloroquina, hecho que debe ser investigado. De los trabajos realizados en América, en Guatemala se encontró 18,6% de resistencia (29/156 pacientes), 24 RI y 5 RII (15). Más recientemente en Colombia de registró una resistencia de 11% (3/27 pacientes), tanto de tipo R I como R II (17). En la región amazónica se notificó un caso de resistencia de *P. vivax* de tipo RII para cloroquina y RIII para mefloquina en la región de Manaus, Estado de Amazonas (16), el cual a pesar de la administración supervisada del medicamento los autores llamaron la atención sobre la imposibilidad de correlación con los niveles plasmáticos de cloroquina. ¿Será que estos estudios demuestran un patrón de resistencia con distribución geogrñafica irregular o simplemente diferencias metodológicas? En relación a los estudios de sensibilidad una cosa es cierta. los niveles plasmáticos del medicamento deben ser medidos para confirmar la existencia de resistencia, y esto no se encuentra en la literatura proveniente de América.

Historicamente la respuesta de los parásitos de malaria a las drogas demostró siempre una gran variabiliadad. Por ejemplo para obtener un mismo efecto terapéutico la cepa Chesson de *P. vivax* aislada de Nueva Guinea requeire más de dos veces la dosis de quinina que la cepa McCoy de Florida (30). Resulta evidente que la respuesta de los parásitos a los medicamentos depende no solamente de la especie sino también de la cepa y del origen geográfico del aislado, ya que algunas tendrían un grado espontáneo de tolerancia y requieren dosis mayores de medicamento (31,32).

En lo que se refiere a la cura total y recaída en malaria vivax podríamos afirmar que las diferentes cepas de *P. vivax* requerirían dosis diferente de primaquina para esta finalidad y que, por lo tanto, el esquema de 0,25mg/kg/día por 14 días (15mg/día en un adulto de 60kg) establecido hace mñas de 50 años y adoptado casi mundialmente, sería eficaz para algunas cepas e ineficaz para otras, llevando a una selección de las primeras. Es posible que algunos de las registros de resistencia a cloroquina sean en verdad recaídas tratadas con dosis sub-terapéuticas de primaquina, sea esto por ser una cepa naturalmente menos sensible (33), o por una dosis inadecuada de acuerdo con el peso del paciente (34) o peor aún por la baja calidad del medicamento como ya fue descrito en la región amazónica (35).

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran una proporción de cura total con primaquina de 89%. Con estos resultados se pued einferir que el esquema tradicional, administrado con suoervisión, garantiza un porcentual de curación semejante al de 30 años atrás (36).

En conclusión podemo decir que la sensibilidad a la malaria vivax al esquema que asocia cloroquina con primaquina (3 y 14 días respectivamente) en la región de Porto Velho, Estado de Rondônia, es de un 100%, y que por lo tanto la resistencia del parásito a los medicamentos no es una de las causas de bajo impacto de los programas de control.

cuando comparamos nuesteros resultados con los presentados por Alecrim (37), de la *Fundação de Medicina Tropical do Amazonas*, en los cuales la resistencia a la cloroquina en Manaus es de casi el 5%, se torna obligatorio aclarar si este fenómeno se debe al uso de metodologías diferentes en los estudios, o por el contrario es el reflejo de un patrón de distribución aleatorio, lo cual deberá ser motivo de más estudios.

Referencias

1. Rieckmann KH, Davis, DR, Halton DC. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine? *Lancet* ii, 1989: 1183-1184.
2. Baird JK, Barsi H, Purnomo, Bangs MJ, Subianto B, Patchen L, Hoffman SL. Resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax* in Irian Jaya, Indonesia. Am J Trop Med Hyg 44, 1991: 547-552.
3. Schwartz IK, Lackritz EM, Patchen LC. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* from Indonesia (letter). New England J Med 324, 1991: 927.
4. Schuurkamp GJ, Spicer PK, Kerreu RK, Bulongol PK, Rieckmann KH. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* in Papua New Guinea. Trans R Soc trop Med Hyg 86, 1992: 121-122.
5. Murphy GS, Barsi H, Purnomo, Andersen EM, Bangs MJ, Mount DL, Gorden J, Lal AA, Purwokusumo AR, Harjosuwamo S, Sorensen K, Hoffman SL. Vivax malaria resistant to treatment and prophylaxis with chloroquine**.** Lancet 341, 1993: 96-100.
6. Myat-Phone-Kyaw, Myint-Oo, Myint-Lwin, Thaw-Zin; Kyin-Hla-Aye, Nwe-Nwe-Yin. Emergence of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* in Myanmar (Burma). Trans R Soc Trop Med Hyg 87, 1993: 687.
7. Marlar-Than, Myat-Phone-Kyaw, Aye-Yu-Sou, Khaing-Khaing-Gyi, Ma-Sabai, Myint-Oo. Development to resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax* in Myanmar. Trans R Soc Trop Med Hyg 89, 1995: 307-308.
8. Looreesuwan S, Harinasuta T, Chongsuphajaisiddhi T. Drug resistant malaria with special reference to Thailand. South Asian J Trop Med Publ Health 23, 1992: 621-634.

9. Pukrittayakamee S, Vanijanonta S, Chantra A, Clemens R, White NJ. Blood stage antimalarial efficacy of primaquine in *Plasmodium vivax* malaria. J Infec Dis 169, 1994: 932-935.
10. Tan-Aariya P, Na-Bangchang K, Tia T, Limpaibul L, Brockelman CR, Karbwang J. Clinical response and susceptibility *in vitro* of *Plasmodium vivax* to the standard regimen of chloroquine in Thailand. Trans R Soc Trop Med Hyg 89, 1995: 426-429.
11. Garavelli PL, Corti E. (1992). Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*: the first case in Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg 86, 1992: 128.
12. Loyola EB, Rodriguez MH. Chloroquine resistant *Plasmodium vivax* in Brazil? Trans R Soc Trop Med Hyg 86, 1992: 570.
13. Bada JL, Cabezos J. Chloroquine resistant *Plasmodium vivax* in Brazil? Trans R Soc Trop Med Hyg 86, 1992: 570.
14. Phillips EJ, Keystone JS, Kain KC. (1996). Failure of combined chloroquine and high-dose primaquine therapy for *Plasmodium vivax* malaria acquired in Guyana, South America. Clin Infec Dis 23, 1996: 1171-1173.
15. Padilla NR, Cordon-Rosales C, Egglete T.Response of *Plasmodium vivax* strains to treatment: *in vivo* resistance and relapsing pattern. Am J Trop Med Hyg 59, 1998: 264.
16. Alecrim MGC, Alecrim W, Macedo V. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine (RII) and mefloquine (RIII) in Brazilian Amazon region. Rev Soc Bras Med Trop 32, 1999: 67-68.
17. Soto J, Toledo J, Gutierrez P, Luzz M, Llinas N, Cedeño N, Dunne M, Berman J. *Plasmodium vivax* clinically resistant to chloroquine in Colombia. Am J Torp Med Hyg 65, 2001: 90-93.
18. Cogswell FB. The hypnozoite and relapse in primate malaria. Clin Micr Review 5, 1992: 26-35.
19. Coatney GR, Cooper WC, Ruhe DS, Young MD, Burgess RW. Studies in human malaria. The life pattern of sporozoite-induced St. Elizabeth strain vivax malaria. Am J Trop Med Hyg 51, 1950: 200-215.
20. Contacos PG, Collins WE, Jeffery GM, Krotoski WA, Howward WA. Studies on the characterization of *Plasmodium vivax* strains from Central America. Am J Trop Med Hyg 21, 1972: 707-712.
21. Coatney GR. Relapse in malaria - an enigma. J Parasitol 62, 1976: 3-9.
22. Krotoski WA. Discovery of the hypnozoite and a new theory of malaria relapse. Trans R Soc Trop Med Hyg 79: 1985: 1-11.
23. Superintendência de Controle de Endemias – Sucen. Manual Terapêutico da Malária. São Paulo, SUCEN, 1998
24. World Health Organization (WHO). Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneve, 1991
25. World Health Organization (WHO). Chemotherapy of malaria and resistance to antimalarials. WHO Technical Report Series 529, 1973
26. World Health Organization (WHO). Resistance of malaria parasites to drugs. WHO Technical Report Series 296, 1965.
27. Baird JK, Basri H, Subiano B, Fryauff DJ, Mcelroy PD, Leksana B, Richie TL, Masbar S, Wignall FS, Hoffman SL. (1995). Treatment of chloroquine-resitant *Plasmodium vivax* with chloroquine and primaquine or halofantrine. J Infec Dis 171, 1995: 1678-1682.
28. Baird JK, Leksana B, Masbar S, Fryauff DJ, Sutanihardja MA, Suradi, Wignall FS, Hoffman SL. Diagnosis of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax*: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. Am J Trop Med Hyg 56, 1997: 621-626.
29. Villalobos-Salcedo JM, Tada MS, Kimura E, Menezes MJ, Pereira da Silva LH. In-vivo sensitivity of Plasmodium vivax isolates from Rond nia (western Amazon region, Brazil) to regimens including chloroquine and primaquine. Ann Trop Med Parasitol 94, 2000: 749 - 758.
30. World Health Organization (WHO). Parasitology of malaria. WHO Technical Report Series 433, 28-29, 1969
31. Bruce-Chwatt L. Changing tides of chemotherapy of malaria. BMJ i, 1964: 581-586.
32. Schwartz E, Regev-Yochay G, Kurnik D. Short report: a consideration of primaquina dose adjustment for radical cure of *Plasmodium vivax* malaria. Am J Trop Med Hyg 62, 2000: 393 - 395.

33. Bunnag D, Karbwang J, Thanavibul A, Chittamas S, Ratanapongse Y, Chalermrut K, Bangshang KN, Harinasuta T. High dose of primaquine in primaquine resistant vivax malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 88, 1994: 218-219.
34. Luzzi GA, Warrell DA, Barnes AJ, Dunbar EM Treatment of primaquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria. Lancet 340, 1992: 310.
35. Petralanda I. Quality of antimalarial drugs and resistance to *Plasmodium vivax* in Amazonian region**.** Lancet 345, 1995: 1433.
36. Fisher GU, Gordon MP, Lobel HO, Runcik K. Malaria in soldiers returning from Vietnam. Am J Trop Med Hyg 19, 1970: 27-39.
37. Alecrim MGC. Resistência do *Plasmodium vivax* à cloroquina. Rev Soc Bras Med Trop 35 (Supl II), 2002:17- 18.

Dengue

Evaluación de un módulo escolar sobre dengue y *Aedes aegypti* dirigido a escolares en Honduras

Gustavo Adolfo Ávila Montes, Región Metropolitana, Secretaría de Salud, Tegucigalpa, Honduras; Mercedes Martínez, Unidad de Control de Vectores, Depto. Salud Ambiental, Tegucigalpa, Honduras; Catalina Sherman, Eduardo Fernández Cerna, Dirección General de Vigilancia de la Salud, Secretaría de Salud, Tegucigalpa, Honduras

Artículo original: Ávila Montes GA, Martínez M, Sherman C, Fernández Cerna E. Evaluación de un módulo escolar sobre dengue y *Aedes aegypti* dirigido a escolares en Honduras**.** Rev Panam Salud Pública 16, 2004: 84-94.

Se evaluó la eficacia de un curso sobre salud ambiental y dengue, impartido a escolares y encaminado a promover en las madres de familia cambios de comportamiento que lleven al control de los criaderos de Aedes aegypti*. En el período de abril a noviembre del 2002 se llevó a cabo un ensayo que incluyó cuatro escuelas públicas de la ciudad de Comayaguela, Honduras, dos de las cuales formaron el grupo de intervención (GI) y las otras dos el grupo control (GC). Las actividades de recolección de información pre y posintervención incluyeron pruebas de conocimiento a escolares y maestros, encuestas de conocimientos, actitudes y prácticas a madres de familia, encuestas entomológicas en las viviendas de los escolares, entrevistas en profundidad a madres de familia, observación participante en las aulas y un grupo focal con los maestros. En el ámbito escolar el GI mostró un incremento significativo en el conocimiento de los alumnos y maestros en las siguientes variables: dengue causado por un virus, ciclo de vida del vector y reducción de fuentes-la medida más eficaz de control del vector. La reducción de fuentes fue la variable de conocimiento que mostró mayor cambio en las madres del GI (75,1% frente a 65,6%, P=0,02). El cálculo de los índices entomológicos reveló reducción de estos en las comunidades intervenidas, aunque no fue significativo. Sin embargo, en comparación con el GC, sólo en la escuela donde el curso se aplicó adecuadamente fue posible lograr un cambio significativo en el índice de Bretaeu. La aplicación de intervenciones educativas dirigidas a escolares como parte de un plan integral para el control de* A.aegypti *constituye una manera eficaz de sensibilizar a maestros y padres de familia sobre el problema del dengue, y contribuye a inducir su participación en la reducción de fuentes en el ámbito doméstico*

Palabras clave: Dengue, dengue hemorrágico, *Aedes aegypti*, curso para escolares, módulo educativo.

Introduccion

La fiebre del dengue es una enfermedad de carácter endémico en la región centroamericana, y en el territorio de Honduras constituye un problema particularmente grave de salud pública, por cuanto en los últimos seis años ha mostrado un patrón francamente epidémico que afecta con particular fuerza a la Región de Salud Metropolitana, donde se ubica la capital del país, Tegucigalpa. La enfermedad fue detectada inicialmente en Honduras en 1977, y la primera epidemia

de dengue clásico, ocurrida al año siguiente, afectó a los departamentos ubicados en la costa norte. El virus circulante fue el serotipo 1, que produjo alrededor de 100 000 casos (1, 2). Más tarde, en 1987, se registró una epidemia en la ciudad de Choluteca, con 28 000 casos, causada por los serotipos 1 y 4 (3). Los primeros casos de dengue hemorrágico fueron notificados en 1991, y a partir de esa fecha se han venido presentando epidemias de dengue clásico y dengue hemorrágico. El serotipo 3 se identificó por primera vez en 1995, suceso que coincide con la primera epidemia de dengue hemorrágico ocurrida en el país, la cual produjo 24 casos. La segunda epidemia, ocurrida en 1997, produjo 12 casos, y la que abatió el país en 1998, 75 casos (4). El serotipo 2, que se hizo presente de nuevo a partir de 1998, fue el causante de las epidemias de los años 2000 y 2002, las cuales incluyeron, respectivamente, 314 casos (con 10 muertes) y 863 casos (con 17 muertes) de dengue hemorrágico (5).

Tal deterioro de la situación epidemiológica puede explicarse por una combinación de factores que ya han apuntado otros autores: limitado apoyo financiero, disminución de la eficacia de la vigilancia entomológica (actividades para determinar los cambios en la distribución geográfica del vector y facilitar la toma de decisiones) y del control químico, incremento en el número de depósitos y recipientes artificiales y populosos asentamientos urbanos marginales carentes de servicios públicos entre otros (6-8). El fracaso en el control de *Aedes aegypti* mediante las medidas tradicionales de combate químico ha llevado a buscar alternativas de control integrado en el marco de la atención primaria y la participación comunitaria.

Una de esas estrategias ha sido el desarrollo de cursos especiales sobre dengue y *Aedes aegypti*, dirigidos a escolares y encaminados a promover en los jefes de familia cambios de comportamiento que lleven a la eliminación y al control de criaderos (9-12). Se reconoce que los niños tienen una enorme capacidad para aprender nuevas destrezas y conceptos. Una vez que creen en algo no tienen reservas en su entusiasmo y convicción y tratan de persuadir a los padres y amigos a aceptar una nueva idea o conducta. En muchos países en desarrollo, dados los altos niveles de analfabetismo en los adultos, los niños son los primeros en la familia en aprender a leer y, con ello, en aprender un nuevo lenguaje. En tales circunstancias, llegan a convertirse en maestros de sus padres, familiares y amigos (13).

En el período comprendido entre abril y octubre del año 2002 se efectuó un estudio de tipo ensayo comunitario, a pequeña escala, en cuatro escuelas de la ciudad de Comayaguela, dos en que se aplicó una intervención educativa y otras dos que sirvieron de control o testigo, con el propósito de evaluar un curso especial para escolares basado en el material educativo denominado Módulo Escolar Higiene Doméstica y Salud Ambiental, elaborado por el Proyecto de Control Integral del Dengue, de la Secretaría de Salud, en 1997 (14).

El objetivo general del estudio fue evaluar el resultado de la intervención educativa en las áreas de conocimiento de los escolares y maestros participantes, conocimiento, actitudes y prácticas de las madres de los escolares, y cambios en los indicadores entomológicos presentes en las viviendas de estos, además de evaluar el grado de aceptación que el nuevo contenido tendría entre los maestros.

Materiales y métodos

Diseño del estudio y tamaño de la muestra - Se realizó un ensayo de intervención comunitaria en el que se seleccionaron cuatro comunidades urbanas marginales que poseían escuelas primarias públicas, dos de las cuales recibieron el curso (grupo de intervención, GI), y dos que no lo recibieron (grupo de control, GC). La muestra incluyó a todos los alumnos de las secciones de cuarto y quinto grados de las escuelas seleccionadas.

Área de estudio - La ciudad de Comayaguela en el Distrito Central (formado por las ciudades gemelas de Tegucigalpa y Comayaguela, a cada orilla del río Choluteca) está a una altitud de 1000 m sobre el nivel del mar y tiene una temperatura promedio anual de 21,7 °C y humedad relativa de 72%. Las *colonias* (barrios) en estudio se catalogaban en el estrato socioeconómico bajo y sus habitantes se dedicaban a oficios, trabajo industrial (obreros) y comercio informal. Las colonias Arnulfo Cantarero López y Altos del Paraíso del GI, a las cuales atiende la escuela Alba Nora Gúnera de Melgar (NG), contaban con 9071 habitantes. Hasta 92% de las viviendas disponían de letrinas de fosa simple y no contaban con suministro domiciliario de agua, la cual se abastecía por medio de camiones-cisterna de la empresa nacional de agua y de proveedores privados; tampoco contaban con servicio de recolección de basura al momento de la intervención. La colonia Villafranca (del GI), donde se localizaba el Centro de Enseñanza básica Desarrollo Juvenil (DJ), contaba con una población de 3385 habitantes. Aquí, 81% de las viviendas disponían de letrinas de fosa simple y también carecían de abastecimiento domiciliario de agua, la cual recibían por medio de camiones-cisterna; igualmente, carecían del servicio municipal de recolección de basura. Las escuelas República de Honduras (RH) y Reynaldo Salinas (RS), elegidas para el GC, estaban ubicadas en zonas marginales de similares características poblacionales e infraestructura de servicios básicos (Datos del Informe de Evaluación Semestral 2002, Área de Salud 1, Región Metropolitana, Secretaría de Salud).

Descripción de la intervención - La intervención consistió en la instauración de un curso escolar especial que comprendía tres áreas temáticas: agua (nueve lecciones), basura (tres lecciones) y dengue (13 lecciones), organizadas en un libro de texto (para el maestro) y tres fascículos de trabajo (para el alumno) y provistos de múltiples ilustraciones en blanco y negro para facilitar la comprensión del educando y motivar a colorearlos. Incluyó lecciones en las aulas y prácticas comunitarias (visitas de inspección domiciliaria efectuadas por los escolares, supervisados por los maestros y personal de salud), para la adquisición de conocimientos acerca del dengue, el vector y las medidas de eliminación y control de criaderos. Se realizó la inducción a los temas con los maestros participantes y luego, siguiendo como guía las lecciones del texto mencionado, se impartió un número de dos lecciones por semana durante tres meses.

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Bioética de la Unidad de Investigación Científica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Recolección de datos
Investigación cuantitativa - Se aplicaron pruebas de conocimiento a los alumnos y maestros participantes, antes y después de la intervención. Se evaluaron las variables siguientes: síntomas de dengue, agente causal, características del vector, mecanismos de transmisión, tratamiento contra el dengue, ciclo de vida de *Aedes aegypti* y otras. Se aplicaron encuestas sobre conocimientos, actitudes y prácticas a las madres de familia de las viviendas de los escolares incluidos en el estudio, antes y después de la intervención. Las variables evaluadas comprendieron: conocimiento de los síntomas del dengue, criaderos del vector, canales de información, relación entre la larva y el mosquito, medidas de control eficaces y responsabilidad en el control. Se llevaron a cabo inspecciones entomológicas en las viviendas de los escolares participantes, tanto antes como después de la intervención. Se registraron y examinaron todos los recipientes con agua y larvas, con especial atención a los tres tipos principales de recipientes: pilas, barriles y llantas (neumáticos) viejas. Las muestras recabadas fueron examinadas para identificación de género y especie por parte del personal de la Unidad de Entomología Regional. Los niveles de infestación por *Aedes aegypti* se registraron mediante los siguientes índices: índice de viviendas (IV; porcentaje de casas infestadas con larvas o pupas), índice de recipientes (IR; porcentaje de depósitos con agua infestados por larvas o pupas) e índice de Breteau (IB; medida derivada de la densidad de poblaciones larvarias del mosquito *Aedes aegypti*) (7).

Investigación cualitativa - Se realizaron observaciones en las aulas con el fin de seguir de cerca el desarrollo de las lecciones y detectar problemas en relación con el programa educativo. La guía de observación contemplaba los siguientes temas: interés de los alumnos, claridad de las lecciones, dificultades de comprensión de los alumnos e interés y creatividad de los maestros. Se efectuó una reunión de grupo focal posintervención con los maestros de las escuelas intervenidas y se diseñó una guía de discusión que exploraba los siguientes temas: conocimiento de los síntomas de dengue, mecanismos de transmisión, complicaciones de la enfermedad, métodos de prevención y control, actitudes de los maestros hacia el mantenimiento de un entorno escolar sin larvas y reacciones de los profesores ante el programa educativo. Se llevaron a cabo entrevistas a profundidad con madres de familia de los niños de las escuelas intervenidas, con el objeto de lograr un mayor entendimiento en los siguientes aspectos: actitud hacia el niño como agente de cambio, grado de participación en los deberes escolares y disposición a recibir información y a realizar tareas solicitadas por el niño. Dos miembros del equipo investigador se presentaron en cada uno de los hogares y, una vez explicados los objetivos de la visita, solicitaron permiso para realizar la actividad.

Análisis de los datos - El análisis de los datos se realizó con el programa informático Epi-Info 6.04ab. Para el análisis unifactorial (de variable única) se utilizó este mismo

paquete estadístico. El análisis estratificado y multifactorial (de variables múltiples) y las pruebas no paramétricas se efectuaron con el paquete SPSS. La información cualitativa se transcribió a un archivo de procesador de palabras y luego las transcripciones se analizaron por medio de matrices de ejes temáticos.

Resultados

Investigación cuantitativa

Pruebas de conocimiento a escolares y maestros - Después de la intervención se encuestó a un total de 583 escolares: 325 en el GI y 258 en el GC. La pérdida del seguimiento fue de 6,8%. Respecto al aprovechamiento didáctico, se encontró un nivel de conocimiento inicial muy similar en ambos grupos, en tanto que al analizar los resultados de las pruebas efectuadas después de la intervención se observó un incremento significativo en los escolares del GI en comparación con los del GC. Participaron en el estudio un total de 20 maestros: 10 asignados al GI y 10 al GC. El conocimiento de los maestros acerca del dengue y de *Aedes aegypti* se incrementó significativamente en el GI.

Encuestas de conocimientos, actitudes y prácticas entre madres de familia - De las 509 madres de familia reunidas antes de la intervención, 484 permanecieron hasta el período posintervención. La pérdida de seguimiento fue de 4,9%. Se entrevistó a 480 mujeres (94,3%) y 29 varones (5,7%); no obstante, para fines prácticos del artículo se empleará el término "madres" para referirse a los entrevistados de uno u otro sexo. El promedio de escolaridad fue de 5,0 años y no mostró diferencias entre el GI y el GC. Se obtuvo consentimiento oral para participar en la encuesta e inspeccionar la vivienda. El conocimiento de los métodos de control en el hogar se incrementó significativamente en el GI: reducción de fuentes y mayor aplicación de los pasos del método recomendado para la limpieza de pilas y barriles (llamado "La Untadita") con respecto a los valores de antes de la intervención, en tanto que los aspectos relativos a la bionomía del vector no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos de estudio. Las actitudes frente a las prácticas de prevención y control del vector mejoraron respecto de los valores iniciales, pero no hubo diferencia significativa entre los grupos de estudio y testigo.

Encuestas entomológicas - Los indicadores entomológicos preintervención fueron muy similares entre ambos grupos. En la encuesta posintervencion se encontró que los índices entomológicos se incrementaron en ambos. Particularmente, el IB presentó menor incremento en el GI, pero este resultado fue marginalmente significativo (P = 0,08). El recipiente que tuvo la más alta positividad en la fase de preintervención fue la pila o pileta. Sin embargo, el barril pasó a ocupar el primer lugar en la encuesta posintervención. Las llantas (neumáticos) registraron los porcentajes de positividad más altos, pero su bajo número absoluto limitó su importancia como criadero (Tabla 1). Otros posibles criaderos, como botellas, latas y recipientes menores de 5 galones (19 L), no presentaron mayor positividad.

Tabla 1. Índices de infestación de *Aedes aegypti* en las viviendas de los escolares de los grupos de intervención (GI) y de control (GC). Comayaguela, Honduras, mayo y noviembre de 2002

	Preintervención				Posintervención			
	Número		% de positividad		Número		% de positividad	
Encuesta	**GI**	**GC**	**GI**	**GC**	**GI**	**GC**	**GI**	**GC**
Viviendas	281	228	20,2	20,1	269	215	23,4	26,5
Recipientes*	959	1244	7,1	4,8	1365	1536	6,0	5,3
Breteau	69/281	60/228	24,5	26,3	82/269	82/215	30,5	38,1
Pilas	169	161	21,4	16,1	182	176	9,8	13,6
Barriles	308	299	9,4	9,0	287	293	16,0	12,9
Llantas	20	27	0,0	3,7	20	2	20,0	50,0
Latas	33	32	0,0	0,0	17	17	5,8	0,0
Botellas	112	282	0,8	0,0	35	141	2,8	0,7
Otros	317	443	0,9	1,3	824	907	1,4	1,9

* Se incluyen recipientes con sólo agua y con agua más larvas.

Al desglosar los resultados de la posintervención por centro docente, se observó que, en comparación con las demás, la escuela NG registró los IV e IB más bajos. La escuela DJ mostró un comportamiento entomológico similar al de las escuelas de control. En la tabla 2 se aprecia que al excluir del análisis posintervención a la escuela DJ y compararla con el grupo de control, el IB es significativo a expensas del grupo de intervención.

Tabla 2. Índices posintervención de infestación por larvas de *Aedes aegypti*, por grupos de intervención (GI) y de control (GC), con exclusión de la escuela DJ del grupo de intervención. Comayaguela, Honduras, noviembre de 2002

	Posintervención		
Índice entomológico	**GI**	**GC**	**Valor *P***
Índice de viviendas	19,9	26,5	0,1
Índice de recipienets	4,8	5,3	0,5
Índice de Breteau	24,5	38,1	0,006

Investigación cualitativa

Observaciones en las aulas - Se realizaron ocho observaciones en las aulas, cuyos resultados más relevantes fueron: el contenido técnico de las lecciones fue adecuado y los escolares encontraron comprensibles los términos a la lectura. Las actividades prácticas fueron muy interesantes. Una de las que más agradaron a los alumnos fue la realización de las visitas de inspección entomológica domiciliaria, que los dejó motivados para constituirse en vigilantes ambientalistas al final del curso. Los experimentos en las aulas facilitaron el aprendizaje porque los alumnos observaron y comprobaron por sí mismos el contenido teórico del libro de texto del curso y reforzaron los nuevos conocimientos.

Grupo focal posintervención con maestros - Se realizó una reunión de grupo focal, con la participación de cinco maestros del GI. En lo referente a la enfermedad, el

dengue se percibía inicialmente como una afección común y no como un problema de salud que puede ser mortal: "*una enfermedad común y corriente, como la gripe"*. Al final comprendieron que el dengue es una enfermedad grave y que este mosquito o zancudo es un insecto peligroso. Los conocimientos sobre la enfermedad y el vector aumentaron entre los maestros y alumnos. Desde su punto de vista, esto les generó cambios de comportamiento en cuatro aspectos de su actividad cotidiana: en lo personal hubo adopción de actitudes receptivas a los mensajes de salud; en el ámbito familiar se generaron hábitos de autocuidado tendientes a la eliminación y control de criaderos; en el escolar los conocimientos se encaminaron hacia el objetivo de mejorar el entorno ambiental (eliminación de criaderos y mejor manejo de la basura) y en el ámbito de la comunidad se produjo una transferencia de conocimientos de los maestros hacia sus vecinos: "*no sabíamos si el vecino cercano tenía criaderos en las pilas y barriles*". Coincidieron en reconocer que esta forma de instrucción constituye un recurso importante para contribuir al control del problema del dengue, ya que es capaz de generar cambios en la actitud de las madres de familia en relación con la eliminación y el control de criaderos del mosquito.

Entrevistas a profundidad a madres de familia - Se realizaron 16 entrevistas a profundidad: 10 en la escuela NG y 6 en la escuela DJ, ambas en el grupo de intervención. Respecto a la enfermedad, la mayoría de las entrevistadas la consideraban una afección moderada a veces mortal, pero que no representaba una amenaza cercana para la familia. Esta percepción cambió a raíz del nuevo curso impartido, donde ya se la consideró un daño a la salud que podría afectar a la familia: *"Es una enfermedad mortal. Lo teníamos como el que le pega la fiebre y luego se va a levantar"*. Todas las madres señalaron cambios positivos en la actitud de los niños, quienes se interesaron en conocer más acerca de la enfermedad y el vector, y en mantener un ambiente doméstico sano, sin posibles criaderos de *Aedes aegypti*. Acerca de la utilidad del curso, reconocieron que también ellas adquirieron nuevos conocimientos que consideraban de gran importancia para la salud familiar y que se adoptaron los comportamientos sugeridos en las lecciones: *"Ahora se mantiene limpia el agua, lavamos bien los depósitos, quemamos la basura"*. El control de la enfermedad fue percibido como una acción de responsabilidad individual pero de ejecución colectiva en el ámbito de la comunidad: *"La mejor manera de controlar los zancudos es que coopere toda la comunidad en el aseo, que cada vecino tenga cuidado de sus recipientes"*.

Discusión

Al analizar los resultados de esta experiencia debe considerarse que se aplicó en el transcurso de la mayor epidemia de dengue hemorrágico ocurrida en la Región de Salud Metropolitana, que comenzó en la semana 25 y se extendió hasta la semana 40 (15). La intensa campaña mediática en los medios de comunicación, así como las estrategias de combate del vector desarrolladas en la ciudad capital, contribuyeron a

que los resultados de la intervención ejercieran poco impacto en las variables entomológicas, en comparación con el grupo de control.

Al revisar los resultados de las pruebas aplicadas a los escolares se observó que la variable relativa al mecanismo de transmisión del dengue no reportó cambios entre ambos grupos, seguramente por ser este uno de los mensajes difundidos en la campaña mediática masiva de la Secretaría de Salud durante la epidemia. Asimismo, un resultado similar se obtuvo en las pruebas de conocimiento aplicadas a los maestros, donde las variables referentes al mecanismo de transmisión, nombre del vector e identificación de síntomas de la enfermedad no presentaron diferencias entre uno y otro grupo, lo cual se atribuye a que este conocimiento es parte de los mensajes difundidos por las autoridades de salud.

También los conocimientos y prácticas en torno al dengue y el vector mencionados por las entrevistadas pudieron llevar la influencia de las campañas de los medios de comunicación, en vista de que la mayor parte de las variables no presentaron cambios entre ambos grupos en el análisis posintervención. Sin embargo, el GI obtuvo una puntuación significativa en la variable referente a la reducción de fuentes como mejor medida de control, pese a ser este un mensaje difundido en los medios. Es probable que la diversidad de medidas instauradas durante la epidemia haya contribuido en el GC a que las madres entrevistadas mencionaran estas otras medidas con mayor frecuencia que la respuesta categórica obtenida en el GI, reforzada por el curso sobre dengue.

Dentro del curso se hacía hincapié en la utilización de "La Untadita", un método de desinfección de pilas y barriles ya ensayado con buenos resultados en la comunidad, en el norte de Honduras en 1996. El procedimiento, que tiene acción ovicida sobre *Aedes aegypti*, consta de cinco pasos: mezclar cloro y detergente, untar la mezcla en las paredes de la pila o barril, esperar 10 minutos, cepillar y enjuagar el depósito con agua (16-19). Aunque este fue también parte del contenido de la campaña educativa de las autoridades de salud, se pudo notar una mayor apropiación de conocimientos en el GI. Sin embargo, esto no garantizaba una práctica hogareña cotidiana, una experiencia que también han notificado otros autores: en una evaluación de una intervención educativa realizada en São José do Rio Preto, Brasil, se incrementó el conocimiento sobre la enfermedad y el vector, pero no los hábitos para el control de este (20). Costa Passos encontró muchas dificultades en impulsar la adopción de medidas de eliminación de criaderos en diversos sectores de población por medio de una campaña por los medios masivos, participación de escolares, contacto directo con la población e integración de dependencias públicas (21).

Si bien en las entrevistas a profundidad las madres admitieron no tener obstáculos para incorporar los hábitos sugeridos por los escolares, los maestros detectaron en muchas de ellas, especialmente en las de la escuela DJ, que el trabajo externo y la falta de tiempo a causa de las muchas tareas hogareñas les impedían realizar estas prácticas. Estas razones se suman a otras señaladas por diversos autores para la falta de participación efectiva de las comunidades en el control de los criaderos (22,23).

En ambos grupos de estudio, los indicadores entomológicos encontrados después de la intervención fueron mayores que los notificados al principio. Tales parámetros fueron menores en el grupo de intervención en los índices IV e IB, aunque no en

grado significativo. Es probable que la falta de compromiso de las madres de familia en la escuela DJ, por las razones apuntadas antes, haya contribuido al incremento de los valores en el grupo de intervención (GI), ya que los datos de precipitación pluvial no explican estos resultados: 178,1 mm en la preintervención y 9,5 mm en la posintervención. Además, en la escuela DJ se presentaron problemas en la evolución del curso, ya que dos maestras de las que inicialmente se capacitaron tuvieron que ser reemplazadas por motivos de fuerza mayor durante la intervención educativa y sus suplentes no se adaptaron al enfoque del proyecto. Se pudo notar que al excluir del GI a la escuela DJ, el IB presentó diferencias significativas en comparación con el GC, las cuales pueden atribuirse al efecto ejercido por el curso llevado a cabo en condiciones ideales en la escuela NG. Experiencias similares en Puerto Rico, Brasil y Colombia no informaron diferencias en los indicadores entomológicos posintervención, aunque sí señalaron resultados significativos en las variables de conocimientos, a expensas de los grupos intervenidos (911).

Un estudio de México reveló que las viviendas de familias con madres de baja escolaridad (educación primaria incompleta) tuvieron mayor cantidad de recipientes positivos respecto a la presencia de *Aedes* (24). Este hecho podría contribuir también a los resultados entomológicos obtenidos por nosotros en la escuela DJ, donde se encontró que las madres de familia entrevistadas tenían el menor promedio de escolaridad de la muestra: 4,3 años. La contribución que el incremento de la escolaridad de las madres puede tener en otros problemas de salud se ha comprobado en áreas de supervivencia infantil, donde cada año de incremento en la escolaridad de las madres conlleva una reducción de 7 a 9% en la mortalidad de los niños menores de 5 años (25-26).

El curso resultó muy útil, didáctico, innovador y práctico, tanto para maestros y escolares como para los padres de familia. Se demostró la factibilidad de la estrategia de formación de multiplicadores escolares, en la que los niños (vigilantes ambientalistas) actúan como agentes de cambio en la comunidad y pueden ser elementos muy persuasivos para modificar actitudes y prácticas dentro de la familia de una manera sostenible. Las visitas domiciliarias realizadas a las viviendas por los escolares, acompañados del maestro, personal de salud y padres de familia, fueron la actividad clave que imbuyó en los niños ese sentido de responsabilidad por el cuidado de su propia vivienda y de su comunidad.

El estudio demuestra la importancia que reviste, en intervenciones educativas para el control del dengue, el compromiso que asuman los diferentes actores sociales que participan en el proceso de enseñanza-aprendizaje (maestros, padres de familia, escolares, líderes de la comunidad y personal de salud), lo cual incluye no solamente el objetivo de incrementar los conocimientos, sino también la adquisición de comportamientos para el autocuidado, a la vez que se generan espacios de diálogo y de toma de decisiones en torno al problema, todo lo cual contribuiría a la sostenibilidad de métodos de este tipo, basados en la comunidad, como bien han advertido Leontsini *et al.* (27).

La inclusión del módulo escolar "Higiene doméstica y salud ambiental" en el plan de estudios de enseñanza básica, que en Honduras comprende del primero al noveno grados, debe ser una meta que las autoridades de educación y salud se propongan

alcanzar en el corto a mediano plazo (7). Este método de control, centrado en el protagonismo escolar, debe considerarse como un recurso complementario dentro del manejo integral de la problemática de dengue y salud ambiental. Recientemente, Vivas y Sequeda, en Venezuela, publicaron los resultados que obtuvieron de la aplicación de una intervención educativa dirigida a escolares en la que observaron que esta favorecía el desarrollo de habilidades y destrezas para incorporarse a las actividades de prevención del dengue a nivel doméstico (28).

Los cursos escolares dirigidos a instruir sobre el control y la prevención del dengue deberán ubicarse en el contexto de un esfuerzo social e institucional amplio, en el que las diferentes intervenciones se potenciarían para desarrollar una mayor conciencia del problema y una visibilización del esfuerzo de control desde la comunidad, lo cual debe llevar a un empoderamiento de la población organizada.

Referencias

1. Figueroa M, Pereira R, Gutiérrez H, Mejía C, Padilla N. La epidemia de dengue en Honduras 1978-1980. Rev Med Hondur 49, 1981: 28-33
2. Figueroa M, Pereira R, Gutiérrez H, Mejía C, Padilla N. Dengue epidemic in Honduras. Bull Pan Am Health Org16, 1982:130-137
3. Padilla N, Gutiérrez H, Alvarado G, Rivera I, Figueroa M. Encuesta seroepidemiológica de dengue en la ciudad de Choluteca. Rev Med Hondur 58, 1990:170-173.
4. Bu E. Dengue clásico y dengue hemorrágico en Honduras. Rev Med Hondur 67, 1999: 196-200.
5. Fernández EA, Pinel M, Paz N. Informe ejecutivo de la epidemia de dengue, 2002 (Documento interno). Tegucigalpa: Secretaría de Salud; 2002.
6. Soto RJ. Situación epidemiológica del dengue en Honduras en el período de 1985 a 1990. Rev Med Hondur 58, 1990:24-37.
7. Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington, D.C.: 1995. (Publicación científica 548).
8. Gubler DJ. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease control in the 1990s: top down or bottom up. Am J Trop Med Hyg 40, 1989: 571-578.
9. Winch P, Kendall C, Leontsini E. Community participation in *Aedes aegypti* control programmes. En: Uren MF, Blok J, Manderson LH, eds. Arbovirus Research in Australia: proceedings Fifth Symposium, August 28, Brisbane, Australia. Brisbane: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 1990. Pp. 224-228.
10. Soto RJ, Fernández EA, Ávila Montes GA. Evaluación de un programa educativo sobre dengue y *Aedes aegypti* focalizado en niños de escuela primaria. Rev Med Hondur 63, 1995:12-18 .
11. Fajardo P, Monje CA, Lozano G, Realpe O, Hernández LE. Nociones populares sobre "dengue" y "rompehuesos", dos modelos de la enfermedad en Colombia. Rev Panam Salud Publica 10, 2001:161-168.
12. Madeira N, Macharelli CA, Pedras JF, Delfino M. Education in primary school as a strategy to control dengue. Rev Soc Bras Med Trop 35, 2002;35: 221- 226.
13. International Medical Services for Health. Why children as agents of change? Prevention, Eradication, and Control of Disease 2, 1994: 23.
14. Fernández EA, Reyes CE, Hernández D. Módulo Escolar Higiene Doméstica y Salud Ambiental. San Pedro Sula (Honduras): Editorial Capiro; 1997.
15. Secretaría de Salud de Honduras. Informe de la Comisión de Certificación de Casos de Dengue Hemorrágico. Tegucigalpa; enero de 2003.

16. Sherman C, Fernández EA, Chan AST, Lozano RC, Leontsini E, Winch P. La Untadita: A procedure for maintaining washbasins and drums free of *Aedes aegypti* based on modification of existing practices. Am J Trop Med Hyg 58,1998: 257-262.
17. Fernández EA, Leontsini E, Sherman C, Chan AST, Reyes CE, Lozano RC, et al. Trial of a community-based intervention to decrease infestation of *Aedes aegypti* mosquitoes in cement washbasins in El Progreso, Honduras. Acta Trop 70, 1998:171-183.
18. México, Secretaría de Salud. Taller sobre avances recientes en el control del *Aedes aegypti* basado en la comunidad: Honduras y México. Mérida, Yucatán, México, D.F.: Secretaría de Salud de México; 1996.
19. Chan AST, Sherman C, Lozano RC, Fernández EA, Winch PJ, Leontsini E. Development of an indicator to evaluate the impact on a community-based *Aedes aegypti* control intervention, of improved cleaning of water storage container by householder. Ann Trop Med Parasitol 92, 1998:317-329.
20. Chiaravalloti Neto F, Moraes M, Fernandes M. Avalição dos resultados de atividades de incentivo à participação da comunidade no controle da dengue em um bairro periférico do Município de São José de Rio Preto, São Paulo, e de relação entre conhecimentos e práticas desta população. Cad Saude Publica 14(Sup. 2), 1998:101-109.
21. Costa Passos A, Silveira E, Dal-Fabbro A. Dengue control in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. Cad Saude Publica14(Sup.2), 1998: 123-128.
22. Clark G. Situación epidemiológica del dengue en América. Desafíos para su vigilancia y control. Salud Publica Mex 37. 1995: S5-S11.
23. Nathan, MB. Critical review of *Aedes aegypti* control programs in the Caribbean and selected neighboring countries. J Am Mosq Control Assoc 9, 1993:1-7.
24. Danis-Lozano R, Rodríguez MH, Hernández-Ávila M. Gender-related family head schooling and *Aedes aegypti* larval breeding risk in southern Mexico. Salud Publica Mex 44, 2002:237-242.
25. Cleland JG, Van Ginneken JK. Maternal education and child survival in developing countries: the search for pathways of influence. Soc Sci Med 27, 1988:1357-1368.
26. Pena R, Wall S, Persson LA. The effect of poverty, social inequity and maternal education on infant mortality in Nicaragua, 1988 1993 Am J Public Health 90 2000: 64- 69.
27. Leontsini E, Gil E, Kendall C, Clark G. Effect of a community-based *Aedes aegypti* control programme on mosquito larval production sites in El Progreso, Honduras Trans R Soc Trop Med Hyg 87, 1993:267-271.
28. Vivas E, Guevara M. Un juego como estrategia educativa para el control del *Aedes aegypti* en escolares venezolanos. Rev Panam Salud Publica 14, 2003:394-401.

Evaluación de la eficacia de la cal, en condiciones de campo, contra mosquitos que colonizan floreros de cementerios en la República Dominicana

Angel Tomás Solís Montero, Gilda Ventura, Gervacia Padilla, Secretaría de Estado de Salud Pública y Asistencia Social (SESPAS), Centro Nacional de Control de Enfermedades Tropicales (CENCET)

Resumen: *Se estudio el efecto de la cal (10g/l) como larvicida contra* Aedes y Culex (Diptera, Culicidae)*. Seis grupos con 10 floreros (5 tratados y 5 controles) fueron seleccionados aleatoriamente. Un grupo fue evaluado por semana abarcando diferentes períodos de tiempo (1 a 6 semanas). La reducción (%) debido al tratamiento fue determinada en cada evaluación en relación a los floreros controles. La cal resultó eficaz en reducir el control de larvas de* Culicidae *de III y IV estadio durante 3 semanas. Fue eficaz también para controlar pupas con una reducción de 100% durante 4 semanas, 57% a la 5ª semana y 50% a la 6ª semana. La cal es una nueva alternativa para controlar* Culicidae *en cementerios.*

Palabras clave: *Aedes, Culex,* control, larvas, cal, República Dominicana.

Introducción

Los mosquitos *Culicidae* juegan un papel fundamental en la transmisión de las enfermedades, que se encuentran entre las principales causas de morbilidad y muerte en los países tropicales y subtropicales. Una importante proporción de la población de América vive en condiciones ambientales propicias para la malaria, y dos quintos de la población del mundo están en riesgo de contraer dengue, siendo ya muchos los países que han experimentado epidemias de dengue hemorrágico (1,2).

La República Dominicana se encuentra en el este de la única isla del Caribe con transmisión autóctona de malaria, presentando además filariasis endémica y dengue (3, Reportes Técnicos CENCET). El control de vectores, desde la década de 1940 y comienzos de la de 1950, se ha basado en el uso de insecticidas sintéticos, los que se usaron durante las campañas de erradicación de la malaria y de *Aedes aegypti* (4). De la misma manera estos han sido los compuestos utilizados contra plagas agrícolas, y por empresas privadas en el control de insectos urbanos (5). El uso de insecticidas sintéticos es parte de la cultura dominicana. De esta manera ha surgido resistencia a los insecticidas por su uso inadecuado (5) y puede resultar en un obstáculo para las medidas de control vectorial en situación de brotes de dengue o malaria.

Por ello, el Centro Nacional de Control de Enfermedades Tropicales (CENCET) busca nuevas alternativas que puedan contribuir a reducir la densidad de las poblaciones de insectos vectores, disminuyendo a su vez el uso descontrolado de insecticidas sintéticos, e intentando garantizar así la efectividad de estos últimos que

deben utilizarse como una herramienta en intervenciones de mitigación durante brotes epidémicos.

Los floreros, usuales en cementerios dentro del ejido urbanos, así como en los domicilios, pueden ser colonizados por diferentes especies de mosquitos: *A. aegypti*, *A. albopictus* (vectores de dengue), *Culex quinquefasciatus* (vector de filariasis linfática).

Las personas que visitan los cementerios pueden ser picadas, infectarse y dispersar la enfermedad en las ciudades. El cambio de agua cada dos días garantiza que los mosquitos inmaduros no puedan llegar a adultos, pero esta medida no es practicable en cementerios.

En 1995-1996 se realizó un estudio en Honduras que demostró el efecto letal de la cal en *A. aegypti* cuando se usa en neumáticos en desuso cortados como larvitrampas (6). Desde 1999 el CENCET estudia los efectos de la cal en condiciones de laboratorio contra diferentes especies de mosquitos, encontrándose 100% de letalidad en larvas de *Aedes* y *Culex* en solución acuosa de 5g/l, similar a lo descrito en la literatura (6).

Este estudio se propone contribuir a la prevención y control de la transmisión y distribución del dengue, dengue hemorrágico y filariasis linfática en la República Dominicana, mediante el uso de cal como una nueva alternativa para el control de la densidad de las poblaciones de moquitos en los cementerios y áreas adyacentes, al demostrar la reducción porcentual de larvas en los cementerios con el uso de cal y el poder residual de la misma.

Materiales y métodos

El estudio se realizó entre el 9 de febrero y 23 de marzo del año 2001 en el Cementerio Nacional de la Avenida Máximo Gómez, en Santo Domingo, DN, República Dominicana. Muestras de larvas fueron recolectadas de floreros seleccionados al azar y determinadas bajo lupa según claves (7). Se seleccionaron 60 floreros positivos para larvas de Culicidae, las larvas de III y IV estadio fueron determinadas y contadas antes y después de cada ensayo en cada florero seleccionado. Se registró pH y temperatura del agua y el volumen fue llevado a 1 litro. Se trataron 30 floreros con una concentración final de 10 g/l de cal y 30 se mantuvieron como control. Cada semana (semanas 1 a 6) se evaluaron y descartaron 10 floreros (5 tratados y 5 controles) según 6 grupos aleatorios previamente seleccionados. La pérdida de agua fue compensada llenando los floreros durante las 6 semanas de la experiencia. Los resultados se expresan según la fórmula de Mulla (8): % reducción = 100 – (C1 / T1 X T2 / C2 X 100), donde: C1 y C2 = cantidad de larvas de III y IV estadio en floreros control antes y después del tratamiento, y T1y T2 = cantidad de larvas de III y IV estadio en floreros tratados antes y después del tratamiento. El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa *STATISTICS*.

Resultados

Se encontraron lavas de *A.aegypti, A. albopictus* y *C. quinquefasciatus* en floreros del Cementerio nacional de la Avenida Máximo Gómez. La reducción porcentual mostró la efectividad de la cal hasta la semana 3, comenzando a decrecer su letalidad desde la 4ª semana del tratamiento (tabla 1).

Tabla 1. Cantidad promedio y porcentaje de reducción de larvas de *Culicidae* antes y después del tratamiento con cal por florero y semana, Santo Domingo, 2001

	ANTES TRATAMIENTO		DESPUÉS TRATAMIENTO		
SEMANA	TRATADO	CONTROL	TRATADO	CONTROL	REDUCCIÓN %
1	148,4	82,8	1,0	52,2	99
2	210,2	72,6	2,0	78,5	99
3	78,6	106,6	0,0	56,3	100
4	497	20,8	185,8	19,5	60
5	29,8	48,0	41,5	83,4	20
6	54,4	82,0	36,2	40,8	-33

La reducción porcentual para larvas según género *Aedes* o *Culex* y para pupas de *Culicidae* se muestra en la tabla 2. Para larvas de *Aedes* la cal pierde efectividad luego de 4 semanas de exposición, pero la conserva en las semanas anteriores, mientras en pupas se observa el efecto hasta la semana 5 y aún se mantiene en 50% en la 6ª semana. Para *Culex* sólo se calculó la reducción porcentual para la primera semana por mantenerse negativo los controles para el género en las siguientes.

En la tabla 3 se muestra el pH promedio por florero y tiempo, en los tratados aumenta hasta la 3ª semana y luego vuelve a los valores normales, coincidiendo con la curva de letalidad en los floreros tratados.

Tabla 2. Cantidad promedio y porcentaje de reducción de larvas de *Aedes* y *Culex* y pupas de *Culicidae* antes y después del tratamiento con cal por florero y semana, Santo Domingo, 2001

Semana	**Antes tratamiento**		**Después tratamiento**		
Aedes	**Tratado**	**Control**	**Tratado**	**Control**	**Reducción %**
1	124	89	1	52	98,6
2	51	86	2	79	95,7
3	99	129	0	56	100,0
4	31	21	92	12	- 419,0
5	30	48	42	55	- 22,0
6	54	49	36	33	1,00
Culex					
1	27	1	0	0	100,0
2	159	0	0	0	-
3	0	0	0	0	-
4	457	0	94	0	-
5	0	0	0	29	-
6	0	33	0	8	-
Pupas Culicidae					
1	6	4	0	4	100,0
2	7	0	1	2	100,0
3	0	1	0	2	100,0
4	18	0	1	6	100,0
5	0.4	0.4	3	7	57,0
6	3	10	3	20	50,0

Tabla 3. Promedio de temperatura y pH antes y después del tratamiento con cal por florero y semana, Santo Domingo, 2001

	Antes del tratamiento				**Después del tratamiento**			
	Controles		**Tratados**		**Controles**		**Tratados**	
Semana	**Ph**	**T° c**	**Ph**	**T° c**	**Ph**	**T° c**	**Ph**	**T ° c**
1	9	26	9	26	9	25	12	26
2	9	29	8	27	9	24	12	24
3	8	25	8	26	8	24	11	24
4	9	29	9	28	8	29	10	29
5	8	29	8	27	8	25	9	26
6	8	27	8	25	8	24	9	24

Discusión

La efectividad de la cal en condiciones de campo depende de su capacidad para reducir la cantidad de larvas de III y IV estadio, cuya consecuencia es la eliminación de adultos emergentes (archivos de CENCET). Una evidencia de esto es la reducción de 100% de las pupas por 4 semanas después del tratamiento. De esta manera se deduce que la cal a una dosis de 10g/l en floreros de cementerios puede interrumpir la producción de mosquitos adultos por un mes, contribuyendo a la reducción de costos en Programas Integrados de Control.

En este estudio la cal (10g/l) se mostró efectiva para controlar las poblaciones de mosquitos que colonizan los floreros del Cementerio Nacional en la Avenida Máximo Gómez. Para larvas de *Culicidae* se observó una porcentaje de reducción del 99%-100% hasta la 3º semana, con recuperación total de la población inicial en el caso de larvas de *Aedes* en la 4ª, mientras en *Culex* luego de la 1ª semana este valor no se pudo calcular, y en pupas el efecto residual fue más largo con 50% de reducción aún en la semana 6ª impactando así sobre la población adulta. Sherman (6) demostró un efecto residual de la cal por 6 meses en neumáticos, pero se utilizó una concentración más alta de principio activo. La variación en el PH coincidió con el período de reducción de larvas de *Culicidae*, aunque explicar el mecanismo de esta asociación requiere estudios específicos. De la misma manera se deberían realizar estudios en áreas urbanas donde *C.quinquefasciatus* tiene importancia epidemiológica y se encuentran sus criaderos estables, y evaluar el control de las poblaciones de mosquitos que colonizan Bromeliáceas.

En conclusión el uso de cal para tratar floreros de casas y cementerios disminuirá en uso de insecticidas sintéticos, y la consiguiente aparición y distribución de resistencia a estos compuestos de República Dominicana y otros países. El uso de cal se debe asumir como otra alternativa a ser incorporada en los Programas Integrados de Control de enfermedades transmitidas por insectos, especialmente en los que intentan prevenir dengue y dengue hemorrágico. Su utilización deberá promoverse mediante mensajes en las iglesias y ámbitos similares, refiriéndose a su colocación en cementerios y altares. Se deberán evaluar otras alternativas plausibles, fáciles de usar y seguras como la cal, de tal forma que la salud de la población pueda ser preservada sin afectar el ambiente, y atendiendo a las características de los vectores a ser controlados.

Referencias

1. World Health Organization. WHO News and activities. World malaria situation in 1990. Bull World Health Org 70, 1992: 801-807.
2. Rosario D, Álvarez M, Díaz J, Contreras R, Rodríguez R, Vázquez S, Guzmán M. Reacción en cadena de la polimerasa para la detección rápida y determinación del serotipo del virus del dengue en muestras clínicas. Pan Am J Public Health. 4, 1998: 1-5.
3. Organización Panamericana de la Salud. Resurgimiento del dengue en las Américas. Boletín Epidemiológico 18 (2), 1997: 1-16.

4. Mekuria Y, Gwin TA, Williams DC, Tidwel MA. Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. J Am Mosq Cont Assoc 7, 1991: 69-72.
5. Solís A, Molina de Fernández D, Ventura G, Barazarte O. Diagnóstico de la Resistencia a insecticidas en cepas de *Aedes aegypti (Diptera, Culicidae*) de diferentes regiones de la República Dominicana (inédito):1-10.
6. Sherman C, Fernández EA, Chan AS, Lozano R, Winch PJ. Lime and salt as control methods for *Aedes aegypti* in tires. División de Enfermedades Transmitidas por Vectores. Ministerio de Salud Pública. Tegucigalpa, Honduras, América Central (en prensa)
7. Belkin JN, Heineman S, Page WA. The Culicidae of Jamaica. Bull Inst Jamaica, Science Service 20, 1970: 1-458.
8. Mulla MS, Darwazeh HA, Davidson EW, Dulmage HT, Singer S. Larvicidad activity and field efficacy of *Bacillus sphaericus* strains against mosquito larvae and their safety to nontarget organisms. Am Mosq Cont Assoc 44, 1984:1-336.

Encuesta de base poblacional sobre infección de dengue en Brasil central: análisis del patrón espacial de puntos y evaluación de factores de riesgo

João Bosco Siqueira Junior, Martelli CMT, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG, Amorim FP, Moreira BC, Cardoso DDP, Souza WV, Andrade ALSS, Secretaria de Vigilancia Nacional, Ministerio de Salud, Brasilia; Instituto de patología Tropical y Salud Pública, Universidad Federal de Goiás, Goiânia Brasil.

Artículo original: Siqueira JB, Martelli CMT, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG, Amorim FP, Moreira BC, Cardoso DDP, Souza WV, Andrade ALSS Household survey of dengue infection in central Brazil: spatial point pattern analysis and risk factors assessment. Am J Trop Med Hyg 71, 2004: 646-651

Resumen: *El dengue urbano es considerado actualmente una de las mayores amenazas a la salud pública en la mayor parte de los países de América. Una encuesta de hogares fue realizada en la ciudad de Goiânia, Brasil central, en el año 2001, para evaluar la prevalencia a la infección por dengue y los factores de riesgo individuales y basados en área. Un análisis del patrón espacial de puntos fue realizado utilizando el método Kernel dual. Fueron encuestados un total de 1610 viviendas, recolectándose sangre e información de 1585 individuos mayores de 5 años. La detección de anticuerpos IgM/IgG séricos se realizó mediante enzimoinmunoanálisis. Los indicadores basados en área derivados de los datos censales fueron asociados a las direcciones geocodificadas de las residencias. La seroprevalencia de dengue fue 29,5% y la prevalencia estimada de superficie alcanzó 50% en los suburbios. El riesgo de infección en el análisis multivariado estuvo asociado significativamente con los grupos etarios mayores (P < 0,01), poca educación (OR = 3,45, IC 95%= 1,82-6,55) y bajos ingresos (OR= 1,32, IC95%= 1,02-1,71). Este estudio destaca la heterogeneidad de la transmisión de dengue dentro de la ciudad y podrá contribuir a la adecuación espacial de las medidas de las intervenciones de control.*

Palabras clave: dengue, encuesta serológica, patrón espacial, factores de riesgo, Brasil.

Introducción

El dengue es una infección tropical y sub-tropical producida por un flavivirus y transmitida por mosquitos, con cuatro serotipos antigénicamente diferentes (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4). Los cuatro serotipos pueden causar dengue clásico o sus formas más severas conocidas como dengue hemorrágico (DH) y síndrome de choque de dengue (SCHD). Los individuos infectados con un serotipo cuando son infectados subsecuentemente con otro serotipo se consideran predispuestos a desarrollar DH (1). El aumento de dengue y sus formas severas en América en las cuatro últimas décadas ha sido dramático (2-5). Ciudades altamente urbanizadas han sido afectadas por epidemias explosivas de dengue y DH, convirtiendo la enfermedad en una de las prioridades de salud pública (6-8).

Desde 1986 Brasil ha experimentado varias epidemias de dengue comenzando con DENV-1, seguido por DENV-2, y la introducción reciente de DENV-3 en la región sudeste (9,10). En el año 2001 se registraron 413067 casos de dengue en Brasil, en su mayoría en adultos, representando el 63% de todos los casos notificados en el continente americano (11). En 1992 no se registraba aún ningún caso confirmado de DH, pero ya en el 2001 habían ocurrido 679 casos con 29 óbitos. A mediados de la década de 1990 se demostró la distribución generalizada del vector *Aedes aegypti* en el país, e importantes epidemias de dengue se registraban en la costa atlántica, la Amazonia y las zonas de fronteras (12).

Los casos notificados de dengue en Brasil central han experimentado un aumento aproximado de 20 veces desde la introducción del virus, de 1660 casos en 1990 a 20552 en el 2000. La reinfestación de las ciudades con *Ae. aegypti*, vector común de dengue y fiebre amarilla urbana, representa a su vez un riesgo potencial de transmisión de esta última en áreas con infección de dengue (13,14). En la región de 1998 al 2000 se registraron pocos casos de DH, pero con una tendencia a incrementarse en los dos años posteriores. Sin embargo, a pesar del aumento en la circulación del virus de dengue no hay datos disponibles de la prevalencia de base poblacional para la región. Por ello hemos realizado una encuesta de hogares a gran escala, evaluando la dimensión de la exposición previa al virus de dengue en un área altamente urbanizada del Brasil central. En este trabajo se presentan los resultados del análisis del patrón espacial de puntos, y la evaluación de factores de riesgo individuales y basados en área para la ocurrencia de infección de dengue.

Materiales y métodos

Diseño de estudio - el presente estudio fue diseñado como una encuesta de base poblacional para evaluar la prevalencia de anticuerpos contra el virus de dengue, y para recolectar información a nivel individual asociada a la infección viral. También se utilizaron los datos disponibles del censo poblacional del año 2000 para estimar indicadores socio-económicos y otros factores de riesgo potenciales relacionados a la transmisión de dengue, descriptos como indicadores basados en área. Estos datos agregados por unidades de secciones censales (*census tract*) pueden reflejar posibles exposiciones contextuales a nivel de área, tomando las características del área de residencia de los participantes como posibles factores de riesgo. Este tipo de diseño en niveles múltiples presenta así el potencial de combinar el nivel individual y los indicadores espaciales basados en área. (15).

Sitio de estudio y población - Se realizó en febrero del 2001 en una de las mayores poblaciones urbanas de Brasil central,Goiânia, con 1,1 millón de habitantes. La ciudad es una importante vía comercial para las regiones del interior y la capital del país (16). En la región el turismo ecológico es usual y la fiebre amarilla enzoótica. El área urbana se divide en 9 macro-regiones definidas por la Compañía Procesadora de Datos de la Municipalidad de Goiânia para propósitos administrativos. Estas macro-regiones agregan las secciones censales (n=1066), con un rango de población entre 59123 y 279806 habitantes. En Brasil una sección censal tiene aproximadamente

1000 habitantes, que es la menor unidad espacial para la cual están tabulados los datos demográficos y socio-económicos.

Muestreo y tamaño de muestra - Aproximadamente 1600 individuos mayores de 5 años fueron seleccionados en la encuesta serológica utilizando una aproximación de muestreo en tres etapas. Este diseño en múltiples etapas intenta ser representativo de todas las regiones de la ciudad y usa como primera etapa una investigación vectorial previa realizada por la Secretaría de Salud (enero 2001). La metodología para evaluación vectorial sigue los estándares establecidos por la Fundación Nacional de Salud y ya ha sido descripta (17). Brevemente, el barrio administrativo de la ciudad está dividido en manzanas en las cuales cada edificio esta codificado con un único número. En cada manzana se selecciona una esquina y moviéndose hacia la izquierda una de cada cuatro casas es seleccionada para la inspección vectorial. Aproximadamente 40000 casas, que corresponden al 25% de las 160000 unidades estimadas, fue inspeccionada. La Secretaria de Salud proveyó los mapas con la localización de los edificios. Nosotros utilizamos este marco de muestreo para seleccionar en forma aleatoria 4% de las casas en un segundo nivel de muestreo. Durante la visita de hogares se intentó confeccionar una lista con todos los residentes mayores de 5 años y seleccionar al azar un individuo para la extracción de sangre y la entrevista. Esta encuesta de domicilios cubrió las 9 macro-regiones de la ciudad. Un tamaño de muestra de unos 1600 participantes fue calculado asumiendo que el 50% de la prevalencia de infección de dengue maximiza el tamaño muestral con un error de ± 5%. Para considerar el muestreo en múltiples niveles el tamaño muestral fue ponderado por un efecto de diseño de 3.0 (18). Para la evaluación de factores de riesgo, este tamaño muestral tiene un poder del 90% para detectar una oportunidad relativa (*odds ratio* - OR) ajustada mayor que 1,5 con un intervalo de confianza (IC) del 95%, asumiendo niveles de exposición del 30% entre los individuos no infectados y una tasa de rechazo del 25% (19).

Variables independientes - Las variables de nivel individual recolectadas durante la visita de hogares incluyen sexo, edad, educación, antecedentes de vacunación antiamarílica, antecedentes de dengue según el encuestado e historia familiar de dengue. Los indicadores basados en área estimados a partir de datos primarios, agregados por unidad de sección censal y disponibles en la Oficina Nacional de Censos (16), fueron: 1) Para evaluación de renta se utilizó la línea estándar de pobreza de Brasil, considerada en 2 salarios mínimos. El ingreso del jefe de familia fue calculado como porcentual de individuos ganando menos de dos salarios mínimos dividido por el número total de domicilios. Definimos áreas de renta baja aquellas con las secciones censales donde más del 50% de los jefes de familia ganan menos de dos salarios mínimos. 2) La densidad poblacional fue estimada tomando la población de la sección censal dividida por su área. Un área de alta o baja densidad se definió con el valor mediano de la densidad poblacional (15515,4 habitantes/km^2) como línea de corte. 3) La densidad de hogares se expresó como el número promedio de personas por hogar en una sección censal. El indicador de persona por sección censal fue usado para distinguir entre secciones censales con mayor hacinamiento tomando como punto de corte 3,5 personas/domicilio. 4) Los hogares sin suministro interno de agua fueron usados para identificar posibles depósitos de agua en los domicilios o su

vecindad y en consecuencia sitios potenciales de cría del vector. Este indicador se expresó como porcentual de casas con suministro interno de agua por sección censal. Basados en la distribución de datos se consideraron las áreas con menos del 80% de los hogares con suministro doméstico de agua por cañerías como áreas de riesgo. Se construyó una base de datos vinculando los registros individuales con los indicadores de área.

Pruebas serológicas - Una muestra de 10 ml de sangre fue tomada con Vacutainer® (Becton Dickinson) a todos los participantes durante la visita de hogares, se procesó dentro de las 12 hs, y se conservó a -20 ºC. Las muestras de sueros fueron tamizadas para IgM/IgG mediante un enzimoinmunoanálisis (EIA-PANBIO®), punto de corte de muestras sero-reactivas ≥ 0,5 unidades de densidad óptica. Cada lote de muestras incluyó sueros controles positivos y negativos en cada placa. Los resultados negativos (≤ 0,3) y marginales fueron combinados para el análisis de datos e interpretados como individuos no infectados. El equipo comercial utilizado identifica anticuerpos para los cuatro serotipos de dengue. El uso de este ensayo semicuantitativo no permite la discriminación entre infección primaria y secundaria o entre los serotipos que circulan a nivel de la población. Todas las pruebas serológicas fueron realizadas en el Instituto de Patología Tropical y Salud Pública, Laboratorio de Referencia Viral de la Universidad Federal de Goiás.

Análisis estadístico - La prevalencia se definió como el número de individuos seropositivos detectados por 100 participantes. La tasa de prevalencia global con su respectivo IC 95% fue estandarizada por grupos de edad y por sexo en relación a la estructura poblacional en el censo del año 2000 (16). La seroprevalencia de infección de dengue fue también estratificada en las 9 macro-regiones. Se utilizó el Modelo Lineal Generalizado el cual se considera una metodología estadística adecuada para estudios de niveles múltiples, teniendo en cuenta dos niveles de exposición (información individual y espacial de área) (20). La estrategia de construcción del modelo involucra dos etapas (21): Primero se exploró la correlación con el resultado de todas las variables explicativas simples a nivel individual y de área mediante el coeficiente de correlación de Pearson R. En una segunda etapa todos los predictores estadísticamente significativos (P> 0,15) de infección de dengue en el análisis univariado fueron incluidos en un modelo multivariado mediante un análisis discriminante escalonado hacia atrás (*backward stepwise*) para controlar factores de confusión. Otro modelo incluyendo todas las variables independientes también fue probado utilizando el procedimiento discriminante escalonado. Los OR ajustados y sus IC 95% fueron calculados usando la estadística de Wald para estimación de máxima verosimilitud no condicionada, y así evaluar el riesgo de infección de dengue. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa SPSS para *Windows* versión 10.0 (SPSS Inc).

Análisis espacial - La dirección de residencia de cada participante fue geor-referenciada manualmente en el mapa digital de la ciudad usando el programa *ArcView* GIS versión 3.2, el cual genera una capa de patrón de puntos. La distribución espacial de los puntos de los individuos seropositivos fue estadísticamente evaluada para obtener un estimado suavizado de los valores de prevalencia aplicando el método dual de Kernel, utilizando el programa *CrimeStat*

versión 2.0. La estimación de densidad de Kernel es una técnica de interpolación y suavizado para generalizar la ubicación de puntos en toda el área. Consiste en colocar una función tridimensional móvil (el *kernel*), de un radio o ancho de banda dado, que visita por turno cada evento, y pondera el área de alrededor del punto de acuerdo a su distancia desde el centro de la esfera (punto de referencia). La suma de dichos *kernels* individuales es entonces calculada para la región en estudio y genera una superficie suavizada de riesgo de enfermedad (22). En nuestro estudio una técnica de Kernel dual se aplicó para comparar la densidad estimada de individuos seropositivos con la densidad estimada de todos los participantes (población en riesgo). Esa proporción (seropositivos/totales) representó la distribución espacial de la prevalencia estimada de dengue para el área de estudio. Hemos usado el método normal de interpolación y un ancho de banda fija de 1500 metros. Los resultados se graficaron usando el programa ArcView GIS.

Ética - El estudio se realizó según el protocolo para humanos aprobado por el Comité Regional de Ética de la Universidad Federal de Goiás. Todos los participantes adultos o sus guardianes legales firmaron el consentimiento informado.

Resultados

Un total de 1610 domicilios fue visitado durante un período de 14 días incluyendo sábado y domingo, con una tasa de rechazo de 1,3% (21 individuos). Aceptaron la entrevista y la extracción sangre 1589 personas, pero 4 muestras fueron excluidas debido a muestras inadecuadas. La prevalencia global a infección de dengue fue de 29,5% (IC 95% = 27,3-31,8%) después de la estandarización por grupo de edad y sexo. Entre los participantes entrevistados los niños y jóvenes adultos estuvieron sub-representados y las mujeres comprendieron dos tercios de los participantes. Seropositividad a la infección de dengue fue encontrada en participantes desde los 7 años de edad con una tendencia al aumento con la edad. No hubo diferencia en la tasa de prevalencia según el sexo (Tabla 1)

Tabla 1. Seroprevalencia de infección viral de dengue

Característica	**Nº Seropositivos*/ Total (%)**	**CI 95 %**
Sexo		
Mujer	343 / 1066 (32,2)	29,4-35,1
Hombre	163 / 519 (31,4)	27,4-35,5
Edad (años) **		
5 -14	14/63 (22,2)	12,7-34,5
15-49	329/1084 (30,4)	27,6-33,2
≥ 50	163 / 438 (37,2)	32,7-41,9

* Seropositivos = seroreactivos a IgM/IgG. ** $\chi^2 = 9,7$, gl =2, $P < 0,01$.

Análisis del patrón espacial de puntos - Las tasas de prevalencia por macroregión presentaron un rango entre 23,6% (IC 95% 16,8-31,5%) y 41,6% (IC 95% 34,2-

49,2%), con las tasas mayores detectadas en los suburbios de la ciudad. En contraste, en las áreas centrales se observaron tasas de prevalencia menores, estadísticamente significativas (23.6-28.8%). La figura 1 muestra la distribución de los participantes seropositivos y seronegativos referenciados por dirección de residencia. La superficie de densidad de prevalencia, generada por el análisis espacial de puntos (Kernel dual) muestra una variación marcada del 20% al 50% dentro de la ciudad, discriminando dos "puntos calientes" (*hot spots*) con una prevalencia estimada hasta 50% en las áreas sudeste y noreste, en contraste con la menor prevalencia estimada en el área central (figura 2).

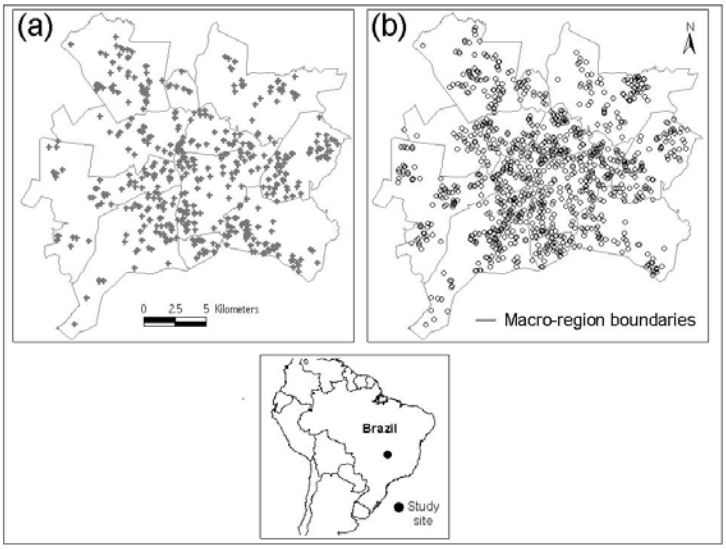


Figura 1. Distribución de participantes seropositivos (a) y seronegativos (b) en la encuesta de domicilios sobre infección de Dengue en Goiânia, Brasil

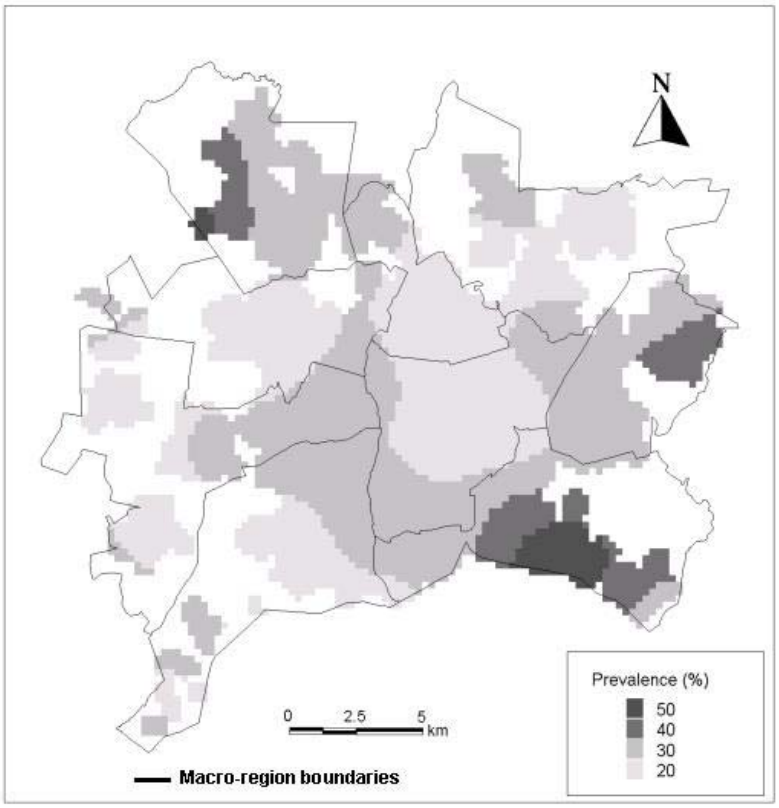


Figura 2. Estimación Kernel de seroprevalencia de Dengue en Goiânia, Brasil, 2001.

Evaluación de factores de riesgo - A nivel individual existe una correlación positiva significativa entre seroprevalencia y educación e historia personal y familiar de dengue. De la misma manera se encontró un coeficiente de correlación positiva entre seroprevalencia y la renta del jefe de familia (indicador basado en área). La vacunación antiamarílica no estuvo estadísticamente relacionada con la seropositividad de dengue (Tabla 2). El análisis multivariado mostró que los individuos con más de 50 años tienen el doble de riesgo de estar infectados comparados con los grupos etarios menores. Los individuos analfabetos tienen un mayor riesgo de una infección previa de dengue (OR = 3,45) cuando se comparan con los individuos escolarizados. El dengue autoreferido (OR = 3,13) y la historia familiar de dengue (OR= 1,71) estuvieron también asociadas con una mayor prevalencia de infección de dengue. Cuando se consideraron las variables contextuales la renta del jefe de familia permaneció estadísticamente asociada con la infección de dengue, aun cuando se la controló con la educación a nivel individual (Tabla 3). El dengue autoreferido y la historia familiar positiva de dengue presentó un valor predictivo del 60,0% y 51,1% en relación a la sero-reactividad.

Tabla 2. Coeficiente de correlación según los factores de riesgo potenciales, individuales y basados en área

Variable	**Coeficiente de correlación**	***P***
Nivel individual*		
Sexo	0,008	0,7
Grupo de edad (años)	0,078	0,002
Educación	0,116	< 0,001
Dengue autoreferido	0,186	< 0,001
Historia familiar de dengue	0,127	< 0,001
Vacuna fiebre amarilla	0,004	0,9
Indicadores basados en área**		
Renta jefe de familia	0,092	< 0,001
Densidad población	-0,006	0,8
Hacinamiento	0,032	0,2
Agua corriente domiciliar	0,11	0,6

* Encuesta serológica. ** Indicadores derivados de datos censales

Discusión

La encuesta de hogares realizada en un área intensamente urbanizada en Brasil central mostró un 29,5% de prevalencia de exposición previa a dengue en toda la ciudad. Usando el análisis de patrón espacial de puntos la prevalencia estimada de superficie tuvo un pico de 50%, que corresponde a un posible agregado de individuos

infectados en los suburbios de la ciudad. El método de Kernel dual aplicado permitió explorar la variación de la exposición previa viral dentro de la ciudad, teniendo en cuenta tanto la densidad del evento (muestras positivas) como la población en riesgo (muestras totales). En la aproximación por niveles múltiples el riesgo de adquirir una infección de dengue estuvo significativamente asociado con el menor nivel socio-económico y la renta en el nivel basado en área.

Tabla 3. Modelo logístico multivariado para infección por virus de dengue usando factores de riesgo potenciales, individuales y basados en área

Factor de riesgo	**Nº Seropositivos*/ Total (%)**	**OR ajustados (IC 95%)**	***P***
Grupo de edad (años)			
≥ 50	163/438 (37,2)	2,11 (1,09–4,08)	0,03
15-49	329/1,084 (30,4)	1,75 (0,92–3,34)	0,09
5-14	14/63 (22,2)	1	
Educación			
Analfabeto	48/99 (48,5)	3,45 (1,82–6,55)	< 0,001
Escuela elemental	311/920 (33,8)	2,02 (1,24–3,28)	0,004
Escuela madia	117/423 (27,7)	1,62 (0,98–2,69)	0,06
Terciario	29/133 (21,8)	1	
Dengue autoreferido			
Si	81/135 (60,0)	3,13 (2,11–4,65)	< 0,001
No	416/1,430 (29,1)	1	
Historia familiar			
Dengue si	67/131 (51,1)	1,71 (1,15–2,54)	0,008
Dengue no	417/1,386 (30,1)		
Renta jefe de hogar			
< 2 salarios mínimos	172/448 (38,4)	1,32 (1,02–1,71)	0,03
≥ 2 salarios mínimos	325/1,124 (28,9)		

* Seropositivos = seroreactivos a IgM/IgG, % excluyendo datos perdidos

Los "puntos calientes" identificados por el análisis espacial sugieren heterogeneidad en la transmisión de la infección por dengue en este escenario urbano. El agregado espacial de individuos infectados en áreas de alto riesgo no contiguas discrimina áreas para investigaciones futuras, como fue sugerido por otros investigadores (22). A pesar de la asociación de bajo nivel socio-económico con infección de dengue, no se detectó correlación entre la seroprevalencia de dengue y el hacinamiento en el estudio basado en área, lo cual es diferente de lo informado en el noreste de Brasil (23). Esta falta de correlación puede ser explicada por la presencia de residentes de mayor ingreso en departamentos de altos en el centro de la ciudad. En nuestro sitio de estudio se han descrito mayores prevalencias de otras enfermedades infecciosas en las áreas donde se superpone bajo nivel socio-económico y baja densidad poblacional (24). La ausencia de una relación entre áreas con pobre suministro de agua domiciliar por cañería y la prevalencia de infección de dengue es coherente con los hallazgos de las actividades de rutina para la vigilancia vectorial en la ciudad, las cuales identificaron como sitios predominantes de cría de *Ae. aegypti* a receptáculos

descartables y no a los depósitos de agua. Se debe mencionar que las variables a nivel individual y los datos censales coinciden estrechamente en el tiempo (2000-2001).

Cuando se considera la seroprevalencia global como indicador de una infección pasada, se estiman aproximadamente 29.500 infecciones por 100.000 personas, correspondiendo a unos 340.000 residentes infectados previamente con el virus del dengue en la ciudad. Este cómputo es notablemente más alto que los 9.544 casos notificados en el municipio desde la introducción del dengue en 1994. Datos provenientes de otras ciudades de Brasil también han demostrado que los individuos seropositivos son muchos más que los casos de dengue registrados (25-28), aún durante las epidemias en Río de Janeiro en la década de 1980 (29, 30). En este sentido se ha informado de infecciones inaparentes o subclínicas o enfermedad leve producida por todos los serotipos de dengue, lo que genera una transmisión de dengue no detectada por los sistemas de vigilancia de rutina (31-34). En nuestro estudio la mayor seroprevalencia en adultos fue consistente con el patrón etario de los casos notificados por los datos de vigilancia. Sin embargo los niños poseían marcadores de infección de dengue mostrando una exposición temprana al virus, y sugiriendo un posible desplazamiento en la ocurrencia de dengue en el futuro de los adultos a los niños.

En nuestro estudio las mujeres y los grupos mayores estuvieron sobre-representados, debido probablemente a su presencia durante las entrevistas diurnas, y quizás por el deseo de participación. Es conocido que los hombres y los grupos de edad menores están usualmente sub-representados en encuestas serológicas en Brasil (29), y en otros países (35) debido a aspectos culturales varios. Sin embargo la prevalencia de infección de dengue fue similar entre hombres y mujeres, aumentando con la edad, indicando una exposición acumulativa al virus, similar a la distribución oficial de casos de dengue en todo Brasil

La ventaja de usar un inmunoensayo comercial para evaluar un gran volumen de muestras en tamizajes serológicos esta bien documentada (35,36). Este enzimoinmunoanálisis debería detectar todos los serotipos (DENV 1-4) y tener una especificidad y sensibilidad similar a la prueba de inhibición de hemaglutinación, considerada estándar para el diagnóstico de dengue (36,37). La vigilancia laboratorial de rutina ha indicado que el serotipo circulante mas frecuente es DENV-1, así como la introducción del DENV-2 en 1998, sugiriendo una co-circulación de sólo dos serotipos en la ciudad por un período corto. En consecuencia puede asumirse que la mayor parte de los individuos seropositivos detectados por esta encuesta comunitaria han tenido una infección primaria de dengue. En esta región se ha mantenido una alta cobertura de vacunación antiamarílica debido al turismo ecológico y al riesgo de transmisión de fiebre amarilla selvática. Aunque se han descrito reacciones cruzadas en inmunoensayos de individuos que recibieron la vacuna contra la fiebre amarilla (38) los resultados en nuestro estudio entre vacunados y no vacunados no fueron estadísticamente diferentes, corroborando la alta especificidad de la prueba (39). Según nuestro conocimiento no se han detectado en el sitio de estudio tampoco otros flavivirus con el potencial de causar reacciones cruzadas con el inmunoensayo.

En conclusión, nuestros resultados identificaron áreas blanco donde programas concentrados en los comportamientos de movilización social y comunicación

(Comunicación para impactar la conducta -COMBI) (40) deben ser implementados para reducir los sitios de cría del mosquito con participación comunitaria. De la misma manera, cuando los recursos lo permitan, deben ser realizadas encuestas serológicas de base poblacional como componente de una estrategia integral de vigilancia y de dengue.

Referencias

1. Halstead SB. The Alexander D. Langmuir Lecture. The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infectious disease. Am J Epidemiol 114, 1981: 632–648.
2. Gubler DJ. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. Emerg Infect Dis 4, 1998: 442–450.
3. Pinheiro PF, Corber SJ. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever, and its emergence in the Americas.World Health Stat Q 50, 1997: 161–169.
4. Rigau-Perez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever.Lancet 352, 1998: 971–977.
5. Guzman MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. J Clin Virol 27, 2003: 1–13.
6. Monath TP. Dengue: the risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci USA 9, 1994: 2395–2400.
7. Barrera R, Delgado N, Jimenez M, Villalobos I, Romero I.Estratificación de una ciudad hiperendémica en dengue hemorrágico. Rev Panam Salud Publica 8, 2000: 225–233.
8. World Health Organization. Dengue/dengue haemorrhagic fever in the Americas. Summary of research and control in the Americas. TDR News 64: 12, 2001
9. Schatzmayr HG, Nogueira RM, Travassos da Rosa AP. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro - 1986. Mem Inst Oswaldo Cruz 81, 1986: 245–246.
10. Nogueira RM, Miagostovich MP, Schatzmayr HG. Molecular epidemiology of dengue viruses in Brazil. Cad Saude Publica 16, 2000: 205–211.
11. Pan American Health Organization. Number of Reported Cases of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Region of the Americas (by Country and Subregion). 2001 http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/dengue-cases-2001.htm.
12. Barbosa da Silva J Jr, Siqueira JB, Coelho GE, Vilarinhos PT, Pimenta FG Jr. Dengue in Brazil: current situation and prevention and control activities. Epidemiol Bull 23, 2002: 3–6.
13. Fundação Nacional de Saúde. Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998. Bol Epidemiol Edicao Especial, 1999: 7–8.
14. Massad E, Coutinho FA, Burattini MN, Lopez LF. The risk of yellow fever in a dengue-infested area. Trans R Soc Trop Med Hyg 95, 2001: 370–374.
15. Diez-Roux A Bringing context back into epidemiology. Variables and fallacies in multilevel analysis. Am J Public Health 88, 1998: 216–222.
16. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2002. Goiânia - Base de Informações por Setor Censitário - Censo Demográfico 2000. Rio de Janeiro. CD ROM.
17. Pontes RJ, Freeman J, Oliveira-Lima JW, Hodgson JC, Spielman A. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. Am J Trop Med Hyg 62, 2000: 378–383.
18. Lemeshow S, Hosmer DW Jr, Klar J, Lwanga SK. Sample size for sample surveys. En: Lemeshow S, Hosmer DW Jr, Klar J, Lwanga SK, eds. Adequacy of Sample Size in Health Studies. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, 41–47,1990.
19. Schlesselman Jj. Sample size. Schlesselman JJ, ed. Casecontrol studies: Design, Conduct, Analysis. New York: Oxford University Press, 144–170, 1982
20. Morgenstern H. Ecologic studies. Rothman K, Greenland S, eds. Modern Epidemiology. Second edition. Philadelphia: Lippincott-Raven, 459–480, 1998

21. Hosmer DW Jr, Lemeshow S. Model-building strategies and methods for logistic regression. Hosmer DW Jr, Lemeshow S, eds. Applied Logistic Regression. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, 82–134, 1989
22. Gatrell CA, Bailey TC, Diggle PJ, Rowlingson BS. Spatial point pattern analysis and its application in geographical epidemiology. Trans Inst Br Geogr 21, 1996: 256–274.
23. Teixeira MG, Barreto ML, Costa MC, Ferreira LD, Vasconcelos PF, Cairncross S. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. Trop Med Int Health 7, 2002: 757–762.
24. Martelli CM, Moraes Neto OL, Andrade AL, Silva SA, Silva IM, Zicker F. Spatial patterns of leprosy in an urban area of central Brazil. Bull World Health Organ 73, 1995: 315–319.
25. Vasconcelos PF, Travassos da Rosa ES, Travassos da Rosa JF, de Freitas RB, Degallier N, Rodrigues SG, Travassos da Rosa AP. Outbreak of classical fever of dengue caused by serotype 2 in Araguaiana, Tocantins, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 35, 1993: 141–148.
26. Vasconcelos PF, Lima JW, Rosa AP, Timbo MJ, Rosa ES, Lima HR, Rodrigues SG, Rosa JF. Dengue epidemic in Fortaleza, Ceara: randomized seroepidemiologic survey. Rev Saude Publica 32, 1998: 447–454.
27. Lima VLC, Figueiredo LT, Correa HR, Leite OF, Rangel O, Vido AA, Oliveira SS, Owa MA, Carlucci RH. Dengue fever: a post-epidemic sero-epidemiological survey in an urban
setting at a northwestern county of Sao Paulo State, Brazil. Rev Saude Publica 1999: 566–574.
28. Vasconcelos PF, Lima JW, Raposo ML, Rodrigues SG, da Rosa JF, Amorim SM, da Rosa ES, Moura CM, Fonseca N, da Rosa AP. A seroepidemiological survey on the island of São
Luís during a dengue epidemic in Maranhão. Rev Soc Bras Med Trop 32, 1999: 171–179.
29. Dietz VJ, Gubler DJ, Rigau-Perez JG, Pinheiro F, Schatzmayr HG, Bailey R, Gunn RA. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of a clinically based dengue surveillance system. Am J Epidemiol 13, 1990: 693–701.
30. Figueiredo LT, Cavalcante SM, Simoes MC. Dengue serologic survey of schoolchildren in Rio de Janeiro, Brazil, in 1986 and 1987. Bull Pan Am Health Organ 24, 1990: 217–225.
31. Chen WJ, Chen SL, Chien LJ, Chen CC, King CC, Harn MR, Hwang KP, Fang JH. Silent transmission of the dengue virus in southern Taiwan. Am J Trop Med Hyg 55, 1996: 12–16.
32. Hayes CG, Phillips IA, Callahan JD, Griebenow WF, Hyams KC, Wu SJ, Watts DM. The epidemiology of dengue virus infection among urban, jungle, and rural populations in the
Amazon region of Peru. Am J Trop Med Hyg 55, 1996: 459–463.
33. Guzman MG, Kouri G, Valdes L, Bravo J, Alvarez M, Vazques S, Delgado I, Halstead SB. Epidemiologic studies on dengue in Santiago de Cuba, 1997. Am J Epidemiol 152, 2000: 793–799.
34. Endy TP, Chunsuttiwat S, Nisalak A, Libraty DH, Green S, Rothman AL, Vaughn DW, Ennis FA. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. Am J Epidemiol 156, 2002: 40–51.
35. McBride WJ, Mullner H, LaBrooy JT, Wronski I. The 1993 dengue 2 epidemic in North Queensland: a serosurvey and comparison of hemagglutination inhibition with an ELISA. Am J Trop Med Hyg 59, 1998: 457–461.
36. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. Second edition. Geneva: World Health Organization, 34–47, 1997.
37. Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Nguyen MD, Kneen R, Cuzzubbo A, Devine PL. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. Am J Trop Med Hyg 60, 1999: 693–698.
38. Schwartz E, Mileguir F, Grossman Z, Mendelson E. Evaluation of ELISA-based sero-diagnosis of dengue fever in travelers. J Clin Virol 19, 2000: 169–173.
39. Cuzzubbo AJ, Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Aaskov J, Dung NM, Devine PL. Comparison of PanBio Dengue Duo IgM and IgG capture ELISA and venture technologies dengue IgM and IgG dot blot. J Clin Virol 16, 2000: 135–144.
40. World Health Organization, 2002. Mobilization for Action: Communication-for-Behavioural-Impact (COMBI). Geneva. http://www.emro.who.int/rbm/publications/combibackground.pdf.

Diseño piloto de intervención y evaluación de participación de escolares en el control del *Aedes aegypti*. Tartagal, Salta, Argentina, 2001–2002

Mario Zaidenberg, Mirtha Eiman Grossi, Nora Lopez, Héctor Janútolo, Noemí Ester Suárez, Felipe Ruiz, René Luna, Raúl Durán, Emilio Luna, Carlos Torino, Martín Echazú, Coordinación Nacional de Control de Vectores Salta. Coordinación de Control de Vectores Tartagal, Argentina

Resumen – Debido a dificultades para lograr un compromiso aceptable de la comunidad con estrategias convencionales contra el dengue en la Ciudad de Tartagal, se trabajaron conjuntamente los sectores Salud y Educación, incorporando en la currícula escolar contenidos específicos sobre Dengue. La capacitación formal en escuelas logrará la participación de docentes, escolares y familiares, consiguiendo niveles bajos de infestación en domicilios y niveles altos de conocimiento, actitudes y prácticas en escolares. Se realizó un ensayo de intervención, prospectivo, con seguimiento de 18 meses, en dos escuelas de la Ciudad. Como control se seleccionó a dos escuelas con similares características socio-ambientales. Se realizaron 1.625 encuestas en 4 momentos diferentes: pre-intervención, post-capacitación inmediata, a los 6 meses y al año. Los datos analizados provinieron de encuestas y de 2.302 domicilios evaluados en terreno en los mismos períodos. Coincidentemente con la capacitación ocurrió un brote de Dengue en la Ciudad. La segunda encuesta resultó con altos niveles de respuestas correctas ambos grupos: "intervenidos y no intervenidos" por incremento de información masiva. Este grado de conocimiento en la población, aportó al estudio una comunidad de control "no pura".Durante la III y IV encuesta, los escolares intervenidos mantuvieron sus conocimientos mientras que los niveles de los no intervenidos descendieron para todas las variables. Respecto al terreno, los porcentajes de descenso de los indicadores, Breteau, Viviendas Positivas y Recipientes Tratados, fueron mayores en los barrios de escolares con intervención.La información de temas de salud en medios de comunicación aumenta el nivel de conocimientos de la población pero su eficacia tiene alcance limitado. La capacitación formal favorece la adquisición de Conocimientos, Actitudes y Prácticas por lo que sirve a la modificación de hábitos en forma persistente.

Palabras clave: Dengue, Argentina, intervención, participación, escolares

Introducción

La primera epidemia confirmada por laboratorio de dengue en Argentina en el siglo XX ocurrió en el año 1998, y afectó a 8 localidades de la provincia de Salta con un total de 822 personas que desarrollaron el dengue clásico entre los meses de enero a mayo (meses estivales). A partir del año 2000 ocurrieron epidemias de dengue clásico en cuatro provincias (Noroeste: Salta y Jujuy, Noreste: Formosa y Misiones), en varias ocasiones (años 2000, 2002, 2003, 2004), producidas por tres serotipos

identificados (1-3), constituyéndose el dengue en un problema epidemiológico potencialmente grave para el país.

El epicentro de la epidemia de 1998 fue la ciudad de Tartagal, registrando aproximadamente la mitad de los casos informados. Estudios posteriores revelaron que por lo menos el 66% de la población de Tartagal sufrió una infección por dengue serotipo 2 (1) Luego de esta epidemia las evaluaciones entomológicas revelaron cifras de infestación de viviendas por *Aedes aegypti* del 60% en los meses estivales. La estrategia convencional de control en la ciudad de Tartagal (tratamiento focal con *Temephos*, descacharrado, educación sanitaria en ámbito comunitario), aparentemente no produjó variaciones significativas en los índices sanitarios y condiciones medioambientales, según informes del Programa Nacional de Paludismo (PRONAPA). En los últimos años la infestación osciló estacionalmente con índices de viviendas positivas de hasta el 60% y de Breteau algo más altos.

Por otra parte experiencias relacionadas con enfermedades infecciosas, en comunidades de América Latina y África, lograron motivar a través de las escuelas a los niños y por medio de ellos a sus familias, quienes mejoraron las condiciones ambientales y en consecuencia los indicadores sanitarios locales. Se proyectó por ello realizar en Tartagal el trabajo presentado aquí, ante las dificultades de lograr un compromiso aceptable por parte de la comunidad con las estrategias convencionales. Se asumió que el niño receptor de un mensaje, de acuerdo al modelo del continuo de modificación del comportamiento, adopta conductas positivas con repercusión en el ámbito de su hogar. Para instrumentar el proyecto se vinculó mediante un acuerdo interinstitucional al sector salud, que puede dar respuestas inmediatas, con el sector educación que puede proporcionar modificaciones en el comportamiento de los niños a largo plazo, logrando la incorporación en la currícula escolar de contenidos y actividades sobre dengue en dos escuelas primarias de la ciudad de Tartagal

A diferencia de los conocimientos adquiridos de manera informal (medios masivos de comunicación), esta capacitación específica y formal en las escuelas debería lograr una mayor participación activa de la comunidad escolar, docentes, niños y sus familiares. De esta manera se obtendrían niveles más bajos de infestación en las viviendas por más tiempo, y niveles más altos de conocimiento, actitudes y prácticas en los escolares capacitados. Para comprobarlo se transfirieron los conocimientos de prevención y control de *A. aegypti* mediante talleres a docentes multiplicadores, y se evaluó el impacto de la estrategia en los conocimientos y prácticas mediante la selección de una metodología apropiada, incluyendo escuelas control "no intervenidas". Las características de los efectores, pertenecientes al propio sistema de salud y educativo, favorecen la transferencia de resultados, para convertir los resultados de las investigaciones en medidas efectivas que contribuyan a prevenir futuros brotes epidémicos.

Materiales y métodos

Diseño y Tipo de Estudio - Estudio cuasi-experimental (ensayo de intervención) prospectivo, longitudinal y de seguimiento. *Area de estudio* - Tartagal, Departamento

San Martín, a 450 km al norte de la ciudad de Salta, aproximadamente 65.000 habitantes y 13.500 viviendas. *Población de estudio* - Muestra seleccionada para optimizar tiempo y recursos. El taller de capacitación a docentes multiplicado a alumnos de 5^0 y 6^0 grado turno mañana y tarde, capacitó en las dos escuelas intervenidas 383 personas y en las control 547 entre maestros y niños. *Unidad de estudio* - Cada institución escolar seleccionada y los trabajos en terreno realizados. *Unidad de medida* - docentes y alumnos (escuelas intervenidas o control), resúmenes de las evaluaciones entomológicas de los domicilios pertenecientes a las poblaciones de estudio. *Criterios de selección de las escuelas* - Pertenecen a cuatro barrios diferentes con población urbana, cifras de infestación semejantes, nivel socioeconómico y características sanitarias, y análogos tipos de recipientes prevalentes. La asignación de la Escuela/Barrio al grupo intervención o control se realizó en forma aleatoria.
Intervención- Ciclo lectivo 2001 y 2002 (18 meses). Talleres: uno a docentes sobre prevención y control del *Aedes aegypti* y tres de docentes quiénes transmitieron a sus alumnos a través del desarrollo de actividades teórico-prácticas con lectura, discusión y plenario de contenidos temáticos. Encuestas: cuatro en mismas fechas escuelas intervenidas y control: previa a talleres, a los 6 meses, al finalizar el ciclo lectivo, al año de los talleres (1.265 encuestas)
Fuentes primarias de los datos y análisis - Encuestas en escuelas intervenidas y control, analizadas con programa *Epi-info* versión 6.04 (CDC-Atlanta), con base de datos pre-codificados, tablas de contingencia de dos entradas respuesta correcta e incorrecta (porcentual) y escuela intervenida o control, los resultados que inferían diferencias significativas (RR <1, IC 0-0,99, $P < 0,05$) entre ambos grupos fueron considerados como "Efectos protectores" por mayor conocimiento. - Resumen de las planillas de la evaluación entomológica rutinaria realizada por personal técnico del área en los domicilios de los participantes, en los mismos períodos analizados, utilizando el programa *Excel* (Microsoft). *Índices* - Los índices de infestación comunitaria usuales están sujetos a factores complejos no ligados a las posibilidades de control por la comunidad (p.e. recipientes en lugares públicos como cementerios, gomerías, chatarrerías con escaso nivel de control), o la "contaminación" por vectores de zonas vecinas, dando cifras de riesgo altas aún en los grupos de intervención (2), en este trabajo los índices utilizados fueron: "Porcentaje de viviendas positivas": Viviendas positivas / viviendas visitadas (x 100); "Índice de Breteau": Focos de *Aedes* / viviendas visitadas (x 100); "Índice de recipientes": Focos de *Aedes* / Recipientes con agua (x 100).
Consideraciones éticas - La metodología utilizada no implicó riesgos para los participantes de la experiencia con y sin talleres capacitantes. Las acciones, además de no ser invasivas, no interfirieron en las actividades habituales que se hicieron sobre toda la ciudad de Tartagal. A pesar de ello, se elaboró un formulario de consentimiento destinado a los niños, docentes y familiares que intervinieron en el trabajo.

Resultados

En la tabla 1 se observa el número de encuestas de evaluación escolar realizadas. La cuarta evaluación realizada a los 15 meses del inicio de los talleres recuperó un poco mas de la mitad de las tres fechas anteriores (248) debido a deserción escolar, cambios de domicilios y la incorporación a la etapa del polimodal de los alumnos de 6ª grado.

Tabla 1. Encuestas realizadas por fecha y escuela, Tartagal, Argentina

Encuesta	**Fecha**	**Frontera**	**Cornelio Saavedra**	**Armada Argentina**	**Divina Misericordia**	**TOTAL**
Grupo		**Control**	**Control**	**Intervención**	**Intervención**	
1	Mar-Abr-01	105	89	108	121	423
2	Jul-Ag-01	114	110	113	124	461
3	Nov-Dic-01	123	136	111	123	493
4	Jun-02	72	53	49	74	248
TOTAL		**414**	**388**	**381**	**442**	**1625**

Evaluacion pre-capacitación (marzo-abril 2001)- Conocimiento de situación de dengue en Tartagal: No se observaron diferencias significativas, aunque fue mayor en una escuela del grupo intervención (Armada Argentina). *Conocimientos de la enfermedad*: La descripción de síntomas, y "¿quién transmite la enfermedad?" presentó efecto protector a favor de las escuelas del grupo intervención. *Características del Aedes aegypti*: aunque en general las respuestas correctas fueron pocas, aquellas sobre hora que pica, tiempo que vive, ciclo biológico, fue significativamente mayor en el grupo intervención. *Protección:* Entre el 60 al 80% de los alumnos sabían cómo hacerlo, la mayoría optó por espirales y aerosoles siguiendo en orden de frecuencia repelentes y telas mosqueras (toldillos). *Prevención*: La mitad de los alumnos sabía como hacerlo, más en la casa que en la escuela.

Evaluación II post-intervención(julio-agosto 2001) - Entre febrero y abril del 2001 ocurrió un brote de dengue en Tartagal. Por ello los medios masivos de difusión (TV, radio, diarios, panfletos municipales, etc.) intensificaron la frecuencia y aumentaron los contenidos sobre el tema, al tiempo que se comenzaba con el programa de capacitación formal mediante los talleres docentes. *Conocimiento de la situación*: Se incrementó en las cuatro escuelas, aunque resultó significativa las diferencia entre escolares a favor de las intervenidas en las preguntas "¿es peligroso?" y "¿porqué es peligroso el dengue?" *Conocimientos de la enfermedad*: En las escuelas control fue significativamente mayor el conocimiento sobre "¿cómo se transmite?", efecto protector de más del 10%. *Características del Aedes aegypti*: Se incrementaron en las 4 escuelas, efecto protector en intervenidas para "¿dónde vive el mosquito?" y "tiempo que vive". *Protección*: Los niveles de conocimiento crecieron hasta un 90%, la mayoría optó por las espirales. *Prevención*: Los niveles de conocimiento

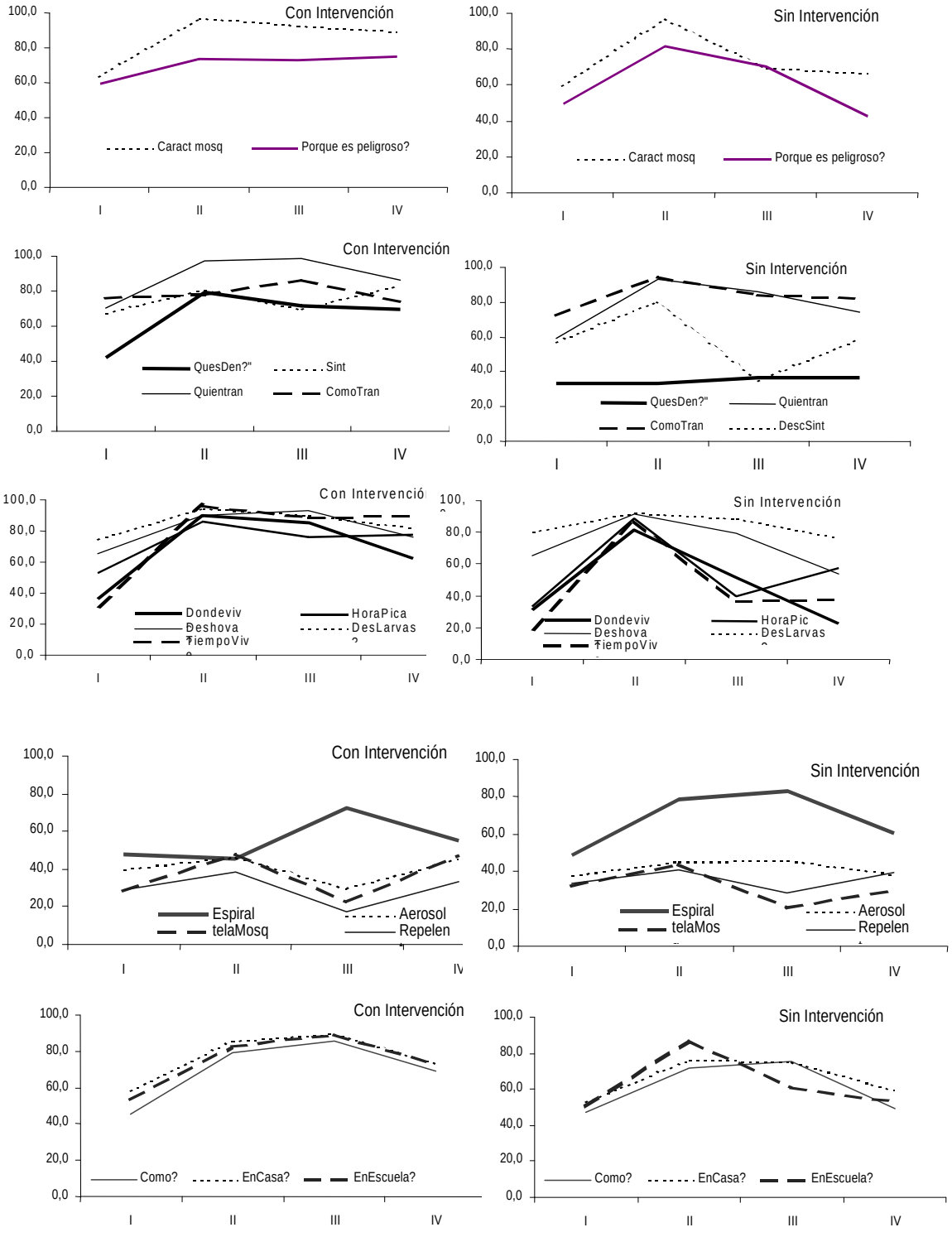
aumentaron un 20%, efecto protector en intervenidas para “¿cómo prevenir en la casa?” y “¿cómo prevenir en la escuela?” .

Evaluación III post-intervención(noviembre-diciembre 2001) - Se observaron diferencias significativas con efecto protector en el grupo intervención para: *Conocimientos sobre la situación* (Conoce al *A.aegypti?* Hay dengue en Tartagal?, Es peligroso?), aunque no en "¿Por qué es peligroso?"; *conocimientos de la enfermedad* (Qué es el Dengue?, Cómo se trnsmite?, Quién lo transmite? Describa síntomas.), *características del* Aedes aegypti (Dónde vive?, Tiempo que vive?, Dónde desova?, Ciclo biológico) aunque no para"¿Dónde desarrollan las larvas?”; y *prevención* en “¿cómo se previene?, ¿cómo prevenir en la casa?, ¿cómo prevenir en la escuela?”. *Protección:* obtuvo respuestas correctas en el 90% promedio, con las mismas prioridades de elección.

Evaluación IV post-intervención(julio 2002) - Se observaron diferencias significativas con efecto protector en el grupo intervención para: *Conocimientos sobre la situación*, *conocimiento de la enfermedad* (excepto para la pregunta "¿cómo se transmite?"), *características del* Aedes aegypti (excepto para "¿dónde desarrollan las larvas?”). *Protección*: Los dos grupos siguieron optaron las espirales y en segundo lugar los aerosoles. *Prevención*: "¿cómo prevenir en la casa?, ¿cómo prevenir en la escuela?” continuaron siendo mayores en el grupo control, pero sin ser una diferencia estadísticamente significativa.

Tendencias en el Tiempo de Niveles de Conocimiento Se muestran en la figura 1.

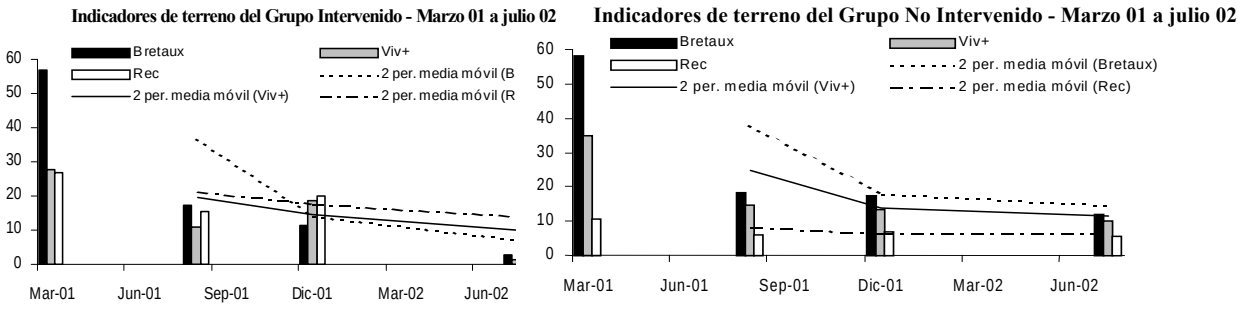
Figura 1. Preguntas seleccionadas de encuesta a escolares en I encuesta pre-intervención, II post-intervención, III 6 meses post-intervención, IV 12 meses post-intervención. Tartagal, Salta, Argentina. De gráfico superior a inferior: Conocimientos sobre la situación, conocimientos sobre la enfermedad, Características del *Aedes* aegypti, Protección y. Prevención



Evaluaciones en Terreno

El personal técnico del PRONAPA visita las viviendas cada 2 a 4 meses en forma rutinaria. En el período marzo 2001 a julio 2002 en las áreas de escuelas intervenidas y control se visitaron 2302 viviendas (500 a 600 por evaluación), resultaron positivas 373 con 565 focos de *Aedes*, y se trataron 1511 viviendas. Los resultados discriminados por indicador y grupo se muestran en la Figura 2 (con las medias móviles) y la tabla que la acompaña junto a las medias móviles.

Figura 2. Indicadores entomológicos (Viv Pos: Viviendas positivas (%), Ind Bret: Indice de Bretau, Ind rec: Indice de recipientes) en las viviendas de los grupos con y sin intervención. Tartagal. Salta, Argentina



Fecha	Indicador	Viv Pos (%)	Ind Bret	Ind Rec
Mar-Abr/01	**Sin Interv.**	34,6	58,0	10,5
	Con Interv	27,7	56,6	26,9
Nov-Dic-01	**Sin Interv.**	13,1	17,5	6,9
	Con Interv	18,5	11,5	19,8
Jun-jul-02	**Sin Interv.**	10,1	11,8	5,5
	Con Interv	1,4	2,9	8,1
Ag-Set-01	**Sin Interv.**	14,8	18,5	5,8
	Con Interv	11,0	17,1	15,4

Discusión

Durante la primera evaluación a docentes y alumnos se observó mayor nivel de conocimiento para algunas variables por una de las escuelas que más tarde sería seleccionada para ser "intervenida". Este aspecto sugiere que los alumnos de dichas escuelas ya tenían algún conocimiento de manera formal o informal sobre el tema dengue, habitual en la población general en un área de riesgo. Entre los primeros meses del 2001 ocurrió un brote de dengue clásico en la ciudad de Tartagal, los altos niveles porcentuales de respuestas correctas para algunas variables en el grupo de escuelas "no intervenidas" durante la segunda evaluación pone en evidencia la movilización social y aumento de comunicación (frecuencia y contenidos) a través de medios masivos de difusión como respuesta a este brote; esto último explica los altos

niveles de conocimiento para ambos grupos en las escuelas con intervención y sin intervención cuando se comenzó a desarrollar el programa de capacitación formal a través de los docentes, no existiendo así una comunidad de control "pura" (3). Ante el requisito de explicar "¿por qué es peligroso el dengue?" el nivel de conocimiento fue bajo en ambos grupos, en un promedio de 73%, sugiriendo que las características de la peligrosidad fueron poco tratadas por ambos vías: formal e informal.

A partir de la segunda evaluación se observaron mayores niveles de conocimiento sobre la variable "¿cómo se transmite la enfermedad?" en el grupo control respecto al grupo intervenido. Los niños y docentes de las escuelas donde no se impartió capacitación sabían casi 5 veces más sobre este tema que aquellos que sí fueron capacitados. Esto sugiere que debió ocurrir una diferente conceptualización del mecanismo de transmisión en lo impartido en la capacitación escolar, mientras que lo difundido por medios masivos respecto a este tema debió ser más claramente expresado y mejor percibido por la población. Asimismo se hace notar que ante la pregunta "¿qué es el dengue?" gran parte del grupo "no intervenido" respondió "es un mosquito", demostrando que en estos niños existe una confusión entre vector y enfermedad, que no fue aclarada por la comunicación informal. A nivel masivo tampoco se desarrolló el tema de características del *Aedes* (¿dónde vive?, ¿cuánto tiempo vive?, ¿a qué hora pica?, ciclo biológico). Por otra parte la información sobre "¿dónde pone los huevos?" y "¿dónde se desarrollan las larvas?", no muestra diferencias entre los dos grupos, sugiriendo que además de lo comunicado por los medios masivos de información y la capacitación formal, influyó probablemente el conocimiento previo adquirido por las familia a través de los técnicos, que en el terreno asisten casa por casa aconsejando sobre medidas para impedir el desove y el desarrollo de las larvas. El hecho de seleccionar los espirales como método de protección contra el mosquito entre otras opciones, hace suponer que estas diferencias son debidas al costo en el mercado de cada elemento, el porcentaje de los que utilizan el humo, mosquitero o repelente fue desestimable. Con relación a la prevención se observaron diferencias significativas entre ambos grupos con niveles más elevados en los intervenidos en dos preguntas puntuales: "¿cómo prevenir en la casa?" y "¿cómo prevenir en la escuela?", este resultado entre otros, afirmaría la importancia de la capacitación formal.

Tomando en cuenta la tendencia temporal casi todas las variables muestran un incremento en los niveles de conocimiento durante la segunda evaluación debido a las actividades de "intervención" con capacitación, a las difundidas por medios masivos y a las visitas casa por casa de los técnicos en terreno. Sin embargo en el grupo "no intervenido", este nivel de conocimiento rápidamente desciende en la tercera y cuarta evaluación llegando incluso a cifras menores que las iniciales, demostrándose a su vez el efecto protector de la capacitación escolar. Nuestra experiencia evidencia una respuesta heterogénea en los niños de las escuelas intervenidas, a diferencia de otros trabajos donde se observó un incremento homogéneo en el nivel de conocimiento de la comunidad escolar luego de una epidemia de dengue

Los índices entomológicos demuestran que el trabajo regular de los agentes técnicos, conjuntamente con el compromiso comunitario, resulta en índices que no logran prevenir nuevos brotes epidémicos. En un estudio observacional realizado en

Asunción, Paraguay, se destaca la disparidad entre el nivel de conocimientos y las prácticas observadas en la misma población. Esta situación fue definida por Allport como "segregación del conocimiento con respecto a la conducta": la mayoría de los municipios aceptan tener responsabilidad en la eliminación de criaderos de mosquitos con participación de su comunidad (revisación organizada de criaderos de mosquitos en baldíos y calles), pero no se transforma en práctica ya que el 89% de los encuestados no están organizados en su comunidad y manifestaron que nunca tuvieron actividades comunitarias. Aunque los índices entomológicos encontrados en Tartagal no sean los óptimos esperables, el descenso porcentual en los barrios con familias de escolares con intervención, fue evidentemente mayor que entre los controles. Así el beneficio para los barrios de hogares con niños que han recibido capacitación formal fue de más del 25% para los tres índices respecto a aquellos sin intervención, a diferencia de lo observado en otro trabajo, en Brasil, donde el aumento del nivel de conocimiento de la población blanco no fue paralelo a la actividad de reducción de criaderos en la misma área (5,6).

La forma ideal de enfrentar una enfermedad es a través de la prevención y en el caso del dengue significa interrumpir la transmisión mediante la eliminación de los mosquitos. La probabilidad de que se transmita la infección resulta de varios factores, entre ellos el grado de urbanización del entorno, la densidad de la población, el abastecimiento de agua, el reciclaje o eliminación adecuada de los residuos sólidos, como así también la frecuencia con que se trasladan las personas desde zonas donde circulan diferentes serotipos del virus. Además de lo anterior las epidemias suelen producir crisis de larga duración por lo que los esfuerzos deben sostenerse durante un largo período para evitar que se menoscabe la industria, el turismo, y sobre todo que la población comprenda y colabore en el control de la situación. No es posible que una sola entidad pueda controlar todas las causas y proteger la salud de la población por lo que se ha recomendado que las acciones sean coordinadas de manera intersectorial. De esta manera se podrá responder con algo de efectividad a una epidemia de dengue, dirigiendo los esfuerzos a cumplir la meta de prevenir la infección y minimizar los efectos y consecuencias (7)

Respecto a la educación sobre temas de salud, el papel de los medios de comunicación es relevante, ya que son capaces de aumentar el nivel de conocimientos de la población, al tiempo que estimula a la opinión y participación pública ante un tema concreto. Toda comunicación a la población debe indicar qué puede hacer cada ciudadano ante la situación del momento, las medidas de protección personal, del ambiente, del enfermo. Sin embargo las señales de brotes inminentes originan mensajes de alerta tardíos que llegan a la población cuando la epidemia se aproxima a su pico máximo. Su éxito entonces suele depender de la formación básica de los periodistas en educación sanitaria, ya que formarán parte del conocimiento informal que recibe el ciudadano. No obstante, desde el punto de vista de su eficacia para la modificación de conductas todo parece indicar que tiene un alcance limitado.

En cuanto a la educación para la salud impartida en las escuelas, su relevancia es indiscutible y se hace evidente en este trabajo. El eje es el maestro por el valor pedagógico y didáctico que contienen los temas que se deben transmitir a los alumnos. Es necesario lograr un diseño sistemático y continuo de transferencia de

temas inherentes a la salud. De esta forma se debería llenar de contenido y discusión critica el currículum del maestro. Al estar en conocimiento de los hábitos de sus alumnos, se transforma en un importante mecanismo de participación comunitaria y pone en evidencia la efectividad del trabajo educativo (8).

En la adquisición de Conocimientos, Actitudes y Prácticas (CAP) se enfatiza la necesidad de reorientar los conocimientos de la prevención en la comunidad, reconociendo que la sola información es insuficiente para la modificación de hábitos en forma persistente. Rescatar el concepto metodológico de identificar previamente los conocimientos de la comunidad permite dirigir los mensajes de acuerdo con la realidad local. Se deben tener en consideración los conocimientos previos de la población, porque ella recibe las informaciones, hace su interpretación y la adecuación a su realidad y prioridades. Ignorar esto puede significar una simple repetición de mensajes y provocar saturación a los moradores, o proponer soluciones sin sustentación en el día a día. La gran dificultad para controlar el vector, asociada a los problemas urbanos de las ciudades, principalmente de saneamiento, hace necesario que el gobierno articule el control del dengue con otras prioridades, para que la población se sienta estimulada a desarrollarlo. Ante un posible brote se debe fomentar la colaboración de la población por lo que las medidas educativas deben desarrollarse con anterioridad.

Este trabajo permitió evaluar no sólo el nivel de conocimientos del tema de una parte de la población, sino también medir las acciones de los individuos y sus resultados deberían servir para mejorar las actividades presentes y futuras.

Referencias

1. Zaidenberg, M; Comunicación personal realizada en Reunión Arbol II; 2001,1-3.
2. Guha-Sapir DD, Schimmer B. Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology. Emerging Themes in Epidemiology 2, 2005: 1.
3. Marín C, Leonsini E, Williams E, Rosenbaum J y colaboradores Equipo CHANGE. Aplicando la estrategia de cambio de conducta para la prevención del dengue en El Salvador a través de prácticas mejoradas. Resultados de la primera evaluación de proceso e impacto de la estrategia implementada por el Equipo Change. El Salvador, 2002, pp 1-40.
4. Avila Montes GA, Martínez M, Sherman C, Fernández Cerna E. Evaluación de un módulo escolar sobre dengue y *Aedes aegypti* dirigido a escolares en Honduras. Rev Panam Salud Pública 16, 2004: 84-94.
5. Brassolatit, Rejane C, Andrade C, Fernando S. Avaliação de uma intervencão educativa na prevencão da dengue / Evaluation of an educative intervention to prevent dengue. Cienc Saúde Coletiva 7, 2002: 243-251.
6. Chiaravalloti VB; Moraes MS; Chiaravalloti NF; Conversani AT; Fiorin AM; Barbosa AAC et al: Avaliacao sobre adesao as práticas preventivas do dengue: a caso de Catanduva, Sao Paulo, Brasil. Cad. Saúde Pública 2002, 18: 1321-9.
7. Rigau-Pérez JG, Clark G. Cómo responder a una epidemia de dengue: visión global y experiencia en Puerto Rico. Rev Panam Salud Pública 17, 2005: 282 – 293.
8. Martinez Navarro F y col; "Salud Pública", editora "Interamericana"de España"; 1998, 510-519.

Leishmaniasis

Investigación de infecciones asintomáticas y subclínicas producidas por *Leishmania chagasi* en un área de alta endemicidad en la región metropolitana de Belo Horizonte, Brasil

Luciana de Gouvêa Viana, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. Centro de Referência para Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou (CTL-CPqRR)

Resumen: *El presente estudio fue realizado con el objetivo de determinar la prevalencia de la infección por* L. chagasi *en convivientes de pacientes leishmaniasis visceral (caso índice) en la Región Metropolitana de Belo Horizonte, Brasil. Se intentan identificar a su vez los factores prognósticos para el desarrollo potencial de la forma clásica de LV en dichos convivientes mediante su seguimiento clínico y de laboratorio por 12 meses. Se observó entre 56 convivientes 21,4% (n=12) de positividad para la prueba de ELISA y para IFI 7,1% (n=4) con títulos de 1:40 (n=1), 1:80 (n=1) y 1:160 (n=2). Todas las muestras reactivas para IFI lo fueron para ELISA excepto la de título 1:40. Las muestras de sangre periférica resultaron positivas al PCR en 7,1% (n=4), dos concordantes y dos discordantes con los sueros reactivos a la prueba de ELISA. En el seguimiento sólo se observó la negativización de un PCR. Se discuten los resultados en el marco de los programas públicos y la normatización de las técnicas de laboratorio a ser utilizadas en las encuestas epidemiológicas.*

Palabras clave: Leishmaniasis visceral, asintomáticos, PCR, *Leishmania chagasi*, Brasil.

Introducción

La leishmaniasis visceral (LV) producida por *Leishmania chagasi* ha aumentado significativamente en Brasil. La enfermedad afecta actualmente a 19 unidades federativas, principalmente las de la Región Nordeste donde se concetra el 87% de los casos. En los últimos años la enfermedad se ha estado expandiendo a otras regiones de Brasil, tales como la centro-oeste, norte y sudeste. En el período de 1982 al 2002 los coeficientes de incidencia de LV han variado de 0,96 a 2,66 casos cada 100.000 habitantes (1). Los datos epidemiológicos de los últimos dies años revelan también la periurbanización y la urbanización fr LV en Brasil, acompañando la tendencia mundial en este sentido (2-4).

En las regiones endémicas se estima que 20% de los individuos infectados por *L. chagasi* desarrollaron la forma clásica de la enfermedad, en el resto la enfermedad tiende a ser aisntomática u oligosintomática (5). La infección asintomática tiende a ocurrir con más frecuencia en poblaciones adultas que en niños (6). Sin embargo, el fracaso de las medidas tradicionales de control de la LV, especialmente en algunas zonas urbanas, ha puesto en evidencia la necesidad de obtener evidencias epidemiológicas y de laboratorio sobre la población de portadores sintomáticos u oligosintomáticos de infección producida por *L. chagasi* en regiones endémicas. En

este sentido, se hace necesaria también la evaluación de técnicas no invasivas para el diagnóstico de la infección por *L. chagasi,* como instrumento de laboratorio para la detección de infecciones asintomáticas, a ser utilizado por los programas de control de LV. La detección de estos casos asintomáticos u oligosintomáticos y su tratamiento precoz, podrían tener un impacto significativo en la salud pública. Recientemente el aislamiento y amplificación del ADN del parásito en sangre periférica se presentó como alternativa no invasiva valiosa de diagnóstico de LV (7-10).

El presente estudio fue realizado con el objetivo de determinar la prevalencia de la infección por *L. chagasi* en convivientes de pacientes leishmaniasis visceral (caso índice), por medio de la intradermorreacción de Montenegro, detección de anticuerpos séricos anti-*Leishmania*, ADN del parásito en sangre periférica y formas amastigotes en hemocultivo. Se identificaron a su vez los factores prognósticos para el desarrollo potencial de la forma clásica de LV en dichos convivientes mediante su seguimiento clínico y de laboratorio por 12 meses. Se espera que los resultados contribuyan a generar instrumentos para el diseño de programas públicos y a la posible normatización de técnicas de laboratorio para ser usadas en las encuestas epidemiológicas en todo Brasil.

Materiales y métodos

Área y población de estudio - Región Metropolitana de Belo Horizonte. Se invitó a participar a todos los convivientes de casos de LV (casos índice) diagnosticados entre agosto del 2000 a setiembre del 2001. Los casos índice se identificaron por intermedio de los hospitales principales y puestos de salud ambulatoria y verificaron con las notificaciones recibidas por la *Secretaria Estadual da Saúde*. Se evaluaron 56 convivientes de 16 casos índice con visitas domiciliare. Para establecer la "línea de base" de los convivientes se les realizó un examen clínico, intradermorreacción de Montenegro, y se colectó material para búsqueda de anticuerpos séricos anti-*Leishmania*, ADN de *Leishmania* en sangre periférica, y hemocultivo. A los convivientes incorporados se los invitó a asistir al *Centro de Pesquisas René Rachou* para su evaluación clínica y de laboratorio a los 4 y 6 meses.

Intradermorreacción de Montenegro(IRM) - Se utilizó antígeno producido a partir de promastigotes de L.(V.) braziliensis muertos por exposición a sonicador con una concentración final 40µg N/ml, provisto por la Fundação Nacional de Saúde. Luego de limpiar con alcohol la cara anterior del antebrazo se inoculó 0,1 ml del antígeno, y se midió la induración cutánea a las 48hs o 72hs, marcándose el borde de la induración con tinta. La reacción fue considerada positiva con diámetros superiores a 5 mm.

Prueba de ELISA con antígeno soluble de L. chagasi - Promastigotes de *L. chagasi* cultivados por siete días en medio de NNN/LIT (10^9/mL de PBS) fueron expuestos a sonicador por 20 segundos en baño de hielo. La suspensión fue centrifugada a 10.000g por 30 min, a 4ºC. El sobrenadante se separó en alícuotas y conservó a –70ºC hasta su uso. Se determinó la concentración de proteínas (11). La prueba de ELISA se realizó adaptándola de Ho (12). Entre etapas se realizaron lavados con PBS_{T20} pH = 7,2 – 7,4. Las placas de poliestireno (Nunc, MAXISORP) fueron sensibilizadas toda la noche a 4ºC con el antígeno diluido en solución tamponada carbonato-bicarbonato 3 µg/ml pH 9,6 . Luego fueron bloqueadas con albúmina bovina al 2%, 150µl/pocillo, por 1h a 37ºC. Sueros diluidos en PBS_{T20} fueron agregados e incubados por 1h a 37ºC. Luego se agregó conjugado anti-IgG humana - peroxidasa, se reveló con sustrato ABTS, leyendo los resultados a 490 nm.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI) - Se utilizó el equipo de inmunofluorescencia de BIO-Manguinhos - FIOCRUZ. Las láminas se sensibilizaron con 10µl de antígeno toda la noche. Los sueros fueron diluidos de 1:40 hasta 1:640, utilizando 10µl de cada concentración. Las láminas fueron incubadas en cámara húmeda 30 min a 37ºC, lavadas por 3 min en PBS y 3 min en agua destilada. Una vez secas se agregó 15µl del conjugado a una concentración de 1:100 con Azul de Evans (1:25). Se incubaron nuevamente en cámara húmeda 30 min a 37ºC, lavadas 3 min en PBS y agua destilada. Cuando secas se montó el cubreobjetos y leyó con microscopio de inmunofluorescencia. Los exámenes se consideraron positivos a partir de la dilución 1:40.

PCR - Extracción de ADN de sangre periférica con Kit Wizard, isopropanol -etanol. Se utilizaron dos iniciadores, oligonucleótidos de la región conservada del minicírculo del ADN del kinetoplasto:

150: GGG(G/T)AGGGGCGTTCT(G/C)CGAA

152: (G/C)(G/C)(G/C)(A/T)CTAT(A/T)TTACACCAACCCC.

Para la amplificación a 2 µl del ADN se agregó la mezcla con 200µl de cada dNTP, 2ng de cada oligonucleótido, 2,5 mM de MgCI2, y 2,5 U de Taq-DNA polimerasa en un volumen final de 20µl. Cada conjunto llevó dos controles positivos (ADN de L.(V.) braziliensis y L.(L.) amazonensis) y un control negativo sin ADN. La amplificación tuvo lugar con la siguiente rutina térmica: predenaturalización a 94ºC por 4 minutos, seguido por 30 ciclos de 30 segundos de denaturalización a 94ºC, anillaje a 50ºC y extensión a 72ºC. Luego del ciclo 30º la solución se mantuvo a 72ºC por 10 minutos para completar la extensión. Los productos obtenidos fueron analizados por electroforesis en gel de poliacrilamida 8%, y coloreados con nitrato de plata.

Hemocultivo - Se realizó cultivo de la capa leucocitaria en medio NNN-Lit con 30% de Suero Fetal Bovino, repique al día 10º y seguimiento hasta el día 40º.

Aspectos éticos - El proyecto fue aprobado por los Comités de Ética de FIOCRUZ, y los individuos participantes firmaron el consentimiento informado. Se cumplieron las normas de la Resolución 196 del *Conselho Nacional de Saúde*

Resultados

De los convivientes con LV 60% eran de sexo femenino, con 22,8 años de edad, rango de 6 meses a 70 años (12% menor 12 años), a razón de un promedio de 4,2 convivientes/caso-índice promedio.

Se observó entre convivientes 21,4% (n=12) de positividad para la prueba de ELISA y para IFI 7,1% (n=4) con títulos de 1:40 (n=1), 1:80 (n=1) y 1:160 (n=2). Todas las muestras reactivas para IFI lo fueron para ELISA excepto la de título 1:40. Las muestras de sangre periférica resultaron positivas al PCR en 7,1% (n=4), dos concordantes y dos discordantes con los sueros reactivos a la prueba de ELISA. Todos los hemocultivos resultaron negativos.

Se realizó el seguimiento de 10 familias a los 4–6 meses y a los 12 meses. No se observaron modificaciones en el perfil inmunológico o estado clínico en relación a la línea de base, mientras el PCR se negativizó en dos de los individuos que habían resultados positivos a esta prueba.

La prevalencia de infección por *L. chagasi* entre convivientes de portadores de LV, definida apenas por la prueba de ELISA se mostró significativa y comparable con datos ya publicados para áreas de alta endemicidad de la enfermedad. Por otra parte todas las muestras reactivas para IFI lo fueron para ELISA, y no hubo concordancia entre la mayoría de las reacciones de IFI y ELISA, volviendo a plantear la duda frente a la sensibilidad de IFI en infecciones asintomáticas de *L. chagasi*. El hemocultivo presento serias limitaciones operativas indicando baja sensibilidad cuando se realiza a partir de individuos con parasitemia baja. Los resultados de PCR merecen destacarse, toda vez que el 7,1% de los convivientes muestreados presentaron por este método ADN circulante *Leishmania sp*., confirmando la existencia de portadores asintomáticos, y reforzando la posibilidad de participación de un reservorio humano en el ciclo biológico de la enfermedad.Otro estudio realizado en la Región Metropolitana de Belo Horizonte (13) estimó en 4,6% la rpevalencia de infección humana por *L. chagasi*, basada en la positividad e hibridización con sonda específica para el complejo *L. donovani*.

En conclusión a partir de los resultados obtenidos se han generado instrumentos para el diseño de programas públicos y la normatización de las técnicas de laboratorio para ser utilizadas en las encuestas epidemiológicas, a fin de definir la prevalencia real de la enfermedad y las formas de transmisión de la misma. Los resultados preliminares impulsan a la creación de un proyecto más amplio que cubra no sólo los aspectos clínicos y de laboratorio si no también la caracterización inmunológica de los convivientes de portadores de LV. Tal caracterización tendría como finalidad

definir el perfil de las citoquinas de estos individuos en relación a la resistencia al desarrollo de la forma clásica de LV por *L. chagasi.*

Referencias

1. Ministério as Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.
2. Costa CHN, Pereira HF, Araújo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. Rev Saúde Públ São Paulo 24, 1990: 361-372.
3. Jerônimo SM, Oliveira RM, Mackay S, Costa RM, Sweet J, Nascimento ET, Luz KG, Fernandez MZ, Jernigan J, Pearson RD. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg 88, 1994: 386-388.
4. Luz ZMP, Cabral ALLV, Fiúza VOP, Rabello A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. Rev Soc Bras Med Trop 34, 2001: 249-254.
5. Badaró R, Jones TC, Carvalho EM, Sampaio D, Reed SG, Barral A, Teixeira R, Johnson WD Jr. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. J Infect Dis 154, 1986: 1003-1011.
6. D'Oliveira Jr A, Costa SR, Barbosa AB, Orge M de la G, carvalho EM. Asynptomatic *Leishmania chagasi* infection in relatives and neighbors os petients with visceral leishmaniasis. Mem Inst Oswaldo Cruz 92, 1997: 15-20.
7. Meredith SEO, Zijlrstra EE, Schoone GJ, Kroon CCM, Van Eys GJJM, Schaffer KU, El-Hassan AM, Lawyer PG. Development and application of polymerase chain reaction for the detection and identification of *Leishmania* parasites in clinical material. Archives de L' Institut Pasteur de Tunis, 70, 1993: 419-431.
8. Ravel S, Cuny G, Reynes J, Veas F. A highly sensitive and rapid procedure for direct PCR detection of *Leishmania infantum* within human peripheral blood mononuclear cells 59, Acta Tropica 1995: 187-96.
9. Nuzum E, White F, Thakur C, Dietze R, Wages J, Grol M, Berman J. Diagnosis of symptomatic visceral leishmaniasis by use of the polymerase chain reaction on patient blood. J Infect Dis 171, 1995: 751.
10. Wu Z, Bao Y, Ding Y, Yu M, Lu L, Zhang Y. An experimental study on application of PCR in detection of kala-azar. Southeast Asian J Trop Med Public Health 28, 1997: 167-172.
11. Lowry OH, Rosenbrough M, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193, 1951: 265-275.
12. Ho M, Leeuwenburg J, Mbungua G, Wamachi A, Voller A. An enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for field diagnosis of visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 32, 1983: 943-946.
13. Moreno EC. Epidemiologia da leishmaniose visceral humana em área urbana de Minas Gerais: identificação da infecção assintomática e seus fatores de risco. Belo Horizonte: 2002. Doutorado [Tese em Parasitologia] - Instituto de Ciência Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Determinación de vectores de leishmaniasis en ambientes domésticos del parque Isiboro-Secure del departamento de Cochabamba, Bolivia

Ana Lineth García Orellana, IIBISMED-CUMETROP, Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Medicina, Cochabamba, Bolivia

Resumen: *El presente estudio se propuso determinar las especies de* Lutzomyia *encontradas en ambientes domésticos (viviendas y cultivos adyacentes) del Parque Isiboro-Secure, Cochabamba, Bolivia, y detectar la infección de estos insectos por parásitos del género* Leishmania*. , Se colectaron 4433 ejemplares de* Lutzomyia*, 96% a 35 mts de la vivienda y el 4% restante a 5 mts y en el intradomicilio. Se registraron picos de abundancia entre los meses de abril-mayo y agosto-septiembre, y en el horario de 20:00hs a 21:00hs. Los ejemplares capturados se determinaron como* Lu. shawi *(90%),* Lu. yuilli yuilli*(3%),* Lu. hirsuta *(4%),* Lu. llanosmartinsi *(2%) ,y con menos del 1%* Lu. walkeri*, así como también una especie nueva del subgénero* Trychophoromyia*. Se disecaron 3187 flebótomos, de los cuales 7/2868 (0,2%) ejemplares de* Lu. shawi *presentaron protozoarios delgados, pequeños y flagelados, los cuales fueron identificados como promastigotes del género* Leishmania*, principalmente por su movimiento flagelar. Se concluye que* Lutzomyia shawi *y* Lu. llanosmartinsi *son los principales sospechosos de la transmisión de leishmaniasis en ambientes domésticos del parque Isiboro-Secure.*

Palabras clave: Leishmaniasis tegumentaria, transmisión peridoméstica, *Lutzomyia shawi*, *Lu. llanosmartinsi*, Bolivia.

Introducción

La leishmaniasis tegumentaria es una enfermedad producida por protozoarios del género *Leishmania* que provoca en humanos manifestaciones clínicas que van desde úlceras cutáneas hasta lesiones en las mucosas (1). La transmisión requiere necesariamente de un insecto vector del género *Lutzomyia*.

En Bolivia el vector tiene su hábitat en la región amazónica, asociado al bosque alto o ambiente selvático, donde se encuentran los reservorios del parásito, principalmente pequeños roedores. El hombre contrae la enfermedad con la picadura de un insecto infectado cuando ingresa a la selva para desarrollar sus actividades cotidianas. En Bolivia poblaciones que proceden del valle y el altiplano migran hacia zonas tropicales como el parque Isiboro-Secure en busca de oportunidades laborales, careciendo de protección inmunológica para enfermedades del ambiente tropical, como por ejemplo la leishmaniasis. Por otra parte, esta colonización provoca cambios ecológicos como la deforestación y el reemplazo de animales silvestres por domésticos. Estos cambios facilitan la adaptación de algunas especies de insectos vectores al medio ambiente colonizado, promoviendo una expansión del área de

transmisión de las leishmaniasis de un ambiente exclusivamente selvático a otro doméstico. Este cambio ya ha sido descrito en algunos países de Sudamérica como Colombia y Brasil (2).

Un informe de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Simón señala que en el parque Isiboro-Secure, Dpto. Cochabamba, desde septiembre de 1997 hasta diciembre de 1998 se detectaron 985 pacientes con diagnóstico de leishmaniasis. El 95% de los casos fueron adultos con antecedentes de ingreso regular a la selva. Sin embargo 48 pacientes, principalmente mujeres y niños con úlceras activas, no habrían ingresado nunca a la selva, desarrollando todas sus actividades en sus casas o en cultivos adyacentes. En el período de marzo 1997 a diciembre 1998 la tasa de prevalencia para leishmaniasis en el área fue $98^{0}/_{00}$ habitantes, la tasa de incidencia 22 $^{0}/_{00}$ habitantes, y la tasa de incidencia en menores de 15 años 86 $^{0}/_{00}$ niños.

El presente estudio pretende identificar la presencia de *Lutzomyia* infectados en ambientes domésticos del Parque Isiboro-Secure. De comprobarse la presencia de insectos vectores potenciales de leishmaniasis cerca de las viviendas, se podría concluir que se ha ampliado el área de transmisión vectorial de la enfermedad en la región tropical del Departamento de Cochabamba. Este resultado permitiría a su vez proponer recomendaciones de control a la Secretaría Regional de Salud, como el rociado de insecticidas en el domicilio y peridomicilio, para evitar un brote epidémico de alto costo, no solo económico, sino también en términos de sufrimiento en las poblaciones afectadas.

Materiales y métodos

Área de estudio- Localidades de Isinuta, Samuzabete y Monte Sinai del Parque Isiboro-Secure, en la región tropical del Departamento de Cochabamba. Esta región (3500 Km^2) está a 160 Km de Cochabamba y 200 msnm, tiene temperatura media 30º-35ºC, HR 80%, y precipitación pluvial 5000 mm/año. El trópico de Cochabamba tiene una densidad poblacional de de 6,1 habitantes/Km, 140.591 habitantes de los cuales 8.975 se encuentran asentados en el parque Isiboro-Secure.

Captura entomológica - De 1998 a 2001 con trampa Shannon con cebo humano protegido y aspirador bucal y trampas de luz CDC; en el período junio 2000 a junio 2001 capturas bimensuales. Los insectos capturados se conservaron en nitrógeno líquido para su transporte a los laboratorios de Cochabamba. Se establecieron tres estaciones de captura en el ambiente doméstico: 1) A 35 mts de la casa (Shannon), 2) a 5 metros de la casa (CDC), 3) en intradomicilio (CDC). Las viviendas seleccionadas tenían antecedentes de casos de leishmaniasis, que referían infección peridoméstica. En las estaciones establecidas a 5 metros de las casas elegidas y dentro de las habitaciones humanas se instalaron trampas automáticas CDC.

Procesado del material entomológico - Los ejemplares capturados se determinaron con la clave de Young & Duncan (3). La identificación de las infecciones se llevó a

cabo a través de disecciones del tubo digestivo y examen microscópico. Luego de este examen, se extrajo el ADN de todos los estómagos disecados, en grupos de 10, con el equipo de extracción de Qiagen, y se realizó una PCR con los iniciadores (*primers)* A2 y A10 diseñados a partir de la región beta-500 de tubulina, desarrollados en la Universidad Central de Caracas, utilizados para el diagnóstico de *L. braziliensis* en el CUMETROP, Bolivia. Se realizó como medida complementaria hibridaciones de *Southern blot*, utilizando como sonda molecular el iniciador beta-500 de tubulina. Paralelamente, con el propósito de aislar posibles infecciones, las muestras que en el examen microscópico eran sospechosas, fueron cultivadas en medios específicos del tipo bifásico NNN (agar sangre).

Resultados y discusión

De las tres localidades muestreadas en el Parque Isiboro-Secure, Isinuta, Samuzabete y Monte Sinai, la primera presentó la mayor cantidad de ejemplares de *Lutzomyia* (tabla 1), probablemente porque es una zona rodeada de pequeñas montañas y menor deforestación. El 96% del total de la captura corresponde a las estaciones instaladas en el área de 35 metros de la casa, donde se observa una mayor densidad de vegetación, lo que crea un microhábitat favorable y fuentes de alimento eventual como animales domésticos (observación personal Samuzabete). Este perímetro delimita el área donde la familia desarrolla sus actividades cotidianas, agricultura, aseo, descanso y alimentación, y donde cobra importancia el "comportamiento de agresividad diurna" (4) por intrusión de personas en los sitios de reposo diurno de los insectos. La presencia de flebótomos a 5 metros de las viviendas y en el intradomicilio implica que la infección de humanos dentro de la vivienda, durante la noche, mientras duermen, también podría ser posible. Se puede concluir que el ambiente doméstico de Isinuta, Monte Sinai y Samuzabete del parque Isibore-Secure, existe contacto hombre- *Lutzomyia*, y por lo tanto podría existir la posibilidad de transmisión doméstica de *Leishmania*

Tabla 1. Cantidad de ejemplares del género *Lutzomyia* capturados en ambientes domésticos por estación y sitio, en el parque Isiboro-Secure, Cochabamba, Bolivia 1998-2001

Localidad	Estación 1	Estación 2	Estación 3	Total
Monte Sinai	302	13	0	315
Isinuta	2962	54	69	3085
Samuzabete	1002	21	10	1033
Total	4266 (96,0%)	88 (1,9%)	79 (2,1%)	4433

Estación 1 a 35 m de la casa, 2 a 5 m de la casa, 3 intradomicilio

El escenario de focos secundarios o domésticos de transmisión, ya ha sido descrito en países como Colombia y Brasil, asociado principalmente a los cultivos de

cacao y café (2,5). En el parque Isiboro-Secure, la presencia de *Lutzomyia* en ambientes domésticos estuvo asociada a los cultivos de coca, principal vegetación en las localidades de estudio.

Las capturas dos veces al mes realizadas desde junio del 2000 a junio del 2001 permiten observar el patrón estacional para dicho período (Tabla 2)

Tabla 2. Densidades mensuales de *Lutzomyia* en ambientes domésticos del Parque Isiboro-Secure, Cochabamba, Bolivia

Mes	Isinuta	Monte Sinai	Samuzabete	Total
Febrero	302	28	145	492
Abril	346	35	42	487
Mayo	698	72	81	952
Junio	7	3	5	20
Julio	0	1	1	2
Agosto	796	76	398	1279
Septiembre	601	58	254	940
Diciembre	166	21	80	267

Se registraron picos de abundancia entre los meses de abril-mayo y agosto-septiembre. Durante los meses de junio y julio el número de insectos disminuyó bruscamente con las bajas temperaturas. Se observó también la variación de abundancia horaria en la trampa Shannon, que resultó continua durante la noche con un máximo entre las 20 y las 21 horas (Tabla 3). La actividad endofágica también fue determinada con la trampa CDC de la localidad de Isunuta entre Agosto y Septiembre del 2000 (época de mayor densidad del insecto), obteniéndose un promedio de 8 flebótomos/noche.

Tabla 3. Abundancia horaria de *Lutzomyia* en ambientes domésticos del Parque Isiboro-Secure, Bolivia

Hora	Nº *Lutzomyia*
18:00-19:00 pm	113
19:00-20:00 pm	210
20:00-21:00 pm	71
21:00-22:00 pm	24
22:00-23:00 pm	25

Se determinaron los insectos capturados que correspondieron a 6 especies: *Lu. shawi, Lu. yuilli yuilli*, *Lu. hirsuta, Lu. llanosmartinsi, Lu. walkeri y* una especie nueva del subgénero *Trychophoromyia* (Tabla 4). *Lutzomyia shawi* fue la especie más abundante en todas las estaciones de captura.

Tabla 4. *Lutzomyia* capturadas en ambientes domésticos del Parque Isiboro-Secure por especie y estación de captura, 1998–Junio 2001

Género *Lutzomyia*	Estación de captura	Nº Ejemplares (%)
Nissomyia		
Lu. shawi	1,2,3	3991 (90%)
Lu. yuilli yuilli	1	151 (3%)
Psychodopigus		
Lu. hirsuta	1	168 (4%)
Lu. llanosmartinsi	1,2,3	111 (2%)
Trychophoromyia		
Lu. n.s.p. # 5	1	8 (<1%)
Migonei		
Lu. walkeri	1	2 (<1%)

Estación 1 a 35 m de la casa., 2 a 5 m de la casa, 3 intradomicilio.

Utilizando los criterios de incriminación de vectores propuestos por Killick-Kendrick (6): grado de antropofilia y abundancia en los ambientes donde se presume se lleva a cabo la transmisión, se puede señalar que de las especies que fueron capturadas en los ambientes domésticos del parque Isiboro-Secure, *Lu. shawi* puede considerarse como el vector potencial de la transmisión de leishmaniasis. Sin embargo, *Lu. llanosmartinsi,* a pesar de ser poco frecuente, tiene importancia epidemiológica, pues fue encontrada naturalmente infectada con cepas idénticas a las aisladas de humanos en Bolivia en el Alto Beni (7). Además, tanto *Lu. shawi* como *Lu. llanosmartinsi* fueron las dos únicas especies capturadas dentro de las casas con trampas CDC.

Se disecaron 3187 flebótomos, de los cuales 7/2868 (0,2%) ejemplares de *Lu. shawi* presentaban protozoarios delgados, pequeños y flagelados, los cuales fueron identificados como promastigotes del género *Leishmania*, principalmente por su movimiento flagelar. En los ejemplares disecados de *Lu. yuilli yuilli* (102), *Lu. hirsuta* (159), *Lu. llanosmartinsi* (58) no se detectó *Leishmania*. Durante las disecciones también fue posible observar nematodos.

En Brasil se ha descripto la infección natural con *L. braziliensis* de *Lu. shawi* (8) y en Bolivia existen antecedentes en el Alto Beni, pero en dicha ocasión no fue posible el aislamiento y caracterización (8). Los parásitos que se encontraron en el examen microscópico del tubo digestivo de los *Lutzomyia* fueron sembrados en NNN (agar sangre en medio bifásico), pero no se logró su aislamiento por contaminación bacteriana, como suele ocurir dado la abundante flora intestinal de los insectos. Ninguno de los 58 homogenatos de 10 individuos procesados fue positivo a la reacción de PCR, sólo se observaron amplificaciones en los controles positivos Los resultados de *Southern-blot* también resultaron negativos, lo que hace presumir que las tasas de infección de flebótomos son bajas en ambientes domésticos.

En conclusión: 1) Insectos del género *Lutzomyia* se encuentran en ambientes domésticos y peridomésticos de las localidades de Santa Rosa, Isinuta y Aroma y tienen mayor abundancia a una distancia de 35 metros alrededor de la casa. 2) La especie de mayor abundancia y de mayor actividad antropofílica en ambientes domésticos y peridomésticos del parque Isiboro-Secure es *Lu. shawi,* con un

porcentaje del 90% sobre el total de las capturas. 3) El porcentaje de infección natural de *Lu. shawi*, la única especie encontrada naturalmente infectada por flagelados del género *Leishmania*, fue del 0,2%. No fue posible detectar un mayor número de infecciones naturales a pesar de haber utilizado técnicas de biología molecular como PCR y *Southern-blot.* 4) *Lutzomyia shawi* y *Lu. llanosmartinsi* son los principales sospechosos de la transmisión de leishmaniasis en ambientes domésticos del parque Isiboro-Secure y su presencia confirma la existencia de transmisión de leishmaniasis tegumentaria en ambientes domésticos del trópico de Cochabamba, Bolivia.

Con la finalidad de proteger a las poblaciones asentadas en estas localidades de un brote epidémico de leishmaniasis, se pueden realizar las siguientes recomendaciones: 1) Establecer un Programa de vigilancia entomológica en ambientes domésticos del Parque Isiboro-Secure con el fin de que, ante la eventualidad de un incremento en las densidades de los insectos, se tomen medidas de rociado de insecticidas en el domicilio y peridomicilio. 2) Ampliar los estudios entomológicos en estos ambientes para determinar el rango de vuelo de los insectos infectados. Estos datos podrán ser utilizados para calcular una zona de "barrera de protección", como puede ser la eliminación de la vegetación circundante que sirve de sitio de reposo a estos insectos. 3) La identificación de la época del año de mayor probabilidad de infección con leishmaniasis. Este dato podrá ser utilizado para recomendar medidas de protección personal que son generalmente mejor aceptadas por la población por períodos cortos y no durante todo el año.

Referencias

1. Cox FEG. Modern Parasitology. 2ed. Oxford: Blackwell Scientific. 1995. 276pp
2. Gomes M. More crops, more diseases? World Health Forum. 1998. 274pp.
3. Young DG, Duncan MA. Guide to the Identification and Geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera:Psychodidae). Memories of the American Entomologic Institute 54, 1994, 881pp.
4. Añez N, Cazorla D, Nieves B, Chataing M & Castro A. 1988: Epidemiología de la leishmaniasis en Mérida. Diversidad y dispersión de especies flebotominas en tres pisos altitudinales y su posible rol en la transmisión de la enfermedad. Mem Inst Oswaldo Cruz. 83: pp 455-463.
5. Torrez M, Lopez M, Le Pont F, Dedet J, Dujardin JP. *Lutzomyia nuñeztovari anglesi* (Diptera : Psichodidae) as a probable vector of *Leishmania braziliensis* in the Yungas Bolivia. *Acta Tropica***.** 71**,** 1998 : 311-316.
6 . Killick-Kendrick R. Studies and criteria for incrimination of vectors of the leishmaniasis. Otawa-Canada 1987: 272-279.
7. Le Pont F. Leishmonioses et phlebotomes in Bolivie. ORSTOM editions. 1992. 116p.
8. Ryan L, Lainson J, Shaw J, Neto F. Ecología de los flebotominos (Diptera: Psychodidae) na regiao amazonica: Boletín Instituto Evandro Chagas. Belen, Brasil. Vol I: 307-320.

Estandarización del método propuesto por la Organización Mundial de la Salud para determinar los niveles de susceptibilidad de los vectores de leishmaniasis a insecticidas

Erika Santamaría, Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia; Leonard E. Munstermann, Epidemiology and Public Health Departament, School of Medicine, Yale University, New Haven, CT, EUA; Cristina Ferro, Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Artículo original: Santamaría E, Munstermann LE, Ferro C. Estandarización del método propuesto por la Organización Mundial de la Salud para determinar los niveles de susceptibilidad de los vectores de leishmaniasis a insecticidas. *Biomédica* (Bogotá) 22, 2002: 211-218.

Artículo complementario: Santamaría E, Munstermann LE, Ferro C. Aproximación al método CDC para determinar susceptibilidad a insecticidas en vectores de leishmaniasis. *Biomédica* (Bogotá) 23, 2003: 115-121.

Resumen: *El objetivo de este estudio fue estandarizar el método OMS para determinar susceptibilidad a insecticidas en algunas especies de* LUTZOMYIA *en condiciones de laboratorio y de campo. Los ensayos biológicos se realizaron sin insecticida, únicamente con tratamientos controles para determinar mortalidad por manipulación y otras condiciones desfavorables para cada especie. Se emplearon hembras de tres colonias de laboratorio: dos cepas de* LUTZOMYIA LONGIPALPIS *y una de* LUTZOMYIA SERRANA. *También se incluyeron en el estudio hembras silvestres de* LUTZOMYIA QUASITOWNSENDI. *Se emplearon dos tipos de métodos: el método OMS y el método OMS adaptado; este último consistió en reemplazar el tubo OMS para el periodo posexposición por un contenedor plástico con yeso humedecido. Para cada método se ensayaron tres tipos de papeles: papel impregnado con aceite de oliva, papel impregnado con aceite de silicona y papel sin aditivos. La variable por medir fue el porcentaje de mortalidad a las 24 h. El método OMS resultó conveniente para las dos cepas de* L. LONGIPALPIS *con una mortalidad entre 0 y 10%, pero registró una mortalidad elevada en* L. serrana *(20-80%) y* L. QUASITOWNSENDI *silvestres (10-50%). Con el método OMS-modificado, la mortalidad promedio fue inferior a 4% en todas las especies ensayadas. Con respecto al tipo de papel, no se encontraron variaciones importantes. Según los resultados, el recipiente utilizado en el periodo posexposición afecta la supervivencia de los flebótomos y de manera variable para cada especie. Al establecer líneas base de susceptibilidad a insecticidas en especies del género* Lutzomyia*, se recomienda el uso del método OMS para* L. LONGIPALPIS *y del método OMS-modificado para* L. SERRANA, L.QUASITOWNSENDI *y especies cercanas.*

Palabras clave: *Lutzomyia*, susceptibilidad a insecticidas, ensayos biológicos.

Introducción

El control de las leishmaniasis contempla entre sus posibilidades el uso de insecticidas que disminuyan la densidad de los vectores por debajo de los niveles críticos para la transmisión, siendo especialmente importante en situaciones en las que los insectos frecuentan las viviendas y sus alrededores. Actualmente, el control químico suscita gran interés debido a la progresiva adaptación de las especies de flebótomos al domicilio y a los recientes registros de casos urbanos de la enfermedad, en su forma cutánea y visceral, en Venezuela, Brasil y Colombia (1-4). Para el control de los flebótomos en el domicilio y peridomicilio, insecticidas como el DDT, el malatión, el fenitrotión, el propoxur y los piretroides sintéticos se han usado con relativo éxito en varios países (5). Sin embargo, como resultado de la presión de los insecticidas empleados en agricultura y campañas antivectoriales, las poblaciones de flebótomos pueden verse afectadas y desarrollar resistencia (6). Por esta razón, en cualquier programa de control de vectores es importante conocer la susceptibilidad a insecticidas de las especies objeto del control y revisar la susceptibilidad después de cada intervención. Con la vigilancia adecuada, se realiza un seguimiento de la tolerancia de las especies a los insecticidas y se detectan oportunamente signos de resistencia. El método convencional para determinar el nivel inicial de susceptibilidad de los flebótomos a los insecticidas es el propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y es el mismo empleado para mosquitos adultos desde la década de los sesenta. De manera abreviada, el método consiste en exponer grupos de insectos a papeles impregnados con diferentes dosis de insecticidas por un periodo de tiempo definido y dejarlos en ausencia del insecticida por 24 horas. Con los resultados, se construye una línea de regresión concentración-mortalidad y se determinan los parámetros estadísticos CL50 y CL95 (concentraciones de insecticida que producen una mortalidad del 50 y del 95%, respectivamente). De igual forma, las pruebas pueden realizarse con una única concentración discriminante o diagnóstica empleando diferentes tiempos de exposición, determinando TL50 y TL95 (tiempos de exposición necesarios para producir, respectivamente, una mortalidad del 50 y del 95%). Siempre se debe incluir un control (o testigo) por cada insecticida probado y si la mortalidad en este grupo excede el 20%, la prueba debe descartarse (7,8). Aunque existe buena documentación sobre la susceptibilidad y el estado de resistencia a insecticidas de muchas especies de insectos de importancia médica, especialmente de los géneros *Aedes, Culex y Anopheles* (9-13), pocos estudios se han informado sobre las líneas base de susceptibilidad de los flebótomos a los insecticidas. En el Viejo Mundo son relativamente escasos los trabajos en este tópico (14-18) y en el Nuevo Mundo se ha determinado la susceptibilidad a insecticidas de sólo dos especies de Lutzomyia: *Lutzomyia youngi* Feliciangeli y Murillo 1985 (19-21) y *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva 1912) (6,22-24). En casi todos los casos, el método empleado presenta modificaciones en la metodología propuesta por la OMS, lo cual dificulta la comparación e interpretación de la información. Se han atribuido varias limitaciones y problemas técnicos al método OMS y su estuche de materiales, como son: el costo, las dificultades de envío, los papeles impregnados con una sola dosis de

cada insecticida, el requerimiento de un gran número de mosquitos de la misma población y las dificultades para utilizar en el campo (25). Específicamente para flebótomos, en uno de los trabajos informan que el equipo OMS presenta inconveniencias, ya que los insectos *(L. youngi*) escapan a través de los dispositivos de intercambio entre el tubo de exposición y el de observación (19). En los ensayos preliminares con el estuche de materiales y el procedimiento OMS para determinar la susceptibilidad a insecticidas en algunas especies de *Lutzomyia*, observamos alta mortalidad en los controles, presumiblemente causada por las condiciones del período posexposición, por lo cual se decidió ensayar un contenedor plástico con yeso humedecido como recipiente alternativo para este periodo. El objetivo de este estudio fue estandarizar el procedimiento OMS para tres especies de *Lutzomyia*, comparando la mortalidad obtenida en los controles (sin insecticida) con ambos procedimientos: 1) siguiendo fielmente el método OMS y 2) adicionando la modificación propuesta.

Materiales y métodos

Especies de Lutzomyia utilizadas - se emplearon hembras de *Lutzomyia* de uno a tres días después de la emergencia de tres colonias de laboratorio: *L. longipalpis* (F51, proveniente de El Callejón, Cundinamarca), *L. longipalpis* (F13, proveniente de Coyaima, Tolima) y L. serrana (Damasceno y Arouck) (F17, proveniente de Tuluá, Valle). Los métodos para el establecimiento y mantenimiento de las colonias de *Lutzomyia* se describen en Modi y Tesh (26) y Ferro et al. (27). Adicionalmente, se efectuaron ensayos en el campo en un foco de leishmaniasis cutánea en Bituima (Cundinamarca) con *L. quasitownsendi* Osorno, Osorno-Mesa & Morales, 1972, el flebótomo más abundante en esta zona (datos sin publicar, Unidad Básica de Entomología, Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca). Las hembras empleadas en los ensayos biológicos no habían sido alimentadas con sangre, ya que en ensayos preliminares se observó una mayor fragilidad y mortalidad de las hembras con alimento sanguíneo frente a hembras sin este alimento. Por otro lado, en la mayoría de los estudios de susceptibilidad a insecticidas en flebótomos se utilizan hembras sin alimentación sanguínea (6,15-17).

Equipo y papeles impregnados suministrados por la OMS - cada prueba, como describe la OMS (7), se realizó con dos tubos plásticos, uno de observación y otro de exposición. Los dos tubos son iguales. Por medio de un círculo de 0,6 cm de diámetro de color verde o rojo, ubicado lateralmente en el exterior de cada tubo, se pueden diferenciar los tubos entre ellos. El de color verde corresponde al tubo de observación y el de color rojo al de exposición. Los dos tubos se conectan entre sí por medio de una unión, la cual se enrosca a uno de los extremos de cada uno de los tubos mencionados. Cuando se requiere, esta unión permite, a través de un sistema corredizo, el pasode los insectos de un tubo al otro. Para las pruebas, cada tubo fue recubierto con una hoja de papel enrollada en forma de cilindro. En el tubo de observación se colocó papel bond blanco y en el tubo de exposición, la hoja de papel a probar. Estas hojas se sujetaron a los extremos de los tubos respectivos con un

resorte anular, el cual en el tubo de observación era de plata y en el de exposición, de cobre. Se emplearon papeles impregnados con aceite de oliva y aceite de silicona (generalmente utilizados como controles para insecticidas organofosforados y piretroides, respectivamente). Los aceites son el medio que transporta el ingrediente activo del insecticida y lo distribuye en el papel. Los papeles consisten en rectángulos de papel filtro Whatman No. 1 de 12 x 15 cm, impregnados con el medio (aceite) correspondiente a una concentración de 3,6 mg/cm^2.

Ensayos biológicos siguiendo el método OMS y el método OMS-modificado - las hembras a utilizar en los ensayos se separaron por especie en una jaula de muselina. Las condiciones de humedad se mantuvieron introduciendo la jaula con los insectos en una bolsa plástica oscura, la cual permitía el paso de la luz de forma atenuada. De esta forma se mantienen habitualmente los ejemplares adultos en las colonias de laboratorio. Antes de realizar las pruebas, la jaula dentro de la bolsa fue trasladada a un laboratorio contiguo, donde se realizaron los ensayos. Con el fin de tener un periodo de adaptación de las hembras a la iluminación del cuarto, se retiró la bolsa plástica oscura de 15 a 20 min antes de comenzar las pruebas. Se registraron la temperatura y la humedad del lugar. El procedimiento OMS, tal y como lo describe el protocolo (7), se dividió en tres periodos: 1) preexposición: con el aspirador de boca se tomaron de la jaula grupos de 9 a 12 hembras y se ubicaron en el tubo de observación, donde permanecieron por espacio de 15 a 20 min; 2) exposición: las hembras se trasladaron al tubo de exposición con el tratamiento correspondiente; el extremo del tubo se orientó hacia la fuente de luz de forma tal que la mayoría de las hembras pasaron por fototropismo y las restantes fueron sopladas con suavidad. Estos tubos se ubicaron verticalmente y con el tamiz hacia arriba durante una hora; 3) posexposición: los insectos se trasladaron nuevamente al tubo de observación donde permanecieron 24 horas, con suplemento de agua y solución azucarada. Pasado este tiempo, se registró la mortalidad. Este procedimiento se denominará en adelante método OMS. La adaptación al procedimiento consistió en reemplazar el tubo OMS para el periodo posexposición por un contenedor plástico (5,5 cm de alto y 6,6 cm de diámetro) que en el fondo contiene una capa de yeso dental de 1,5 cm de grosor y en la parte superior una malla de muselina ajustada al contenedor con una banda elástica. Este recipiente es descrito en detalle por Ferro et al. (27) y Santamaría et al. (28). El yeso sirve como medio para mantener la humedad dentro del recipiente. En condiciones de campo, en horas nocturnas, la humedad relativa fue alta (entre 70 y 80%) y el yeso en el recipiente absorbió la humedad del ambiente. En las condiciones del laboratorio en Bogotá, donde la humedad relativa es cercana al 50%, fue necesario adicionar 8 a 10 ml de agua al yeso unos minutos antes de usar el recipiente. Los pasos a seguir son similares al método OMS, pero después de haber pasado las hembras al tubo de observación para el periodo posexposición, las hembras fueron transferidas suavemente con aspirador de boca a los contenedores plásticos, donde permanecieron 24 horas. Cumplido este tiempo, se realizó la lectura de la mortalidad. Este procedimiento se denominará en adelante método OMS-adaptado (figura 1). En los dos métodos, los recipientes permanecieron durante el periodo de exposición y posexposición en una caja de poliestireno (icopor) con una

gasa humedecida, termómetro de máximas y mínimas e higrómetro. Durante el periodo posexposición, las hembras tenían acceso a motas de algodón embebidas en agua y solución azucarada ubicadas en la parte superior de los recipientes. Los tipos de papel a probar con los dos métodos fueron: 1) papel impregnado con aceite de oliva y 2) papel impregnado con aceite de silicona. Como control (Control-1), se empleó papel filtro sin adición de medio (aceites). La variable a medir fue el porcentaje de mortalidad a las 24 horas. Se realizaron cinco réplicas de cada tipo de papel para cada especie. Adicionalmente, para *L. serrana* se incluyó otro control (Control-2), que consistió en dejar grupos de 10 hembras en los dos contenedores ensayados para el periodo posexposición (tubo de observación-OMS y contenedor con yeso humedecido) sin aplicar ningún método. Pasadas 24 horas, se realizó la lectura de mortalidad. Se realizaron cinco réplicas para cada contenedor. En el análisis de datos se realizó un análisis de varianza de dos factores para determinar si había diferencias en la mortalidad de las especies por efecto del método (OMS y OMS-modificado) y el tipo de papel (impregnado con aceite de oliva y silicona).

Figura 1. Traslado de los insectos desde el tubo de observación OMS al recipiente posexposición OMS-adaptado.

Resultados

En el tabla 1 se presentan los porcentajes de mortalidad promedio para cada especie según el método. Los resultados de las dos cepas de laboratorio de *L. longipalpis* (Callejón F51 y Coyaima F13) fueron muy similares, por lo cual se tomaron de manera conjunta. Esta especie no se vio afectada por ninguno de los dos métodos, presentando porcentajes de mortalidad por debajo del 10% (considerada como normal). En contraste, las otras especies presentaron elevados porcentajes de mortalidad por el método OMS, siendo la mortalidad promedio de *L. serrana* mayor que la de *L. quasitownsendi* (43,7 y 27,2%, respectivamente); mientras que con el método OMS-adaptado, las mortalidades fueron mínimas (1,3 y 4,0%, respectivamente). Esta diferencia debida al método fue estadísticamente significativa en el análisis de varianza de dos factores tanto para *L. serrana* ($F=90,6$; $gl=1, 24$; $P<0,001$), como para *L. quasitownsendi* ($F=53,6$; $gl=1, 24$; $P<0,001$).

Tabla 1. Efecto general del método sobre la mortalidad de *L. longipalpis*, *L. serrana* y *L. quasitowsendi*

Especie	Método	n*	% Mortalidad promedio	DE **	Valores mínimo	máximo
L. longipalpis	OMS	18	1,1	3,08	0,0	10,0
	OMS-ADAPTADO	18	0	0	0	0
L. serrana	OMS	15	43,7	20,7	20,0	80,0
	OMS-ADAPTADO	15	1,3	3,3	0	10,0
L. quasitowsendi	OMS	15	27,2	13,6	10,0	40,0
	OMS-ADAPTADO	15	4,0	5,2	0	10,0

* Número de réplicas (9-11 hembras/réplica). ** Desviación estándar

En el tabla 2 se presenta la mortalidad con relación al tipo de papel empleado; no se incluyó *L. longipalpis*, ya que presentó porcentajes de mortalidad de 0% en la mayoría de los casos. Para *L. serrana* y *L. quasitownsendi* no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las dos especies por efecto del tipo de papel utilizado. Con respecto al Control 2, realizado únicamente con ejemplares de *L. serrana* criados en laboratorio, se encontró que al dejar las hembras en el tubo de observación OMS por 24 horas sin ningún traslado, presentaron un porcentaje de mortalidad promedio de 48,7% (33,3-60%, DE=11,9), mientras que las hembras dejadas en las mismas condiciones en los contenedores con yeso humedecido no presentaron mortalidad en ninguna de las cinco réplicas.

Las condiciones ambientales en los períodos de exposición y posexposición fueron: en laboratorio (temperatura=22-24 °C y HR=80-90%) y en campo (temperatura=19-22 °C y HR=85-90%).

Tabla 2. Efecto del método y tipo de papel sobre la mortalidad de *L. serrana* y *L. quasitowsendi*

Especie	Método	Tipo de papel	% Mortalidad promedio*	DE **	Valores mínimo	máximo
L. serrana	OMS	Ac. oliva	34,0	11,0	20,0	50,0
		Ac. silicona	50,0	18,7	30,0	80,0
		Control 1	47,1	19,2	20,1	70,0
	OMS-ADAPTADO	Ac. oliva	2,0	4.5	0	10,0
		Ac. silicona	2,0	4,5	0	10,0
		Control 1	0	0	0	0
L. quasitowsendi	OMS	Ac. oliva	40,0	7,1	30,0	50,0
		Ac. silicona	22,7	13,6	10,0	40,0
		Control 1	18,9	11,7	10,0	33,3
	OMS-ADAPTADO	Ac. oliva	6,0	5,6	0	11,1
		Ac. silicona	1,8	4,1	0	9,1
		Control 1	4,2	5,8	0	11,1

* 5 réplicas/tipo de papel (9-11 hembras/réplica). ** Desviación estándar

Discusión

La información sobre el uso del método estándar de la OMS para determinar susceptibilidad-resistencia a insecticidas en vectores de leishmaniasis es muy limitada y los pocos trabajos realizados incluyen modificaciones sustanciales que dificultan la comparación de los resultados, como variar la duración del periodo de exposición y posexposición, utilizar hembras alimentadas o mezclas de hembras y machos (19,24). Por este motivo, se hace necesario proponer un método unificado que se adapte a las diferentes especies de flebótomos de importancia epidemiológica en nuestro país y otras regiones similares. Siguiendo el método OMS, se presentaron variaciones importantes entre especies. Por un lado, las dos cepas de *L. longipalpis* respondieron bien al método, con mortalidades de 0% en la mayoría de los casos. Para *L. serrana*, en cambio, los porcentajes de mortalidad oscilaron entre 20 y 80% y para *L. quasitownsendi* silvestres entre el 10 y el 50%. Estos elevados porcentajes de mortalidad llevaron a buscar alternativas sin cambiar las líneas generales del método OMS. Se decidió, entonces, ensayar para el período de posexposición (24 h) un recipiente diferente al tubo OMS. El contenedor plástico ensayado en el método OMS-adaptado es el recipiente en el que generalmente se mantienen los flebótomos en las colonias de laboratorio en todas las fases de su ciclo de vida (26,29). Con esta adaptación, los porcentajes de mortalidad fueron mínimos tanto para *L. serrana* como para *L. quasitownsendi*.

Los resultados de los ensayos denominados Control-2 (mantenimiento de los insectos en los contenedores sin ningún tratamiento por 24h), implican directamente al contenedor como el responsable de la alta mortalidad en el método-OMS. La explicación probablemente está en las condiciones microclimáticas de los recipientes, siendo la humedad la diferencia más importante, pues en el contenedor del método OMS-adaptado ésta se mantiene elevada por la presencia de una base de yeso que permanece humedecida, condición ausente en el tubo OMS. Sin embargo, los requerimientos de humedad relativa en este tipo de ensayos biológicos no son similares para todas las especies de *Lutzomyia*.

En los ensayos con *L. longipalpis*, se observó que las hembras no se afectaron por la permanencia en el tubo-OMS. *L. longipalpis* es una especie relativamente robusta en comparación con la mayoría de especies del genero *Lutzomyia* que son delicadas y de tamaño pequeño (30). *L. longipalpis* se puede encontrar en una gran diversidad de hábitats con amplios márgenes de humedad relativa (31,32). Estas características probablemente le permitieron soportar la manipulación y el reposo sobre el papel sin mayores contratiempos. Por otro lado, *L.serrana*, es una especie de menor tamaño encontrada generalmente en bosques tropicales húmedos y muy húmedos (33,34), lo que puede explicar la muerte después del contacto prolongado con el papel y las superficies del tubo-OMS.

Con respecto a los tipos de papel utilizados (impregnados con aceite de oliva, aceite de silicona y control), no se presentaron variaciones importantes y no se demostró mayor porcentaje de mortalidad en algún tipo de papel específico. En

cuanto a la mortalidad en los testigos (controles), el procedimiento OMS establece que: "Las pruebas que acusen una mortalidad superior al 20% en los testigos no se considerarán válidas y deberán repetirse; si la mortalidad de los testigos está comprendida entre el 5 y el 20%, se recomienda corregir los porcentajes de mortalidad con la fórmula Abbott (%mortalidad de la prueba– %mortalidad de testigos x 100/100–%mortalidad de testigos) y si la mortalidad de los testigos es menor del 5% es considerada como normal y no se practica corrección a los datos" (7). Según esto, al seguir el método OMS, las pruebas realizadas con *L.longipalpis* se considerarían válidas, mientras que las pruebas con *L. serrana* y *L. quasitownsendi* deberían descartarse. Con el método OMSadaptado, se obtienen mortalidades de muy bajas a nulas en los controles; además, la adaptación incluida no cambia sustancialmente el método original, ya que simplemente se reemplaza el recipiente de observación y no se alteran los tiempos establecidos de exposición y posexposición.

Se recomienda, previo a la determinación de susceptibilidad a insecticidas en vectores de leishmaniasis, ajustar el procedimiento a utilizar. Esto para confirmar que los insectos mueren por la acción de la sustancia tóxica y no por la manipulación y condiciones en las que se realizan los ensayos.

En conclusión, el método OMS fue conveniente para la especie *L. longipalpis* y la adaptación realizada al método fue favorable para *L. serrana* (en condiciones de laboratorio) y para *L. quasitownsendi* (en condiciones naturales). Teniendo en cuenta que la mayoría de especies de *Lutzomyia* de importancia médica en las Américas presentan características similares a *L. serrana* y *L. quasitownsendi*, podría recomendarse el método OMS-adaptado para determinar susceptibilidad a insecticidas en las especies de *Lutzomyia* del Nuevo Mundo.

Referencias

1. Aguilar CM, Fernández R, Fernández E, Cannova DC, Ferrer E, Cabrera Z, et al. Urban visceral leishmaniasis in Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz 93,1998:15-16.
2. Oliveira AM, Melo MT. Vectors control importance on leishmaniasis transmission. Mem Inst Oswaldo Cruz 89, 1994: 451-456.
3. Pardo R, Farieta S, Munstermann LE, Ferro C. Estudio preliminar de los flebótomos de Villeta y Quebradanegra, Cundinamarca: sus implicaciones en salud pública. Biomédica 16,1996:293-302.
4. Sandoval CM, Angulo VM, Gutiérrez R, Muñoz G, Ferro C. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. Biomédica 18, 1998:161-168.
5. World Health Organization. Control of the leishmaniases. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series. Geneva: WHO; 1990.
6. Mazzarri MB, Feliciangeli MD, Maroli M, Hernández A, Bravo A. Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to selected insecticides in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Venezuela. J Am Mosq Control Assoc 13, 1997:335-341.
7. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los insecticidas y lucha contra vectores. Serie de informes técnicos N.443. 17° Informe del Comité de Expertos de la OMS en Insecticidas. Ginebra: OMS; 1970.

8. World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides. Establishment of the baseline. 1981. WHO/VBC/81.805.
9. Suárez MF, Morales CA. Pruebas de susceptibilidad de *Aedes aegypti* al ciflutrin en Colombia. Salud Pública 15, 2000:109-113.
10. Rodríguez MM, Bisset J, Rodríguez I, Días C.Determinación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en 2 cepas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Santiago de Cuba. Rev Cubana Med Trop 49, 1997:209-214.
11. Ocampo CG, Brogdon WG, Orrego CM, Toro G, Montoya-Lerma J. Insecticide susceptibility in *Anopheles pseudopunctipennis* from Colombia: comparison between bioassays and biochemical assays.J Am Mosq Control Assoc 16, 2000:331-338.
12. Wang J. Resistance to two pyrethroids in *Anopheles sinensis* from Zhejiang, China. J Am Mosq Control Assoc 15,1999:308-311.
13. Mazzarri M, Georghiou G. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field population of *Aedes aegypti* from Venezuela. J Am Mosq Control Assoc 11,1995:315-322.
14. Amalraj DD, Sivagnaname N, Srinivasan R. Susceptibility of *Phlebotomus argentipes* and *P.papatasi* (Diptera: Psychodidae) to insecticides. J Commun Dis 31,1999:177-180.
15. Seyedi MA, Yezdan H, Shah H, Jeradi M. Susceptibility of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) to DDT in some foci of cutaneous leishmaniasis in Iran. J Am Mosq Control Assoc 8, 1992:99-100.
16. Fahmy AR, Khater EIM, El Sawaf B, Shehata M. Insecticide susceptibility status of field population of sandfly *Phlebotomus papatasi* in the Sinai Peninsula, Egypt. Geneva: WHO; 1996. p.1-9.
17. Tetreault GE, El-Baset A, Hanafi AH, Beavers GM, Zeichner BC. Susceptibility of sand flies to selected insecticides in North Africa and the Middle East. J Am Mosq Control Assoc 17, 2001:23-27.
18. Kaul SM, Wattal BL, Bhatnagar VN, Mathur KK. Preliminary observations on the susceptibility status of *Phlebotomus argentipes* and *P. papatasi* to DDT in two districts of North Bihar (India). J Commun Dis 10, 1978: 208-211.
19. Scorza JV, Márquez M. Control de *Lutzomyia youngi* en el área endémica venezolana de leishmaniasis tegumentaria. Bol Dir Mal San Amb 29 1989:35-41.
20. Scorza JV, Rosario Cl, Scorza-D JV, Rojas E. Susceptibilidad de hembras silvestres de *Lutzomyia youngi* de Trujillo, Venezuela, a insecticidas sintéticos. Bol Dir Mal San Amb 35(Suppl1), 1995: 311-326.
21. Rojas E, Alvarez L, Scorza JV. A practical device for testing sand flies with insecticides. III International Symposium on Phlebotomine Sandflies, Montpellier, Francia, agosto de 1999.
22. Rocha A, Texeira C, Ferreira CM. Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* to deltamethrin. Mem Inst Oswaldo Cruz 83, 1988:395-396.
23. Quesada BL, Montoya J. Evaluación de insecticidas sobre flebotomineos *Lutzomyia* en condiciones de laboratorio. Biomédica11(Suppl1), 1991: 88-89.
24. Oliveira AM, Melo MT. Sandflies susceptibility to insecticides of the four main chemical groups. Rev Soc Bras Med Trop 27(Suppl1), 1994: 356.
25. Brogdon W. Biochemical resistance detection: an alternative to bioassay. Parasitology Today 5, 1989: 56-60.
26. Modi GB, Tesh RB. A simple technique for mass rearing *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the laboratory. J Med Entomol 20, 1983: 568-569.
27. Ferro C, Cárdenas E, Corredor D, Morales A, Munstermann LE. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 93, 1998:195-199.
28. Santamaría E, Munstermann LE, Ferro C. Estimating carrying capacity in a newly colonized sand fly *Lutzomyia serrana* (Diptera: Psychodidae) colony. J Econ Entomol 95, 2002: 149-154.
29. Endris RG, Young DG, Butler JF. The laboratory biology of the sand fly *Lutzomyia anthophora* (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol 21,1984: 656-664.

30. Killick-Kendrick R, Leaney AJ, Ready PD. The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol 13, 1977: 429-440.
31. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sand flies in México, West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem Am Entomol Inst 54, 1994:1-881.
32. Ferro C, Morrison AC, Torres M, Pardo R, Wilson ML, Tesh RB. Species composition and relative abundance of sand flies of the genus *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. J Med Entomol 32,1995: 527-537.
33. Travi BL, Montoya J, Solarte Y, Lozano L, Jaramillo C. Leishmaniasis in Colombia. 1. Studies on the phlebotomine fauna associated with endemic foci in the Pacific coast region. Am J Trop Med Hyg 39,1988:261-266.
34. Alexander B, Ferro C, Young DG, Morales A, Tesh R. Ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in northeastern Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz 87, 1992:387-395.

Leishmaniasis cutánea atípica en un suburbio periurbano de Altagracia de Orituco, estado de Guárico, Venezuela. Prevalencia de la infección

Agrela I., Sánchez E., Feliciangeli M.D., Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Núcleo Aragua, BIOMED, Apartado 4873, Maracay, Venezuela

LEISHMANIA INFANTUM *es el agente etiológico de la leishmaniasis visceral (LV) en Europa, Medio Oriente y América. Sin embargo, desde hace más de una década en el viejo mundo y mas recientemente en el nuevo mundo, específicamente en América Central, ha sido involucrado en casos de leishmaniasis cutánea atípica (LCA). Evidencias clínicas y entomológicas sugieren que una situación similar pudiera estar ocurriendo en un área periurbana de Altagracia de Orituco, Estado de Guárico, Venezuela. Con la finalidad de contribuir al entendimiento de esta situación epidemiológica, se realizó un estudio transversal en el cual se determinó la reactividad a la reacción intradérmica de Montenegro (RIM) y la serorreactividad a antígenos crudos de* Leishmania *spp y al rK39 en los casos de LCA reportados en el periodo 1997-2000 (n=8), en sus cohabitantes (n=15) y en una muestra de 233 personas mediante las pruebas de* ELISA *y de* Western-blot *(Wb). La prevalencia utilizando la RIM fue de 31,6%; el 28,6% resultó positivo a la prueba de* ELISA *usando extracto crudo* de L. infantum *y el 13,3% de estos sueros reaccionaron también con el antígeno de* L. braziliensis*. La prueba de* ELISA *usando el antígeno rK39 resultó positiva en uno de los ocho casos estudiados y en dos de sus cohabitantes, así como también en el 13,7% de los individuos residentes en la comunidad. Los sueros que resultaron positivos al extracto crudo de* L. infantum *y* L. braziliensis *fueron evaluados mediante Wb observándose que éstos sueros reconocen péptidos de 88, 68, 16 y 14 Kd pertenecientes al extracto antigénico de* L. infantum*. Estos resultados indican la circulación, en el área de estudio, de especies de ambos subgéneros*, Viannia *y* Leishmania *(complejo* donovani*), que ocasionan diferentes formas cutáneas.*

Palabras clave: Leishmaniasis cutánea atípica, ELISA, *Western-blot*, rK39, Reacción Intradérmica de Montenegro, Venezuela.

Introducción

En Europa, Medio Oriente y América, *Leishmania (Leishmania) infantum* es reconocido como el agente etiológico de la leishmaniasis visceral (LV) la cual es caracterizada por pérdida de peso, fiebre, anemia y hepatoesplenomegalia. Sin embargo, en el continente europeo y medio oriente, *L. infantum* es responsable tanto de leishmaniasis visceral (LV) como cutánea (LC) (1-3), con buena correlación, aunque no perfecta, entre el zimodema del parásito y la patología que ocasiona. Recientemente se ha reportado que este protozoario es responsable de lesiones cutáneas ulcerativas en diversas áreas de América Central (4-7). Estas

manifestaciones han sido denominadas leishmaniasis cutánea atípica (LCA). Estudios realizados en Honduras donde *L. infantum* ocasiona tanto LV como LC, no mostraron diferencias en el análisis de restricción del polimorfismo de ADN o en zimodemas entre los aislados del parásito obtenido a partir de las lesiones de piel o vísceras, sugiriendo que el parásito no es el factor determinante del curso clínico de la infección (5).

Es probable que una situación semejante esté ocurriendo en Altagracia de Orituco, estado de Guárico, Venezuela, donde desde 1996 se vienen registrando casos de LC con lesiones no ulcerativas, pequeñas y muy infiltradas (De Lima, com pers.). Los intentos por aislar *in vitro* el agente responsable han sido infructuosos y hasta ahora sólo se ha podido mantener *in vivo* en animales de laboratorio. El análisis de restricción del ADNk de parásitos aislados de varios pacientes en el área, demostró que aunque compatible con el subgénero *Viannia,* presentaba cierta heterogeneidad (8), mientras que estudios entomológicos señalaron la predominancia de *Lutzomyia evansi* y *Lu. longipalpis* en el área (9) vectores reconocidos de *L. infantum* en Venezuela y Colombia (10-13).

El presente trabajo tiene por objeto determinar la prevalencia a *Leishmania* spp. mediante la reacción intradérmica de Montenegro (RIM) utilizando una mezcla de dos antígenos preparados a partir de extractos crudos de *L. infantum* y *L. braziliensis*, y a cada uno de ellos por separado mediante las pruebas de ELISA y Western-blot, así como al antígeno recombinante rK39, en los habitantes de un área periurbana de Altagracia de Orituco, a fin de contribuir a la caracterización epidemiológica de la enfermedad en este foco, requisito indispensable para diseñar estrategias adecuadas de control. El protocolo del estudio, en los aspectos éticos, fue aprobado por la Comisión de Bioética del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONICIT).

Materiales y Métodos

Área de estudio y población- El estudio se realizó en Altagracia de Orituco, ciudad situada en el estado Guárico, Venezuela (9º52'N, 66º10'W, 429 m.s.n.m.), que ecológicamente se encuentra ubicada en una zona de transición entre el bosque seco tropical y muy seco tropical, con temperatura media anual que varía entre 22º y 29º C y tasa de precipitación media anual aproximada de 900 mm (14). Para 1997 la tasa de incidencia anual de leishmaniasis cutánea reportada fue de 75 por 10.000 habitantes la mayor parte de los casos eran procedentes del Barrio Peña de Mota. La población de este sector, de aproximadamente 2.000 habitantes, fue convocada a una reunión, en la cual se les informó sobre la enfermedad presente en el área, su modo de transmisión, prevención y control y sobre el estudio a realizar. Las personas enroladas o sus representantes legales voluntariamente accedieron a participar en el mismo a través de consentimiento escrito.

Grupos de estudio- Se estructuraron 3 grupos: 1) 8 pacientes diagnosticados por criterios clínico-epidemiológicos, confirmados parasitologicamente y tratados en el Instituto de Biomedicina (UCV, Caracas); 2) cohabitantes del grupo 1(n=15); 3) una

muestra de 233 individuos, calculada mediante el programa EpiInfo 6 (19) en base a una prevalencia de 15%, nivel confianza 95% y error tipo I de 0,05. Todos eran mayores de 5 años y habitaban en casas próximas a las de los pacientes.

Después de aplicar una encuesta para colectar datos demográficos y sobre conocimiento del vector, se realizó el examen dermatológico en busca de lesiones y/o cicatrices, se aplicó la RIM y se tomó una muestra de sangre (3 mL) por punción venosa con material estéril descartable. La sangre, sin anticoagulante, se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos y el suero obtenido se almacenó a -20ºC hasta el momento de realización de las pruebas serológicas.

Reacción intradérmica de Montenegro (RIM) - Se utilizó antígeno producido a partir de *Leishmania* spp. en medio mínimo esencial + bicarbonato 2,2 gr/L, SFB 2,5%, estreptomicina 100000 ng/L y penicilina 100000 U/L. Promastigotos en fase logarítmica se lavaron x 2 en PBS 0,02 M pH 7,4 y se resuspendieron a 6,5 x 10^6 promastigotos/mL en la misma solución. Se esterilizaron a 120ºC/15lb/15 minutos y almacenaron en ampollas estériles a 4ºC hasta su uso. Se realizaron controles de esterilidad bacteriológico y micológico. Se aplicó 0,1 mL de antígeno y control (PBS estéril) intradérmicamente en ambos antebrazos, y la lectura se realizó a las 48-72hs usando el método del bolígrafo. Se consideró positivo si el promedio de los dos diámetros perpendiculares de induración fue mayor o igual a 5 mm (15-18).

Estudio serológico - Como controles positivos se utilizaron sueros de pacientes con diagnóstico clínico y parasitológico de LV o LC, cedidos por la Dra. Marian Urlich del Instituto de Biomedicina, Caracas y como controles negativos, sueros de personas sanas que no habían visitados zonas endémicas de leishmaniasis. Los sueros controles se conservaron a -20ºC hasta su uso.

ELISA - Los sueros fueron sometidos a la prueba de ELISA usando 3 antígenos: promastigotos de *L. braziliensis* (MHO/BR/LTB300), *L. infantum* (MHO/BR/PP75) y el antígeno recombinante rK39 (20,21). Placas de microtitulación fueron sensibilizadas toda la noche a 4º C con 1x10^6 promastigotes de *L. infantum* (*Li*) o *L. braziliensis* (*Lb*) inactivados con formol, o con 40 ng de rK39 en 100 µL de buffer carbonato-bicarbonato 0.05M pH 9,6. Los pocillos se bloquearon 1 hora a temperatura ambiente con 200 µL PBS 0,02M pH 7,4 + 1% de albúmina sérica bovina (ASB), se lavaron con PBS-Tween 20 al 0,05% (PBS-T), e incubaron 1 hora con 100 µL de los sueros diluídos en PBS-T: 1:300 promastigotos de *Li*, 1:200 promastigotos *Lb*, 1:100 rK39. Se lavaron con PBS-T, y se agregó por 1 hora 100 µL de antiIgG humana conjugada con peroxidasa 1:1500 en PBS-T. Se lavó con PBS-T y se agregó en cada pocillo 100 µL del sustrato de reacción (ABTS en 500mM de ácido cítrico pH 4 en presencia de H_20_2), se incubó 10 minutos en oscuridad y se detuvo la reacción con SDS 1%. Las placas se leyeron a 415 nm. Las ELISA se consideraron reactivas con una DO=0,209 y 0,288 para promastigotos de *Li* y *Lb* respectivamente y una DO= 0,273 para rK39, densidades ópticas calculadas como el valor superior al promedio de controles negativos más 3 desviaciones estándar.

Western-blot (Wb)- Se utilizaron las mismas cepas de referencia que para ELISA. Promastigotos en fase logarítmica se lavaron con PBS 0,02M pH 7,4, se sometieron a congelamiento-descongelamiento rápido x 3, y resuspendieron en PBS + PMSF 35 mg/mL, TPCK 10 mg/mL, TLCK 10 mg/mL. Se corrieron en minigeles de poliacrilamida-SDS al 10% en condiciones reductoras y los péptidos electrotransferidos a membranas de nitrocelulosa poro 0,2um usando buffer 25 mM Tris, 192 mM glicina pH 8,3 con 20% metanol. Las membranas se bloquearon con 3% ASB en el buffer de transferencia, 2 x 30 minutos, lavadas con PBS-T y almacenadas a -20ºC. En el momento de uso se cortó el papel en tiras de 5mm e incubó 2 horas a temperatura ambiente con los sueros a ensayar diluidos 1:100 en PBS-T + 1% ASB. Las tiras se lavaron luego con PBS-T, se incubaron 1 hora a 37ºC con antiIgG humana conjugada con peroxidasa 1:800 en PBS-T+ASB, se lavaron de nuevo y los anticuerpos anti-leishmania se revelaron con 4-cloro 1-naftol + H_20_2 en PBS. Los sueros control de LV reconocieron las bandas de 115, 88, 69-62, 47-41, 35, 17-14 Kd pertenecientes al extracto antigénico de *Li*, los controles de LC reconocieron las bandas de 85, 50, 28-22 Kd del extracto de *Lb*.

Análisis de resultados - Se utilizó el programa EpiInfo versión 6.04b (19) y Stata (StataCorp®, 1997)(20). Los resultados de las pruebas serológicas se compararon usando la prueba t de Student de dos colas. Las variables categóricas se analizaron utilizando la oportunidad relativa (OR) cruda, la prueba de asociación según distribución χ^2 o de Fischer con valores esperados menores a 5. Las variables continuas se compararon mediante la prueba de t de Student.

Resultados

Estudio de casos y cohabitantes - Desde 1997 hasta el 2000 se registraron 11 casos de LC en el barrio Peña de Mota, de los cuales pudieron recuperarse 8 casos (72,7%) y 15 cohabitantes de los mismos. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos con la RIM y la ELISA para estos dos grupos. Por Wb los sueros reconocieron 9-25 bandas del extracto antigénico de *Li*, de los anticuerpos específicos 43 % reconocieron la banda de 16 Kd, 22% la de 14 Kd, 22% la de 35 Kd y 13% la de 47 Kd. Estos sueros reconocieron también 19 péptidos de *Lb*, 30% (7/23) la banda de 26 Kd.

Tabla 1- Casos (1-8) y cohabitantes(9-24) de LC en Barrio Peña de Mota, Altagracia de Orituco Guárico, Venezuela, 1997-2000 . Características demográficas y resultados (en negrita los considerados positivos)

ID	Sexo	Edad (años)	Residencia[a] (años)	Ocupación	IRM (mm)	ELISA[b] *L.infantum*	ELISA[b] *L.braziliensis*	ELISA[b] rK39
1	F	7	7	Estudiante	**25**	0,137	0,177	**0,278**
2	F	10	10	Estudiante	**11**	0,111	0,171	0,120
3	M	13	13	Estudiante	**10**	0,114	0,126	0,167
4	M	11	11	Estudiante	**10**	0,056	0,058	0,210
5	F	30	8	Ama de casa	**16**	0,165	0,0240	0,095
6	F	9	9	Estudiante	**20**	0.102	0,081	0,073
7	F	23	23	Ama de casa	**10**	0,116	0,174	0,211
8	M	35	35	Otros	**25**	0,169	0,258	0,079
9	F	54	30	Ama de casa	0	0,134	0,167	0,126
10	F	10	1	Estudiante	**20**	**0,209**	0,205	0,222
11	M	8	8	Estudiante	2	0,144	0,083	0,221
12	M	56	30	Agricultor	**9**	0,167	0,258	0,159
13	M	8	8	Estudiante	0	0,149	0,136	0,095
14	F	26	26	Ama de casa	**11**	0,117	0,099	0,163
15	F	70	70	Ama de casa	4	**0,526**	**0,611**	0,128
16	F	10	10	Estudiante	3	0,147	0,232	0,119
17	M	16	16	Estudiante	2	0,167	0,105	0,073
18	F	75	54	Ama de casa	**15**	**0,649**	**0,793**	**0,307**
19	F	8	8	Estudiante	3	0,116	0,198	0,211
20	F	15	8	Estudiante	0	**0,235**	**0,329**	0,187
21	F	11	8	Estudiante	3	0,120	0,136	0,190
22	F	14	14	Estudiante	3	0,100	0,139	0,222
23	F	7	7	Estudiante	**25**	0,137	0,177	**0,278**

[a] Tiempo de residencia en la zona, [b] densidad óptica

Estudio de Prevalencia - La muestra de 233 individuos estudiados estuvo constituida por 94 hombres y 139 mujeres, edad media 25,1 años (rango 4-85), 50% menor de 18 años y 75% menor de 34 años. Se realizó la RIM a 212 individuos (36,8% hombres, 63,2% mujeres) resultando una prevalencia global del 31,6% (20 hombres, 47 mujeres). La oportunidad relativa -OR- estimada considerando el sexo femenino como el de referencia resultó 1,56 (IC 95% 0,85-2,91) pero esta diferencia no fue significativa (P= 0,156). Cuando se compararon los resultados obtenidos en individuos con diferente tiempo de residencia en la zona (11-20, 21-30, 31-40, >40 años) con aquellos de individuos que tenían menos de 10 años de tiempo viviendo en el sitio), la categoría 31-40 años tuvo una OR de 5,65 (IC95% 1,91-16,7, P=0,002). Con respecto a la ocupación, la respuesta a la RIM mostró diferencias significativas entre los reactivos y los no reactivos (χ^2= 16,95 gl=4, P=0,002), diferencia que se mantuvo al considerar exclusivamente hombres (χ^2= 16,18 gl=4, P=0,001), pero no en mujeres (χ^2= 5,02 gl=4, P=0,23).

El estudio serológico realizado a 233 individuos demostró que 67 (28,8 %) resultaron reactivos al ELISA para *Li*, 31 (13,3%) para *Lb* (28 reactivos también a *Li*, 3 sólo a *Lb*) y 32 (13,7%) fueron reactivos al antígeno rK39. La serorreactividad a *Li* y *Lb* no estuvo asociada con el sexo (P=0,14 para *Li* y P=0,55 para *Lb*). Al comparar

la edad como variable continua entre serorreactivos y no reactivos para *Li* se encontró una diferencia de 8 años (P=0,004) y para *Lb* de 25 años (P=<0,001). Cuando se compararon las distintos categorías etarias (<10, 11-20, 21-30, 31-40, >40 años) tomando la primera como referencia, la categoría de > 40 años resultó con una OR de 2,32 (IC 95% 1,03-5,21, P= 0,041) para *Li* y una OR de 25,9 (IC 95% 5,57-120,50, P= <0,001) para *Lb*. En relación con el tiempo de residencia se observó una diferencia de de 7,5 y 20,1 años entre reactivos y no reactivos a *Li* y *Lb* respectivamente (P=0,001). Separados por categorías, los individuos con más de 40 años de residencia en el sitio son también los que tienen más probabilidades de ser serorreactivos a *Li* (OR 3,53, IC95% 1,43-8,70, P=0,006) y a *Lb* (OR 15, IC95% 4,65-48,3, P= <0,001).

La reactividad a rK39 (14 hombres, 18 mujeres) presentó una OR en relación al sexo de 1,18 (IC95% 0,55-2,5) sin embargo esta diferencia no fue significativa (P=0,67). Tampoco se encontró diferencia al comparar la edad o el tiempo de residencia en la comunidad como variable continua (P=>0,1). Se observó una diferencia de 5 años (de edad o residencia) entre los grupos seroreactivos y no reactivos, pero al tratarlas como variables categóricas, aunque la tendencia es a un aumento de OR con los años (edad OR= 0,4-1,3; tiempo de residencia OR= 0,5-2,1), ninguna categoría mostró diferencias significativas. Sólo 9 personas con anticuerpos anti-*Leishmania* usando cualquiera de las tres pruebas resultaron positivas a RIM, 20 fueron reactivas a ELISA de *Li* y *Lb*, 11 a *Li* y rK39, 9 a las tres pruebas de ELISA, mientras 28, 3 y 12 sueros fueron reactivos sólo a *Li*, *Lb* o *rK39* respectivamente. No se observaron sueros positivos simultáneamente a rK39 y *Lb*.

Los 20 sueros reactivos a *Lb* y *Li* fueron sometidos a Wb, reconociendo 5 a 30 (19,4 ± 6,9) bandas del extracto de *Li*. El patrón fue heterogéneo sin embargo las bandas de 88, 68, 47-44, 16 y 14 Kd fueron reconocidas por el 65, 45, 60, 75 y 55% de los sueros respectivamente. Ensayos similares con antígenos de *Lb* reconocieron un número menor de péptidos (12,0 ± 5,9) con las bandas de 64, 34 y 22 Kd reconocidas por el 40% de los sueros. Tres sueros que reaccionaron en la prueba de ELISA exclusivamente con *Lb* reconocieron los péptidos de 123, 76, 62, 41, 27-24, 15-9 Kd del extracto de *Li*, sin embargo no detectaron los péptidos de 85, 50 o 28-22 Kd de *Lb*.

En la Tabla 2 se muestra el promedio de los resultados obtenidos en los tres grupos de estudio y la significancia estadística de las diferencias.

Tabla 2. Promedio ± desviación estándar de los resultados de la Reacción intradérmica de Montenegro (RIM) (diámetro de induración en mm) y ELISA (densidad óptica) entre casos reportados de LC en el período 1997-2000 (n=8), sus cohabitantes (n=15) y una muestra poblacional (n=233) en el barrio Peña de Mota, Altagracia de Orituco, Guárico, Venezuela*

Prueba	Casos	Cohabitantes	Muestra	P[a]	P[b]
IRM	**15,88±2,35**	5,35±1,63	3,58±0,39	**0,001**	0,24
ELISA *Lch*	0,121±0,01	0,213±0,04	0,210±0,01	0,13	0,95
ELISA *Lb*	0,161±0,02	0,249±0,06	0,199±0,01	0,24	0,25
ELISA rK39	0,154±0,03	0,171±0,02	0,184±0,08	0,57	0,68

[a] Casos-Cohabitantes, [b] Cohabitantes-muestra * En negrita resultado con diferencia significativa

Discusión

Estudios previos demostraron que el agente etiológico de la LV en Venezuela es *L. infantum* (24,26), sin embargo, hasta ahora esta especie no había sido involucrada con LC en el país. En este trabajo se presentan evidencias sobre una nueva situación epidemiológica en Venezuela, en la cual esta especie estaría involucrada en casos de leishmaniasis cutánea atípica en una zona periurbana de Altagracia de Orituco, estado Guárico, en Venezuela, situación similar a la descrita en América Central (5-7).

La RIM ha sido utilizada en diferentes focos de LV en Colombia y Venezuela para demostrar contacto con el parásito (13, 25-27). En este estudio resultó reactiva en el 100% de los casos clínicos estudiados, 33,3% de sus cohabitantes y 31,6% de una muestra poblacional. Las diferencia de resultado por sexo no fue significativa, pero si estuvieron más expuestos a la infección los individuos con más de 30 años de residencia en el sitio. Otros autores señalan una relación positiva entre reactividad a RIM y la edad (13, 18, 29).

Con relación a la ocupación, en la población en estudio se evidenció una asociación con la RIM sólo en hombres, donde los agricultores fueron el grupo más expuesto al contacto con el parásito.

De los 233 sueros analizados, 67 fueron serorreactivos al antígeno total de *Li* y 31 a *Lb*. La reacción cruzada a estos dos antígenos ha sido ampliamente registrada (30-32). La serorreactividad a los extractos crudos, como en la RIM, no estuvo relacionada al sexo, pero sí asociada positivamente con los grupos etarios superiores a 40 años y con más de 40 años de residencia en la comunidad. El antígeno recombinante rK39 es altamente específico y sensible para las leishmanias del complejo *donovani* como *L. infantum* (21,22) y se demostró la presencia de anticuerpos contra rK39 en los sueros de 13,6% habitantes de Altagracia de Orituco, indicando circulación de las especies de este complejo en la zona, y eventualmente infecciones activas o en progreso (21).

Las pruebas de Wb permiten confirmar los resultados de las pruebas de ELISA, aunque se deben analizar con precaución por la variación antigénica de acuerdo a la fuente (estadio y fase de crecimiento del parásito) y las condiciones experimentales (ambiente reductor, concentración de acrilamida entre otras). El Wb puede poner en evidencia la presencia de anticuerpos específicos aún cuando otras pruebas como ELISA resulten negativas (33). En este estudio los casos de LC y el 66,6% de los cohabitantes que resultaron negativos a las pruebas de ELISA reconocieron por Wb bandas de 16 Kd y 14Kd, ambas especificas de LV. Por otra parte también reconocieron las bandas de 76, 47 y 35 Kd que podrían corresponder a las de 74, 46 y 32 Kd señaladas por Evans (34). Los sueros de los individuos de la muestra poblacional ELISA reactivos a *Li* y *Lb* reconocieron el 75% la banda de 16 Kd y el 55% la de 14 Kd, además de las de 87, 76, 47-44 y 27-24, probablemente equivalentes a las de 93, 74, 70, 46 y 26 Kd de Evans (32), reconocidas por pacientes de LV. El 45% de los sueros ensayados presentaron anticuerpos que reconocieron una banda de 68 Kd, que podría corresponder con la glicoproteína de 66 Kd señalada por

Reed (35) altamente específica para LV. Estos sueros reconocieron a su vez las bandas de 123, 76, 62, 41, 27-24, 15-9 Kd del extracto soluble de *L. infantum*, reconocidas también por los sueros controles de pacientes de LV. La banda de 50 Kd, específica de LC, reconocida por los sueros controles respectivos, no lo fue por los sueros del estudio.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la reactividad inmunológica por RIM de los casos de LC y sus cohabitantes, consistente con los estudios que señalan para estos últimos 3 veces más riesgo de infección (25). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas en la RIM o ELISA entre cohabitantes y población general.

Los resultados de este estudio indican la circulación en la zona, de parásitos de los subgéneros *Viannia* y *Leishmania*, complejo *donovani*. Estos últimos podrían ser los responsables de la leishmaniasis cutánea atípica (LCA) como la descrita en América Central, donde también la situación entomológica es similar, con presencia importante de *Lu. longipalpis,* vector de la LV (36). Esto deberá confirmarse mediante métodos más específicos (isoenzimas, anticuerpos monoclonales, PCR, hibridación con sondas).

La presencia de lesiones cutáneas asociadas a *L. infantum* en humanos tiene implicaciones desde el punto de vista de la salud pública. En Europa ciertas cepas dermotrópicas tienden a visceralizar en un paciente inmunocomprometido como los que presentan cuadros de desnutrición o SIDA (37,38). De esta forma, casos de LCA pueden resultar reservorios de LV en población vulnerable. Por otra parte las lesiones pueden ser confundidas con tuberculósis cutánea, sarcoidiosis o lupus conduciendo a la aplicación de tratamientos inadecuados y costosos. En consecuencia la situación en Altagracia de Orituco requiere de estudios ulteriores dirigidos a la búsqueda activa de casos, aislamiento y caracterización del parásito aislados de humanos, vectores, y reservorios a fin de poder implementar oportunas medidas de prevención y control.

Referencias

1. Hatam GR, Hossein SMH, Ardehali S. Dermatropic isolates of *Leishmania infantum* in Iran. Trans R Soc Trop Med Hyg 91, 1997: 440.
2. Frank C, Hadziandoniou M, Pratlong F, Grifallou A, Rioux JA. *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* responsible for cutaneous leishmaniasis in Greece: sixteen autochthonous cases. Trans R Soc Trop Med Hyg 87, 1993: 184-185.
3. Gramiccia M, Gradoni L, Pozio E. *Leishmania infantum sensu lato* as agent of cutaneous leishmaniasis in Abruzzi region (Italy) Trans R Soc Trop Med Hyg 81, 1987: 235-237.
4. Belli A, García D, Palacios X, Rodríguez B, Velle S, Videa E, Tinoco E, Marin F, Harris E. Widespread atypical cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (L) chagasi* in Nicaragua. Trans R Soc Trop Med Hyg 61, 1999: 380-385.
5. Noyes H, Chance M, Ponce C, Ponce E, Maingon R. *Leishmania chagasi*: genotipically similar parasites from Honduras cause both, visceral and cutaneous leishmaniasis in humans. Experimental Parasitology 85, 1997: 264-273.
6. Ponce C, Ponce E, Morrison A, Cruz A, Kreutzer R, Mc Mahon-Pratt D, Neva F *Leishmania donovani chagasi*: New clinical variant of cutaneous leishmaniasis in Honduras. Lancet 337, 1991: 67-70.

7. Zeledón R, Hidalgo H , Viquez A , Urbina A. Atypical cutaneous leishmaniasis in semiarid region of north-est Costa Rica. Trans R Soc Trop Med Hyg 83, 1989: 786.
8. Rodriguez N, De Lima H, Barrios MA, De Guglielmo Z, Rodríguez A, Cardona M, Barrios RM, Barker DC. Genetic variability within *L. (V.) braziliensis* (Venezuelan strains) isolated from patients with cutaneous leishmaniasis. Proceedings of the IX International Congress of Parasitology: 859-867, 1998
9. Feliciangeli MD. Estudio integral de focos de leishmaniasis en Venezuela. Informe Técnico Proyecto Control de Enfermedades Endémicas (World Bank-Government of Venezuela PCEE, Project VEN/96-002-006), 1999
10. Feliciangeli MD, Rodríguez N, de Guglielmo z, Rodríguez A. The reemergence of American Visceral Leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II. Vectors ans Parasites. Parasites 6, 1999: 113-120.
11. Travi BL, Vélez JD, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J. *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psichodidae) an alternative vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 84, 1990: 676-677.
12. Morrison AG, Ferro C, Pardo R, Torres M, Devlin B, Wilson M, Tesh R. Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psichodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. J Med Entomol 32, 1995: 538-548.
13. Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Morales A, Ferro C, Young D, Kreutzer R, Boshel J, Palau MT, Cáceres E, Pelaez D.Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg 40, 1989: 480-486.
14. Ewel JJ, Madriz A. Zonas de vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre el mapa ecológico. Editorial Sucre, Caracas, 264 pp, 1968
15. Sokal JE.Measurement of delayed skin-test responses. New England J Med 293, 1975: 501-502.
16. Ali A, Ashford RW. Visceral leishmaniasis in Ethiopia. I. Cross-sectional leishmanin skin test in an endemic locality. Ann Trop Med Parasitol 87, 1993: 157-161.
17. Shiddp SA, Aden Mohamed A, Akuffo HO, Herzi AA, Haji Mohamed H, Huldt G, Nilsoson LA, Outcherlony O, Thorstensson R. Visceral leishmaniasis in Somalia: prevalence markers of infection and disease manifestations in village in an endemic area. Trans R Soc Trop Med Hyg 89, 1995: 361-368.
18. WHO Manual of visceral leishmaniasis WHO/LEISH/96.40, 1996
19. Dean A. EpiInfo, version 6.04. A word processing, database and statistic program for public health of IBM compatible microcomputer. Centres for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, 1995
20. Statacorp. Stata statistical software: Release 5.0. College Station, TX: Stata Corporation. USA, 1997
21. Badaró R, Benson D, Eulálio MC, Freire M, Cunha S, Netto EM, Pedral-Sampaio D, Madureira C, Burns JM, Houghton RL, David JR, Reed SG. rK39: A cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. J Inf Dis 173, 1996: 758 -761.
22. Jing-Qi Q, Zhong L , Masoom-Yasinzai M, Abdur-Rab M, Aksu HSZ, Redd SG, Chang KP, Gilman-Sachs A. Serodiagnosis of Asian leishmaniasis with a recombinant antigen from the repetitive domain of *Leishmania* kinesin. Trans R Soc Trop Med Hyg 88, 1994: 543-545.
23. Twobin H, Staelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc Nat Aca Sci USA 76, 1979: 4350.
24. Zerpa O, Ulrich M, Negrón E, Rodriguez N, Centeno M, Rodríguez V, Barrios RM, Belisario D, Reed S, Convit J. Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island (Nueva Esparta), Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg 94, 2000: 484-487.
25. Zulueta AM, Villaroel E, Rodríguez N, Feliciangeli MD, Mazzarri M, Reyes O, Rodríguez V, Centeno M, Barrios RM, Urlich M. Epidemiologic aspects of American Visceral Leishmaniasis in an endemic focus in eastern Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg 61, 1999: 941-950.
26. Delgado O, Feliciangeli MD, Gómez B, Alvarado J, García L, Bello C. The reemergence of American Visceral Leishmaniasis in an old focus in Venezuela. I. Present situation of humans and canine infection. Parasites 5, 1998: 317-323.

27. O'Daly JA, Spinetti H, Rodríguez BM, Acuña L, García P, Castillo LM, Ovalles T, Zambrano L, Yánez A, Ianello JG, Gracía R, Papapietro A, Zamora C, Salinas O. Proteínas de mastigotas de varias especies de leishmania protegen a seres humanos contra la leishmaniasis en áreas endémicas de Guatire, estado Miranda-Venezuela. Gac Med Caracas 103, 1995: 133-177.
28. Scorza J, Valera M, Moreno E, James R. Encuesta epidemiológica sobre leishmaniasis cutánea. Un estudio en Mérida, Venezuela. Bol Of Panam 62, 1983: 118-133.
29. Badaró B, Jones TC, Lorenço E, Rocha R, Teixeira R, Johnson W. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brasil. J Infect Dis 154, 1986: 639-649.
30. Badaró R, Reed SG, Carvalho EM. Immunofluorescent antibody test in American Visceral leishmanoasis: sensitivity and specificity of different morphological forms of two *Leishmania* species. Am J Trop Med Hyg 32, 1983: 480-484.
31. Harith AE, Kolk AHJ, Kager PA. A simple and economical direct aglutination test for serodiagnosis and sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 91, 1986: 440.
32. Scott JM, Shereffler WG, Ghalib HW. A rapid and simple diagnostic test for active visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 44, 1991: 272-277.
33. Mary C, Lamouroux D, Dunan S, Quili M. Wstern-blot analysis of antibodies to *Leishmania infantum* antigens: potential of 14 Kd and 16 Kd antigens for diagnosis and epidemiological purposes. Am J Med Hyg 47, 1992: 764-771.
34. Evans T, Krug E, Wilson M, Vascocelos A, de Alencar J, Pearson R. Evaluation of antibody responses in American Visceral Leishmaniasis by ELISA and Immunoblot. Mem Inst Oswaldo Cruz 84, 1989: 157-166.
35. Reed S, Badaró R, Lloyd R. Identification of specific and cross-reactive antigens of *Leishmania donovani* by human infections sera. J Immunol 138, 1987: 1596-1601.
36. Hamilton JG, Ward RD, Dougherty MJ, Maingon R, Ponce C, Ponce E, Noyes H, Zeledon R. Comparison of the sex-pheromone components of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) from areas of visceral and atypical cutaneous leishmaniasis in Honduras and Cost Rica. Ann Trop Med Parasitol 90, 1996 :533-541.
37. Gramiccia M, Gradoni L, Troiani M. HIV- *Leishmania* co-infections in Italy. Isoenzyme characterization of *Leishmania* causing visceral leishmaniasis in HIV patients. Trans R Soc Trop Med Hyg 86, 1992: 161-163.
38. Alvar J, Canavate C, Gutierrez-Solar B, Jimenez M, Laguna F, Lopez-Velez R, Molina R, Moreno J. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. Clin Microbiol Rev 10, 1997: 298-319.

Efectividad de toldillos impregnados con insecticida y la fumigación intradomiciliar para el control de la leishmaniasis cutánea en la región subandina del departamento del Huila, Colombia

Raúl Pardo Puentes, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

Se evaluó la efectividad de toldillos impregnados y de la fumigación intradomiciliar, ambos con lambdacyhalotrina CS, 25 mg/m², para el control de vectores de leishmaniasis cutánea en el departamento de Huila. Se comparó, mediante capturas con trampas de luz CDC, la tasa de picadura intradomiciliar, el número y porcentaje de hembras con sangre, llenas con sangre y el índice de sangre humana. Los resultados mostraron que los toldillos impregnados y la fumigación tuvieron, aparentemente, un efecto similar sobre Lutzomyia longiflocosa*, el vector sospechoso, reduciendo significativamente hasta cuatro meses post-tratamiento: a) el número y porcentaje de hembras que toman sangre, b) el número de hembras que tienen éxito completo en la toma de sangre y c) el índice de sangre humana. También hubo indicios de reducción en la abundancia intradomiciliar. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que las reducciones observadas con la fumigación no son reales y más bien parecen ser el resultado de una menor efectividad del método de captura con este tratamiento. Debido a que el presente estudio fue en algunas viviendas, no se puede descartar que la fumigación sea efectiva en una intervención masiva. Se concluye que los toldillos impregnados son una medida alternativa que pueden tener un alto impacto en el control de la leishmaniasis en el área subandina del departamento del Huila.*

Palabras clave: Leishmaniasis cutánea, toldillos impregnados, fumigación intradomiciliar, control, *Lutzomyia longiflocosa*, Colombia.

Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad endémica en Colombia, presentándose principalmente la forma conocida como leishmaniasis cutánea (LC). En los últimos años ha habido un aumento notorio de esta enfermedad con un promedio de cerca de 12.000 casos/año. Sin embargo este número debe ser mucho mayor debido a que el sub-registro es alto. En el departamento del Huila la LC registró aproximadamente 2.108 casos en el período 1982 - 2004, de los cuales el 59% ocurrieron durante la epidemia que se presentó entre 1993-1996 (incidencia máxima = 275 x 100.000 habitantes en 1994) en el foco epidémico localizado en la zona montañosa al nororiente del departamento y que involucra al menos cuatro municipios (Baraya, Tello, Neiva y Rivera). El agente etiológico más común es *Leishmania braziliensis* (1) y el principal vector sospechoso es *Lutzomyia longiflocosa* (2,3).

El control de los vectores de la leishmaniasis, de hábitos peridomiciliares e intradomiciliares, se ha basado en la fumigación del intradomicilio, aunque su efectividad ha sido demostrada en pocos casos (4,5). En Colombia la fumigación con

deltametrina no mostró éxito en reducir abundancia ni tasa de picadura de *L. youngi* y *L. columbiana* (6). Por otra parte, el proceso de descentralización del sector salud en los últimos años y los reducidos recursos han impedido el establecimiento de esta medida dentro de un programa de control organizado y sostenible en donde se evalué el impacto de esta medida y sus resultados sean utilizados en la toma de decisiones encaminadas a mantener su efectividad. En consecuencia se han buscado medidas alternativas o complementarias de control menos costosas, entre ellas el uso por la población de toldillos impregnados con insecticida, herramienta que ha demostrado su efectividad en el control de la malaria. Sin embargo, en leishmaniasis se han publicado pocos estudios, aunque promisorios, en focos de Asia con el vector *Phlebotomus sergenti* (7,8,9) y de África con *Ph. orientalis* (10). En Colombia, en el Valle del Cauca, toldillos con deltametrina (26 mg/m²) redujeron la picadura de *L. youngi*, vector potencial de LC, dentro y fuera de estos, comparado con habitaciones no protegidas con toldillos (11) y en la Costa Atlántica toldillos similares mostraron resultados alentadores para el control de leishmaniasis visceral causada por *L. evansi* al disminuir el contacto humano vector (12). En cuanto a los insecticidas usados para la impregnación de toldillos hasta el momento los únicos aprobados por la OMS son los piretroides, escogidos por su relativa seguridad al contacto con humanos y su alto poder insecticida a dosis bajas, además de su fácil degradación en el medio ambiente (13).

En el presente estudio se evaluó el uso de toldillos impregnados, bajo condiciones normales de uso, comparados con la fumigación intradomiciliar para el control de vectores de LC en la región subandina (1000 – 2000 m.s.n.m.) del departamento del Huila. Las variables evaluadas fueron: la tasa de picadura (medida indirectamente con trampas de luz CDC), la proporción y el número de hembras con sangre, llenas de sangre y el índice de sangre humana.

Materiales y métodos

Área de estudio. El estudio se realizó en tres veredas de alta incidencia de LC dentro del área epidémica de LC del departamento del Huila, localizadas en el área rural de la región subandina (altitud promedio 1600 - 1700 m s.n.m.): La Troja (3° 11’ N y 74° 57’ O) en el municipio de Baraya, Brasilia (3° 0’ N y 74° 59’ O) en el municipio de Tello y El Cedral (2° 56’ N y 75° 0’ O) en el municipio de Neiva (Figura 1).

Descripción del estudio. Estudio aleatorio apareado por la abundancia de flebótomos con tres tratamientos: a) casas con toldillos impregnados con insecticida, b) casas con dormitorios fumigados y c) casas control (ninguna intervención). Inicialmente se hizo un muestreo entre enero y marzo de 2001, en 266 viviendas con trampas de luz CDC. De estas viviendas se seleccionaron las 81 viviendas con mayor abundancia de flebótomos, las cuales sirvieron como información pre-intervención, y con ellas se formaron 27 tripletas (7 de reserva) basados en la similitud en abundancias. Dentro de cada tripleta se asignaron los tres tratamientos de forma aleatoria, los cuales se

aplicaron en el mes de mayo. Después de 3 meses de intervención, a finales del mes de julio, se hizo el muestreo post-intervención.

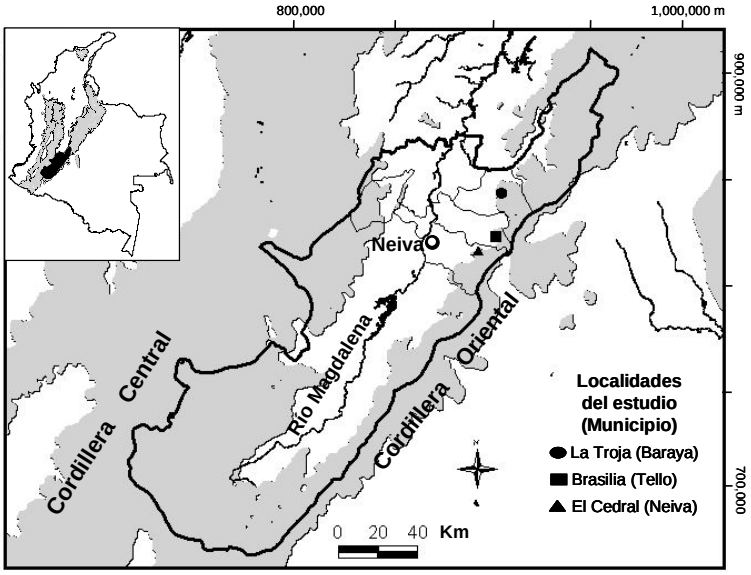


Figura 1. Localidades muestreadas en el estudio de efectividad del uso de toldillos impregnados con insecticida y la fumigación intradomiciliar en el departamento del Huila (Colombia). El área sombreada indica altitud > 1000 m s.n.m. .

Insecticida y su aplicación. Se usó Lambdacyhalotrina en suspensión micro-encapsulada (CS), Demand CS® 2,5%, de baja irritabilidad en usuarios y efecto residual de por lo menos tres meses. El insecticida se utilizó para los dos tratamientos con insecticida: (a) *Toldillos* – Se utilizaron toldillos de nylon para cama sencilla de 11,0 m² y doble de 13,5 m², ojo de malla de 0,7 mm (163 perforaciones/cm²) que impide el paso de flebótomos (14). La impregnación se realizó según Lines (15) para concentración blanco de 25 mg/m². Después de impregnados, los toldillos se conservaron en bolsas plásticas selladas, protegidas de la luz, hasta el momento de su utilización. Se entregó un promedio de 3,9 toldillos/vivienda, de acuerdo a las camas en uso, indicando la forma apropiada de usarlos. La única condición que se colocó para el uso fue que los toldillos no se lavaran durante el estudio. Antes de distribuir los toldillos se confirmó su efecto letal en laboratorio usando grupos de 10 especimenes de *L. longipalpis*, los cuales se expusieron al material del toldillo usando los conos de la OMS (16). La mortalidad a las 24 h, después de 2,5 min de exposición, fue del 100% (69/69) vs 2,9% (2/71) en el control; (b) *Fumigación* – Se fumigaron las paredes y cielorrasos de dormitorios, con bomba tipo Hudson por un Técnico de Saneamiento, con la misma concentración blanco usada en los toldillos. La mayoría de las casas fumigadas tuvieron paredes de adobe, pañetadas y pintadas. Durante la aplicación de los tratamientos con insecticida se visitaron las casas seleccionadas como controles y se acordó su participación en el estudio. Al finalizar el muestreo post-intervención se les proporcionó, sin ningún costo, toldillos impregnados de acuerdo con el número de camas.

Muestreo de flebótomos. Los flebótomos se capturaron con trampas de luz tipo CDC (17) entre 18:00 y 7:00 h. En cada vivienda se colocó una trampa por noche en un

mismo dormitorio habitado, tanto en el muestro pre-intervención como en el post-intervención. Las viviendas de cada tripleta fueron muestreadas simultáneamente. Los flebótomos se identificaron según las claves de Young & Duncan (18). En el muestreo pre-intervención las hembras con sangre se categorizaron por el volumen de abdomen ocupado con sangre en: *llena* (> 65%), *mitad* (35% - 65%) y *poca* (< 35%). Algunas muestras se preservaron en seco para comparación con el muestreo post-intervención, cuando además se anotó el estado de la sangre *fresca* (rojo brillante) o *digerida* (café oscuro). Los especimenes se conservaron en sílica gel, refrigeradas, hasta la prueba para la identificación de sangre de origen humana.

Identificación de sangre humana. La identificación de la sangre de origen humano en las hembras capturadas se hizo con la prueba de anillo de precipitinas (19) aplicada sólo a hembras llenas o con mitad de sangre. Las hembras con poca sangre no fueron incluidas por las dificultades que esta cantidad de sangre presenta para su identificación (20).

Variables evaluadas. 1) Abundancia de flebótomos por vivienda por noche, 2) promedio de hembras con sangre, 3) promedio de hembras llenas de sangre, 4) proporción (%) de hembras con sangre (denominador total de hembras), 5) proporción (%) de hembras llenas de sangre (denominador hembras con sangre), 6) Índice de sangre humana, ISH, o proporción de hembras con sangre humana (denominador hembras sometidas a prueba de precipitinas). Las unidades de las primeras tres variables se expresaron en número hembras o flebótomos/trampa/noche (h/t/n, f/t/n).

Bioensayos. Se hicieron bioensayos en campo tanto con los toldillos impregnados distribuidos como en las viviendas fumigadas para verificar el efecto letal del insecticida durante todo el estudio. La metodología fue similar a la de los bioensayos en laboratorio con los toldillos. Se evaluó la mortalidad de grupos (11 – 21 especimenes) de hembras silvestres de *L. longiflocosa* a 24 h post-exposición (tiempo de exposición a toldillos = 3 min, y a paredes fumigadas = 1 h) en los materiales recién impregnados y cuatro meses después.

Análisis estadístico. El análisis se realizó solo con *L. longiflocosa*, especie ampliamente dominante en el muestreo. Los resultados se presentan como promedios geométricos (MG) o como porcentajes acompañados de sus intervalos de confianza (excepto para porcentajes muy bajos). El análisis se hizo con Modelo Linear Generalizado (GLIM) usando el programa Stata7 (Stata Corporation, Texas, USA). Se analizaron las variables de pre-intervención para identificar posibles sesgos por diferencias entre grupos, después se realizó el análisis post-intervención controlando por las variables del muestreo pre-intervención. Finalmente, se comprobó la consistencia del modelo mediante la relación gráfica entre los residuos y los valores predichos y la grafica cuantil-cuantil para normalidad de los residuos. El análisis de abundancia se hizo asumiendo una distribución Normal de los datos transformados a In (x+1). Los porcentajes se analizaron mediante regresión logística asumiendo una

distribución Binomial y controlando por tripleta. Para el porcentaje de hembras con sangre humana se controló por el estado y la cantidad de sangre. Debido al tamaño de muestra pequeño, las muestras de sangre humana del muestreo pre-intervención se analizaron mediante las pruebas de x^2 y exacta de Fisher.

Resultados

Muestreo inicial. En las 266 viviendas muestreadas para la selección de las viviendas del estudio se capturaron 7.667 flebótomos distribuidos en por lo menos ocho especies. El 93,5% de los especimenes fueron *L. longiflocosa*, especie dominada por las hembras (91%). Las otras siete especies correspondieron a *L. nuneztovari*, *L. trinidadensis*, *L. (Helcocyrtomyia) spp*., *L. columbiana*, *L. dubitans*, *L. oresbia* y *L. erwindonaldoi*. Un 2,5% de los especimenes que por presentar daños en sus estructuras no pudieron ser identificados se asumieron como *L. longiflocosa*. Debido a su alta dominancia los resultados presentados se refieren solo a esta especie.

Intervención. El análisis final de la evaluación de los toldillos impregnados y la fumigación intradomiciliar se basó en 48 viviendas (16 tripletas) de los municipios de Baraya y Neiva, ya que debido a problemas de orden público fue imposible hacer el muestreo post-intervención en el municipio de Tello. El número de especies y las abundancias relativas de estas siguieron el mismo patrón descrito para el total de viviendas en el muestreo inicial tanto en las viviendas del grupo pre-intervención como en las del grupo post-intervención. En las dos evaluaciones se capturó un total de 10.918 especimenes (preintervención = 5.096; post-intervención = 5.822); *L. longiflocosa* fue la especie dominante con un 94% en cada una de las evaluaciones, en donde también las hembras dominaron con el mismo porcentaje, 95%.

Los bioensayos mostraron que en términos generales los dos tratamientos con insecticida mantuvieron su poder letal sobre *L. longiflocosa* durante todo el estudio. Luego de 4 meses de la intervención la mortalidad a 24 h fue del 96,6% en los toldillos y del 90,1% en paredes. A pesar de ser alta, la mortalidad en las paredes fue significativamente menor que en paredes recién fumigadas.

Cuando se compararon las densidades promedio de hembras de *L. longiflocosa* durante las dos evaluaciones por tratamiento (Tabla) se observó una aparente disminución post-intervención en los tratamientos con insecticida, con mayores diferencias en los toldillos impregnados y un aumento en el control, pero las diferencias no fueron significativas. Tampoco lo fueron para el total de flebótomos. En el análisis final en donde se compararon las abundancias por tratamiento en la post-intervención, controlando por la abundancia pre-intervención, tampoco se encontraron diferencias significativas en las abundancias de las hembras de *L. longiflocosa* ni en el total de flebótomos entre ninguno de los tratamientos.

Aunque los grupos pre-intervención mostraron un equilibrio en la abundancia de flebótomos (Tabla 1) producto del diseño en tripletas homogéneas, el porcentaje promedio de hembras con sangre fue significativamente mayor en el control que en los tratamientos con insecticida (control = 29%, paredes = 18%, toldillos = 21%). De

otra parte, el porcentaje de hembras llenas fue significativamente mayor en el tratamiento con paredes fumigadas que en los otros dos (paredes = 82%, control = 69%, y toldillos = 59%). Por ello en la comparación final post-intervención se controló por las variables anteriores. Se encontró una reducción significativa de *L. longiflocosa* en los dos tratamientos con insecticida comparados con el control en: (a) promedio geométrico (PG) del número hembras con sangre (control = 17 h/t/n, paredes = 2,4 h/t/n, y toldillos = 1,0 h/t/n), (b) proporción de hembras con sangre (control = 20%, paredes = 4,3%, toldillos = 1,5%), y (c) PG del número de hembras llenas con sangre (control = 13 h/t/n, paredes = 1,6 h/t/n, y toldillos = 0,9 h/t/n). Para el porcentaje de hembras llenas, aunque se observó una reducción aparente en los dos tratamientos con insecticida, no se encontraron diferencias significativas. Tampoco hubo diferencias significativas entre fumigación y toldillo en ninguna de las variables comparadas.

De un total de 588 hembras encontradas con sangre en el muestreo post-intervención, 534 contenían sangre para la prueba de precipitinas, de las que la gran mayoría, 521, correspondieron a *L. longiflocosa*. En la pre-intervención (65 *L. longiflocosa*) no hubo diferencias significativas en el ISH entre tratamientos (rango: 0,56 - 0,77). En el muestreo post-intervención el ISH en los dos tratamientos con insecticida fue significativamente menor que el del tratamiento control (control = 0,84, paredes = 0,50, toldillos = 0,27). La reducción en el ISH en los toldillos impregnados comparado con la fumigación no resultó significativa.

Tabla 1. Abundancia promedio de *Lutzomyia longiflocosa* hembras (*L. longiflocosa* hembr) y del total de flebótomos en casas con toldillos impregnados con lambdacyhalotrina CS, 25 mg/m^2, casas fumigadas con el mismo insecticida y en casas controles.

		Pre-intervención			**Pos-intervención**		
Tratamiento	Especie	Nº	MG	(i.c. 95%)	No.	MG	(i.c. 95%)
Control	*L. longiflocosa* hembr	1,861	43	(24 - 80)	2,492	50	(23 - 111)
	Total *Lutzomyia*	2,162	52	(29 - 94)	2,626	54	(24 - 120)
Fumigación	*L. longiflocosa* hembr	1,518	42	(24 - 75)	1,589	34	(13 - 86)
	Total *Lutzomyia*	1,684	48	(27 - 85)	1,777	42	(16 - 104)
Toldillo	*L. longiflocosa* hembr	1,048	42	(25 - 69)	1,361	26	(9.8 - 66)
impregnado	Total *Lutzomyia*	1,250	53	(34 - 82)	1,419	28	(11 - 71)

MG: Promedio geométrico, flebótomos/trampa/noche; i.c.: Intervalo de confianza del 95%.

Discusión

La alta abundancia de *L. longiflocosa* (hasta 50 h/t/n, en viviendas control de la post-intervención) y su alto ISH (0,84 en las mismas viviendas) en el intradomicilio confirman que el control a nivel intradomiciliar puede tener un impacto significativo en la reducción de la leishmaniasis en la región subandina estudiada.

El uso de toldillos impregnados y la fumigación, ambos con lambdacyhalotrina CS 25 mg/m² tuvieron aparentemente efectos similares sobre *L. longiflocosa* hasta cuatro meses post-intervención reduciendo significativamente el

porcentaje de hembras con sangre, el éxito completo en la toma de sangre (número de hembras llenas con sangre) y el ISH. A pesar de que no se pudo confirmar estadísticamente, en ambos tratamientos también se redujo la abundancia de *L. longiflocosa* y el total de flebótomos. Lo anterior sugeriría que ambos tratamientos con insecticida podrían ser utilizados en el control de la LC en el área de estudio. Sin embargo, hay varias evidencias, colectadas en este y en otros estudios complementarios (efectividad de toldillos bajo condiciones controladas y validación de las trampas CDC como representativas de las capturas con cebo humano, datos no mostrados), realizados por el autor, que indican que el efecto de los toldillos impregnados sobre *L. longiflocosa* puede ser real, mientras que el efecto observado por la fumigación se debe probablemente a fallas en el método de muestreo (trampas CDC) en la captura de hembras con sangre.

Para el caso de los toldillos impregnados se encontró que en la validación de las trampas CDC, en donde se comparo capturas con trampas CDC y con cebo humano en las viviendas muestreadas, la razón trampas CDC : cebo humano fue muy similar para el tratamiento control (9,7) y el de toldillos (7,8). Esto indica que la reducción observada en el número de flebótomos, capturados con trampas CDC, en las viviendas con toldillos impregnados es una diferencia real. Lo anterior se refuerza al comparar las tasas de picadura en humanos en el mismo estudio (control = 5,8 vs toldillo = 2,0 hembras/ persona/2,5 h). Con relación a la fumigación se encontró que: la razón trampas CDC : cebo humano fue mucho menor en la fumigación (5,4) que en el control (9,7). Esto indica que las trampas CDC fueron menos efectivas para capturar los flebótomos en las viviendas fumigadas. A lo anterior se suma el hecho de que las tasas de picadura fueron prácticamente las mismas en el control y la fumigación (5,8 vs 5,9 hembras/persona/2,5 h, respectivamente) y que en el presente estudio los habitantes de las viviendas fumigadas se quejaron porque la molestia sanitaria por las picaduras siguió después de la fumigación. Otro elemento adicional, en contra de la efectividad de la fumigación, es que *L. longiflocosa* es aparentemente una especie exofilica, comportamiento que reduce la probabilidad de contacto vector-pared fumigada. Durante el presente estudio ningún ejemplar de esta especie fue observado reposando dentro de las viviendas durante el día y en un estudio más detallado en el vecino departamento del Tolima se observo lo mismo (21). Así, lo que parece suceder en las viviendas fumigadas es que *L. longiflocosa* entra, y sin reposar en las paredes, pica a las personas para luego reposar en las paredes (por la tendencia a reposar después de alimentarse) en donde muchas hembras son derribadas, reduciéndose la posibilidad de ser atrapadas por las trampas CDC. Por esto las capturas muestran una reducción en las variables asociadas con la toma de sangre. Resultados y explicación similares fueron dados al evaluar la fumigación intradomiciliar para el control de *L. verrucarum* en Perú (22).

Estudios de comparación entre toldillos impregnados y fumigación intradomiciliar para el control de leishmaniasis son muy limitados. El único artículo publicado comparando toldillos impregnados con permetrina 500 mg/m² y la fumigación con lambdacyhalotrina 30 mg/m², para control de LC por *Ph. sergenti* en Afganistán (7), mostró que el uso de toldillos tuvo un efecto protector mayor que la fumigación (65% vs 40%), sin embargo no se registró ninguna variable entomológica. Con malaria se

demostró que los toldillos impregnados con piretroides pueden ser tan efectivos como la fumigación intradomiciliar con piretroides o con DDT tanto para las variables malariológicas como las entomológicas (23,24).

El hecho de no encontrar diferencias significativas en la abundancia de flebótomos entre el tratamiento con toldillos impregnados y el control, a pesar que el promedio de hembras de *L. longiflocosa* disminuyó (control = 51 h/t/n vs toldillo = 26 h/t/n) pudo deberse a que: a) el método de muestreo con trampas CDC no fue representativo de la tasa de picadura en humanos, causa descartada aquí por los resultados de la validación de las trampas CDC, aunque fallas de método fueron sugeridas en trabajos donde se uso trampa de "papel pegajoso" (6, 9); b) el tamaño de la muestra no fue suficiente para detectar las diferencias en abundancia entre los tratamientos. Esto es posible pues se había calculado que con muestrear 20 viviendas por tratamiento se podría detectar una reducción del 50%. Por los motivos antes expuestos se muestrearon tan solo 16 viviendas.

La notoria reducción en el número y porcentaje de hembras con sangre como consecuencia de la intervención con toldillos indica que hubo una reducción en la picadura intradomiciliar. Estos resultados coinciden con los reportados en vectores de malaria, en donde la fumigación tuvo resultados similares (23), y en cabañas experimentales (25) donde se redujo el porcentaje de hembras con sangre en especies de *Anopheles* y en *Culex quinquefasciatus*. La reducción en el número de hembras llenas de sangre sugiere que la lambdacyhalotrina, además de reducir la toma de sangre, también afecta el éxito en lograr una alimentación completa.

La reducción de la proporción de hembras con sangre humana en *L. longiflocosa,* sugiere un desvío de las hembras hacia animales domésticos del mismo intradomicilio o del peridomicilio. El desvío pudo ocurrir como consecuencia de un efecto repelente del insecticida, lo cual, sin embargo, parece poco probable con base en los resultados del estudio sobre efecto entomológico potencial (datos no mostrados). El alto ISH encontrado en el grupo control (0,84) indicaría una alta antropofilia, sin embargo este valor debe tomarse con precaución ya que está sesgado por el sitio de colección, el intradomicilio, en donde se espera una alta alimentación en humanos. A esto se agrega que el muestreo se realizó en una de las épocas de mayor abundancia de *L. longiflocosa* cuando puede haber una mayor proporción de picadura en humanos. Teniendo en cuenta esto, los valores del ISH encontrados son mucho más altos que los que se citan para otras especies intradomiciliares de flebótomos. Para *L. longipalpis*, *L. verrucarum* y *L. peruensis*, el ISH determinado con precipitinas, osciló entre 0,18 y 0,32 (26, 27); mientras que para *L. ovallesi*, mediante ELISA, el ISH fue 0,4 (20).

Es importante anotar que el toldillo impregnado fue aceptado por las familias que tomaron parte en el estudio, a pesar del ojo de malla pequeño (apertura de 0.7 mm). Esto confirma que este tipo de toldillo es adecuado en zonas con bajas temperaturas nocturnas, como lo es la región montañosa andina. Además, tiene la ventaja, en el caso de impregnación con insecticida, de proporcionar una protección extra en eventuales pérdidas de efectividad entre re-impregnaciones.

En conclusión aunque el uso de toldillos impregnados con insecticida y la fumigación intradomiciliar con lambdacyhalotrina CS, 25 mg/m², tienen

aparentemente un efecto similar sobre *L. longiflocosa* reduciendo: (a) número y porcentaje de hembras que toman sangre, (b) el número de hembras que logran tener éxito completo en la toma de sangre (hembras llenas) y (c) el índice de sangre humana, algunas evidencias, principalmente la razón trampa CDC : cebo humano, sugieren que el efecto de los toldillos es real (CDC : cebo humano con valor similar en tratamientos toldillo y control), mientras que el de la fumigación parece ser el resultado de una menor efectividad de las trampas CDC en la captura de los flebótomos (CDC : cebo humano mucho menor en tratamiento con fumigación que en el control). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el presente estudio fue una intervención individual, solo en algunas viviendas, y no se puede descartar que la fumigación sea efectiva bajo las condiciones de una intervención masiva. Lo anterior, sumado a la alta actividad intradomiciliar y antropofilia de *L. longiflocosa* permite plantear que el uso de toldillos impregnados en el intradomicilio es una medida alternativa para el control de la LC en el área subandina del departamento del Huila, y en otras similares donde esta especie este involucrada, como en el reciente foco del departamento del Tolima (21).

Referencias

1. Nicholls S, Castano L, Palau T, Alvarez C, Ayala M, Corredor S, *et al.* Aspectos epidemiológicos y percepciones sobre leishmaniasis cutánea en poblaciones de areas endemicas. Biomedica 17 (Supl.2), 1997: 122.
2. Pardo R, Ferro C, Lozano G, Lozano CA, Cabrera O, Davies C. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) vectores de leishmaniasis cutánea y sus determinantes ecológicos en la zona cafetera del departamento del Huila. Memorias XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, D.C. 147-163, 1999
3. Santamaría E, Castillo M, Cárdenas E, Bello F, Ayala M, Ferro C. Transmisión experimental de *Leishmania braziliensis* a hámster por picadura de *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) provenientes de un foco endémico en la zona cafetera colombiana. Medicas UIS 12, 1998 : 2792-84.
4. Davies C, Llanos-Cuestas J, Canales J, Leon E, Alvares E, *et al*. The fall and rise of Andean cutaneous leishmaniasis : transient impact of the DDT campaign in Peru. Trans R Soc Trop Med Hyg 88, 1994: 389-393.
5. Falcao AL, Falcao AR, Pinto CT, Gontijo CM, Falqueto A. Effect of deltamethrin spraying on the sandfly populations in focus of american cutaneous leishmaniasis. Men Inst Oswaldo Cruz 86, 1991: 399-404.
6. Alexander B, Jaramillo C, Usma MC, Quesada BL, Cadena H, Roa W, *et al.* An attempt to control phlebotomine sand flies (diptera: psychodidae) by residual spraying with Deltamethrin in a Colombian village. Men Inst Oswaldo Cruz 90, 1995: 421-424.
7. Reyburn H, Ashford R, Mohsen M, Hewitt S, Rowland M. A randomized controlled trial of insecticide-treated bednets and chaddars or top sheets, and residual spraying of interior rooms for the prevention of cutaneous leishmaniasis in Kabul, Afghanistan. Trans R Soc Trop Med Hyg 94, 2000: 361-366.
8. Tayeh A, Jalouk L, Madini A-KA. A cutaneous leishmaniasis control trial using pyrethroid-impregnated bednets in Villages near Aleppo, Syria. WHO/LEISH/97.41, 1997.
9. Nadim A, Motabar M, Houshmand B, Keyghobadi K, Aflatonian MR. Evaluation of pyrethroid impregnated bednets for control of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Bam (Islamic Republic of Iran). World Health Organization, 1-21, 1995.

10. Elnaiem DA, Elnahas AM, Aboud MA. Protective efficacy of lambdacyhalothrin-impregnated bednets against *Phlebotomus orientalis*, the vector of visceral leishmaniasis in Sudan. Med Vet Entomol 13, 1999: 310-314.
11. Alexander B, Usma MC, Cadena H, Quesada BL, Solarte Y, *et al*. Evaluation of Deltamethrin-impregnated bednets and curtains against phlebotomine sandflies in Valle del Cauca, Colombia. Med Vet Entomol 9, 1995: 279-283.
12. Velez ID, Rojas W, Montoya-Lerma J. The effect of deltamethrin impregnated bednets against endophilic *Lutzomyia spp* in a colombian focus of visceral leishmaniasis. ISOPS III. Montpillier, France. 21, 1999
13. Zaim M, Aitio A, Nakashima N. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. Med Vet Entomol 14, 2000: 1-5.
14. Pardo R, Santamaría E, Ferro C. Tamaño del ojo de malla en toldillos para el control de vectores de leishmaniasis cutánea en la región andina: Pruebas de laboratorio. Resúmenes XXVIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, Pereira 8 – 10 Agosto, 96 -97, 2001
15. Lines JD. The technical issues. En: Net gain: A new method of preventing malaria deaths. Ottawa, 17-52, 1996.
16. WHO. Manual on Prectical Entomology in Malaria. Part II, Methods and techniques. World Health Organization, 1975.
17. Sudia WD, Chamberlain RW. Batery-operated light trap, an improved model. Mosq News 22, 1962: 126-29.
18. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, The West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). 54. Gainesville, Florida, USA: Associated Publishers. 881 pp, 1994
19. Weitz B. Identification of bloods meals of blood-sucking arthropods. Bull Org. mond. Sante 15, 1956: 473-490.
20. Gomez B, Sanchez E, Feliciangeli MD. Man-vector contact of phlebotomine sand flies (Diptera:Psychodidae) in north-central Venezuela as assessed by blood meal identification using Dot-Elisa. J Am Mosq Control Assoc 14, 1998: 28-32.
21. Pardo R, Cabrera O, Becerra J, Fuya P, Ferro C. *Lutzomyia longiflocosa* posible vector en un foco de leishmaniasis cutánea en la región subandina del departamento del Tolima, Colombia, y el conocimiento que tiene la población sobre este insecto. Biomedica; 25, 2006: (en prensa).
22. Davies CR, Lane RR, Villesca P, Pyke S, Campos P, Llanos-Cuentas A. The relationship between CDC light-trap and human-bait catches of endophagic sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Peruvian Andes. Med Vet Entomol 9, 1995: 241-248.
23. Curtis CF, Maxwell CA, Finch RJ, Njunwa KJ. A comparison of use of a pyrethroid either for house spraying or for bednet treatment against malaria vectors. Trop Med Int Health 3, 1998: 619-631.
24. Curtis CF, Mnzava AEP. Comparison of house spraying and insecticide-treated nets for malaria control. Bull World Health Organ; 78, 2000: 1389-1400.
25. Maxwell CA, Myamba J, Njunwa KJ, Greenwood BM, Curtis CF. Comparison of bednets impregnated with different pyrethroids for their impact on mosquitoes and on re-infection with malaria after clearance of pre-existing infections with chlorproguanil-dapsone. Trans R Soc Trop Med Hyg 93, 1999: 4-11.
26. Morrinson AC, Ferro C, Tesh RB. Host preferences of the sand fly *Lutzomia longipalpis* at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg 49, 1993: 68-75.
27. Ogusuku E, Perez JE, Paz L, Nieto E, Monje J, Guerra H. Identification of bloodmeal sources of *Lutzomia spp.*in Peru. Ann Trop Med Parasitol 88, 1994: 329-335.

Evaluación de competencia del perro como reservorio de *Leishmania braziliensis*

Haroldo Sérgio da Silva Bezerra, Asesor técnico del Programa Nacional de Control de Dengue, Ministério da Saúde, Brasilia, Brasil, Eddie William de Pinho Santana y Jose Wellington de Oliveira Lima, Universidad Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará-Brasil

Resumen: *El papel epidemiológico del perro como reservorio de* Leishmania braziliensis *no ha podido ser confirmado, aunque se han hallado perros naturalmente infectados, asociados a casos humanos y se ha logrado también su infección experimental. Este estudio se propone estudiar el perro como fuente de infección para* Lutzomyia migonei*, vector de leishmaniasis cutánea en Ceará, y los parámetros involucrados en la infección del perro por* L. braziliensis*. De los perros inoculados con material de cultivo sobrevivieron dos, muriendo los demás por causas ajenas al ensayo. Un perro desarrolló una lesión nodular con serología negativa, el otro no desarrolló lesiones pero presentó una prueba de ELISA positiva. A partir de hámsters se infectaron* Lu. migonei *alimentándose 6 de ellas en cada uno de dos perros sanos, a los dos meses post-infección uno presentó dos nódulos de aproximadamente 1 mm, y el otro lesiones nodulares de 5 mm, en el primero desaparecieron manteniendo la serología negativa, en el segundo conservaban 4 mm a los tres meses de evolución cuando el PCR y cultivo resultaron positivos.*

Palabras clave: Leishmaniasis cutánea, *Leishmania braziliensis*, perros, reservorio, xenodiagnóstico, *Lutzomyia migonei*, Brasil.

Introducción

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) existen 350 millones de personas en riesgo de adquirir leishmaniasis y 12 millones aproximadamente se encuentran infectadas (1).

La leishmaniasis cutánea (LC) es endémica en todas las regiones de Brasil, siendo causada por diferentes especies de *Leishmania*, que presentan a su vez diferentes reservorios y vectores especie-específicos según la región. La especie *L. braziliensis* es la que presenta una mayor distribución territorial en Brasil (2). La región nordeste contribuye con un 40% de los casos de LC registrados en el país (3).

Con relación a la incriminación del perro como posible reservorio de *L. braziliensis* no existe consenso entre los investigadores. Hasta el momento la literatura ha descrito perros infectados asociados a la ocurrencia con casos humanos, sin poder comprobar que los canes sean la fuente primaria de infección. El primer hallazgo de perros naturalmente infectados se debe a Pedroso en 1913 (4). Trabajos posteriores, realizados en áreas endémicas de LC, en los estados de Minas Gerais, Bahia, Rio de Janeiro y Ceará también encontraron infecciones naturales por *L. braziliensis* en perros (5-8). Sin embargo, a pesar de estos hallazgos, los perros no

han podido ser debidamente confirmados como reservorios de *L. braziliensis* en Brasil.

La asociación de casos humanos de LC y perros infectados naturalmente fue observada en el área de Três Braços, Bahia (9), donde las cepas de *L. braziliensis* aisladas de perros y humanos demostraron similitudes en el patrón enzimático. En el estado de Rio de Janeiro la prevalencia de anticuerpos anti-*Leishmania* en 357 perros fue significativamente mayor (8,6%) que la observada en áreas de leishmaniasis visceral (4,3%), generando la hipótesis de la importancia epidemiológica del perro en dicha región (10). Los únicos trabajos que presentan el perro como factor de riesgo para la LC en el hombre fueron realizados en Espírito Santo (11,12) y Ceará (8). Por otra parte, se han ensayado también infecciones experimentales de perros, los primeros experimentos datan de 1915 (13) cuando se observaron lesiones en uno de dos perros desafiados con inyección subcutánea, Pedroso en 1923 (14) inoculando *Leishmania* proveniente de lesiones humanas reprodujo la patología en 4/10 perros y Montenegro en el mismo año en dos perros, mientras Forattini y colaboradores en 1953 inocularon 26 animales, de los que 8 desarrollaron alteraciones macroscópicas locales, de 2 se recuperaron parásitos, y solamente uno desarrolló ulceración (16). Ensayos más recientes con *L. braziliensis* tuvieron mejor resultado, Pirmez (7) reprodujo lesiones en 4/4 perros y Genaro (17) infectó 10 perros con un inóculo de $1x10^5$ promastigotes/perro.

En relación a la interacción con los vectores de LC se ha demostrado la infectividad de 3/9 perros infectados mediante xenodiagnóstico con *Lutzomyia whitmani* no proveniente de colonias (18). En trabajos realizados en nuestro laboratorio (datos no publicados) se infectaron experimentalmente 4/4 con una cepa de *L. braziliensis* del municipio de Baturité, los que a su vez sometidos a xenodiagnósticos periódicos produjeron una tasa de infección de 21% a 50% en *L. migonei* de colonias.

Basándose en la evidencia expuesta, este estudio se propone estudiar el perro como fuente de infección para *Lu. migonei*, vector de LC en Ceará, y los parámetros involucrados en la infección del perro por *L. braziliensis*.

Materiales y métodos

Parásitos - Se utilizó la cepa de *L. braziliensis* MHOM/BR/94/H-3227, aislada de un caso humano, caracterizada por anticuerpos monoclonales e isoenzimas, del banco de cepas del Núcleo de Medicina Tropical (NMT/UFC). Las Leishmania fueron caracterizadas por técnicas de electroforesis (19,20) Los parásitos fueron cultivados en medio de Schneider (Sigma) conteniendo 10% de suero fetal bovino inactivado (SBF), 2% de orina humana estéril (21) y antibióticos (Penicilina 200U/ml; Estreptomicina 200µh/ml o Gentamicina 40µh/ml). Para los inóculos en animales fueron utilizados promastigotes en fase estacionaria de crecimiento y hasta cinco pasajes en medio de cultivo.

Flebótomos - Los flebótomos utilizados para iniciar la colonia fueron capturados en áreas endémicas del macizo de Baturité, municipio de Maranguape, en sitios de gran densidad poblacional de flebótomos. Las hembras capturadas en campo fueron transportadas al laboratorio de entomología del NMT alimentándose sobre hamsters anestesiados. Luego de la ingesta se colocaron individualmente en tubos de vidrio con papel de filtro humedecido. Luego de la oviposición fueron identificadas y los huevos colocados en los recipientes de cría hasta la emergencia de los adultos de la F1. Los recipientes se mantuvieron en estufas tipo BOD (HR 85-90%, T 23°C) (22). En los ensayos sólo se utilizaron las generaciones obtenidas en el laboratorio

Perros - Animales de la misma raza y edad aproximada de 3 meses donados por el Centro de Zoonosis de Fortaleza. Todos resultaron negativos para anticuerpos anti-*Leishmania* (ELISA, IFA). Los animales se mantuvieron en cubículos individuales de 1,2 x 18,8 m en el canil de NMT/UFC, y fueron marcados con collares para su mejor seguimiento veterinario. El área de confinamiento fue aislada.

Inoculación con jeringa - Perros - Previa a la infección se permitió, en el sitio del futuro inóculo, la ingesta de 20 hembras de *Lu. migonei* proveniente de la colonia para potenciar la infección (23,24). Inmediatamente se inyectaron 20µl, con $5x10^6$ o 50 µl con $2x10^7$ promastigotes de *L. braziliensis* de cultivo, por inoculación subcutánea en la cara interna del pabellón auditivo derecho. *Hamsters* (*Mesocricetus auratus)* - Se inyectaron 20µl con $5x10^6$ promastigotes subcutáneamente en la almohadilla plantar de la pata derecha.

Infección de flebótomos - Perros - Lotes de 50 hembras de *Lu. migonei* con 5 días de vida, mantenidas hasta entonces con solución azucarada (25), con 25 machos para estimular la ingesta de sangre. Los insectos fueron colocados en tubo de vidrio de 50 ml, cerrado con gasa, sobre los perros infectados como se expuso más arriba, anestesiados con pentobarbital. Las hembras alimentadas se mantuvieron en las condiciones de insectario hasta el día 7 post-ingesta, cuando las sobrevivientes fueron destinadas a los experimentos de inoculación con flebotomíneos. *Hamsters* - lotes de 100 hembras de flebótomos con 50 machos, se procedió como con perros, introduciendo la pata en el tubo con los insectos (25)

Inoculación con flebótomos - Perros sanos (ELISA) fueron expuestos a flebótomos previamente sometidos al ensayo expuesto en "infección de flebótomos". Las hembras luego de esta segunda ingesta fueron disecadas inmediatamente para comprobar su infección.

Pruebas diagnósticas - Los animales inoculados fueron evaluados mediante ELISA patrón, cultivo de *Leishmania*, PCR e histopatología (22, 26)

Los experimentos fueron realizados en los laboratorios del Núcleo de Medicina Tropical/DPML/UFC y Laboratorio de Entomologia de la Fundação Nacional de Saúde/COORCE/MS.

Resultados y Discusión

Inoculación con jeringa: Perros: Se inocularon 5 perros (perro-1 a perro-4 y perro-7). Tres perros murieron 10 días luego del inóculo por una infección intestinal, sobreviviendo los perros denominados perro-3 y perro-7. En el sitio de inoculación del perro-3 apareció a los 17 días post-infección un nódulo de aproximadamente 4 mm de diámetro, que ulceró 11 días después. El perro-7, que había recibido un inóculo de 50µl con $2x10^7$ promastigotes, no desarrolló lesión a pesar de positivizar la serología, muriendo 6 meses luego del inóculo. *Hamsters*: Se inocularon 2 hamsters presentando lesiones en el sitio del inóculo.

Infección de flebótomos: A partir de hámster infectados se alimentaron 70/100 hembras de *Lu. migonei* en uno (Lote 1) y 64/100 en el otro (Lote 2). Todas las hembras sobrevivieron siete días post-ingesta y fueron utilizadas en el ensayo siguiente.

Transmisión de hámster para perro: Debido a los resultados negativos en los intentos de transmisión perro-flebótomo-perro se intentó el protocolo hámster-flebótomo-perro. El denominado perro-8 se expuso al Lote 1 alimentándose 22 hembras con presencia de promastigotes en el 27% (6/22), y el perro-9 se expuso al Lote 2 en el que se alimentaron 13 hembras con una tasa de infección del 46% (6/13)

Seguimiento de perros: La tabla 1 muestra los resultados de las pruebas diagnósticas del Perro- 8, que 2 meses post-infección presentó dos nódulos en la cara interna de la oreja derecha de aproximadamente 1 mm, que luego desaparecieron (tabla 2). El perro-9 presentó a los dos meses post-infección en el sitio de exposición lesiones nodulares de 5 mm de diámetro (figura 1), que conservaban 4 mm a los tres meses de evolución cuando se realizó la PCR y el cultivo con serología *borderline* (Tabla 1).

Figura 1. Lesión en perro producida por *L. braziliensis,* y transmitida por *Lu. migonei* infectada con hámster

Infección de flebótomos con perros: Un primer ensayo sobre el perro-3, 30 días post-inóculo, con un xenodiagnóstico de 60 minutos, no resultó en ninguna de la 50 hembras de *Lu. migonei* alimentadas. Repetida la experiencia a los 37 días post-inóculo se alimentaron el 42% de las hembras (21/50), sobreviviendo a los 7 días en condiciones de insectario el 42% (9/21) de las mismas. A los 43 días se realizó un xenodiagnóstico de 15 minutos sobre la lesión y todas las hembras se alimentaron, con una tasa de supervivencia a los 7 días de 22% (11/50).

Transmisión perro a perro: Se expuso al perro denominado perro-5 a las 9 hembras alimentadas en el segundo ensayo sobre el perro-3, de las cuales presentaron una segunda ingesta 7, pero todas resultaron negativas a *L. braziliensis* en la disección. El perro-6 se sometió a xenodiagnóstico con las 11 hembras de *Lu. migonei* alimentadas en el tercer ensayo con el perro-3, 9 insectos se alimentaron, pero nuevamente resultaron parasitológicamente negativos en la disección. Los ensayos diagnósticos y seguimiento se pueden observar en las tablas 1 y 2. No se encontraron lesiones en el seguimiento de los perros 3, 5 y 6 hasta su óbito, por causas no relacionadas al ensayo, en los dos meses siguientes.

Tabla 1. Evolución de lesiones en perros infectados con *Leishmania braziliensis*

Perro	Tiempo post-infección (días)						
	17	30	60	90	120	180	390
01	Óbito	---	---	---	---	---	---
02	Óbito	---	---	---	---	---	---
03	4 mm	Lesión ulcerada	Óbito	---	---	---	---
04	Óbito	---	---	---	---	---	---
05	---	Sin lesión	Óbito	---	---	---	---
06	---	Sin lesión	Óbito	---	---	---	---
07	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión	Óbito
08	---	Sin lesión	1 mm	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión	Sin lesión
09	---	Sin lesión	5 mm	4 mm	3 mm	Sin lesión	Sin lesión

Tabla 2. Resultado de las inoculaciones de perros con *Leishmania braziliensis*

Perro	Inoculación con			Perro infectado				
	Jeringa	Flebótomo en	alimentado	No	Si, comprobado por			
		Hamster	Perro		Elisa	Cultivo	PCR	Histo
01	X			X				
02	X			X				
03	X			X				
04	X			X				
05			X**	X				
06			X**	X				
07	X				X			
08		X*		X				
09		X*				X	X	X

***** Lotes con 28% y 46% de flebótomos infectados respectivamente.****** Lotes con flebótomos no infectados.

Referencias

1. WHO Expert Committee of the Control of the Leishmaniasis. Control of the leishmaniasis: report of a WHO expert committee, World Health Organization, 1990
2. Gomes AC. Perfil epidemiológica da leishmaniose tegumentar americana no Brasil. An Bras Dermatol 67, 1992:55-60.
3. Lacerda MM. (1994). Domestic transmission of cutaneous leishmaniasis in Brazil. Doctoral thesis, Harvard University, Departament of Tropical Public Health, Boston, USA, 1994
4. Pedroso AM. Leishmaniose local do cão. Ann Paulista de Medicina e Cirurgia 1, 1913 : 33-39.

5. Dias M *et al*. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana. I – Estudo de reservatório em área endêmica no Estado de Minas Gerais. Rev Inst Med Trop São Paulo 19, 1977: 403-410.
6. Barreto AC *et al*. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do Estado da Bahia. II Leishmaniose canina. Rev Soc Bras Med Trop 17, 1984: 59-65.
7. Pirmez, C. *et al*. Experimental canine mucocutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis).* Mem Inst Oswaldo Cruz 83, 1988: 145-151.
8. Oliveira-Lima JW. Domestic transmission of cutaneous leishmaniasis in Brazil. Doctoral thesis, Harvard University, Department of Tropical Public Health, Boston, USA, 1994
9. Cuba Cuba CA *et al*. A focus of mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia, Brazil: characterization and identification of *Leishmania* stocks isolated from man and dogs. Trans Roy Soc Med Hyg 79, 1985: 500-507.
10. Coutinho SG *et al*. A survey for american cutaneous and visceral eishmaniasis among 1,342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human diseases occur. Mem Inst Oswaldo Cruz. 80, 1985: 17-22.
11. Falqueto A *et al*. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, estado do Espirito Santo, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 81, 1986: 155-163.
12. Falqueto A *et al*. Leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* in Espirito Santo State, Brazil.
13. D'Ultra e Silva O. Sobre a leishmaniose tegumentar e seu tratamento. Mem Inst Oswaldo Cruz. 7, 1915: 213-241.
14. Pedroso AM. Infecção do cão pela *Leishmania* tropical. Rev Med São Paulo 7, 1923: 42-45.
15. Montenegro J. Leishmaniose em cães. An Paulista Med Cirurg 14, 1923: 156-157.
16. Forattini OP *et al*. Algumas observações sobre o comportamento da *Leishmania braziliensis* em cães. Arq Fac Hig Saúde Pub Univ São Paulo 3, 1953:53-57.
17. Genaro O *et al.* Montenegro skin test in dogs experimentally infected with *Leishmania(Viannia) braziliensis.* Mem Inst Oswaldo Cruz. 87, 1992: 163-164.
18. Vexenat JA *et al*. Infecção experimental de *Lutzomyia Whitmani* em cães infectados com *Leishmania braziliensis braziliensis.* Mem Inst Oswaldo Cruz 81, 1986: 125-126.
19. McMahon-Pratt D, Bennett E, David JR. Monoclonal antibodies that distinguish subspecies of *Leishmania braziliensis*. Journal of Immunology 129, 1982: 929-937.
20. Momen H. Parasite characterisation by serodeme analysis. Genes and antigenes of parasites: a laboratory manual (eds C. M. Morel), p 639. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1983
21. Howard MK. *et al*. Human urine stimulates growth of *Leishmania in vitro*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 85, 1991:477-479.
22. Peters W, Killick-Kendrick R. The leishmaniasis in biology and medicine, vol I and II, Academic Press, Inc., New York, 1987.
22b. Ribeiro JMC. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. Ann Rev Entomol 32, 1987:463-478.
23. Titus RG, Ribeiro JMC. Salivary gland lysates from the sandfly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. Science 239, 1988: 1306-1308.
24. Theodos CM *et al*. Analysis of enhancing effect of sand fly saliva on *Leishmania* infection in mice. Infec Immun 59, 1991: 1592-1598.
25. Souza NA *et al*. The influence of sugars and amino acids on the blood-feeding behaviour, oviposition and longevity of laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis (*Lutz & Neiva, 1912). (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 90, 1995: 751-757.
26. Lopez, M. *et al*. Diagnosis of *Leishmania* using the polymerase chain reaction: A simplified procedure for field work. Am J Trop Med Hyg 49, 1993*:* 348-356.

Lepra

Prevalencia de infección por *Mycobacterium leprae* en convivientes de pacientes con lepra en una región de baja prevalencia, Medellín, Colombia, 1999

Nora M. Cardona-Castro, Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Medellin, Colombia

Artículo original: Cardona-Castro NM, Restrepo-Jaramillo S, Gil de la Ossa M, Brennan PJ. Infection by *Mycobacterium leprae* of household contacts of lepromatous leprosy patients from a post-elimination leprosy region of Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 100, 2005: 703-707.

Resumen: *En 1999 se registraron 56 pacientes con lepra lepromatosa en el estado de Antioquia, Colombia, una región con baja prevalencia de lepra. Estos estuvieron asociados con 248 contactos convivientes. En este estudio se intentó la detección de* Mycobacterium leprae *en dichos contactos y evaluar su respuesta inmune. Con el objeto de detectar infección se tomaron muestras de secreción nasal y fluido linfático periférico para hacer tinción ácido rápida y PCR. Se tituló también IgM Anti-PGL-I en suero y reactividad a la Lepromina A medida a los 21-28 días. Un médico realizó los exámenes clínicos. Se estudiaron los contactos convivientes de 4 a 92 años de edad, de sexo masculino 49% de ellos. Luego del examen clínico se detectaron signos de lepra en 2 individuos, títulos positivos de IgM contra PGL-I en 13%, reacción de Mitsuda (≥ 4mm) positiva en 59%, la tinción de Ziehl Neelsen y la prueba de PCR fueron negativas en todas las muestras. Los contactos se clasificaron en 5 grupos según el resultado de las pruebas. Grupo 1: 2 contactos diagnosticados con lepra multibacilar. Grupo 2: 15 contactos positivos para IgM anti-PGL-I y reacción de Mitsuda negativa. Grupo 3: 13 contactos positivos para IgM anti-PGL-I y reacción de Mitsuda positiva. Grupo 4: 130 contactos Mitsuda positivos y seronegativos. Grupo 5: 88 contactos no infectados, Mitsuda y sero negativos. La clasificación de conviviente en riesgo que pueden implicar estos resultados es importante. Una correlación entre infección y respuesta inmune a antígenos de* MYCOBACTERIUM LEPRAE *puede ayudar a identificar a los contactos susceptibles con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. La detección de lepra subclínica junto a un tratamiento precoz y efectivo podría contribuir significativamente a la eliminación global de la lepra.*

Palabras clave: Lepra, contactos, Mitsuda, PCR, PGL-I, Colombia.

Introducción

La lepra continúa siendo un problema de salud pública en algunos países (1,2). En 1985, año que se introduce la terapia multidroga (MDT) en Colombia, la prevalencia de lepra fue de 5,5 $^{0}/_{000}$ habitantes, y en el 2002 fue de 0,5 $^{0}/_{000}$(3). Así, de acuerdo al criterio de OMS el control de la lepra en Colombia está en la fase de post-eliminación (4). Sin embargo, la reducción de la prevalencia no refleja el problema real en relación a la distribución de la población, ya que según la región la prevalencia varía

de 0,2-0,5 $^{0}/_{000}$ a 1-3 $^{0}/_{000}$ (3). De la misma manera la incidencia que en el año 2002 para todo Colombia fue de 0,7 $^{0}/_{0000}$ en departamentos como César fue de 4,1 $^{0}/_{0000}$ y en Magdalena del 3,46 $^{0}/_{0000}$, reflejando el hecho que debido al largo período de incubación de la lepra (2-20 años) los contactos infectados pueden desarrollar enfermedad mucho tiempo después que el caso índice ha sido tratado y curado (3).

El plan obligatorio de salud de Colombia incluye el examen clínico periódico de contactos convivientes de los pacientes de lepra. Mientras este concepto es una medida de vigilancia apropiada, existen problemas para su mantenimiento programático. El diagnóstico clínico de lepra sólo es posible cuando el paciente es sintomático, exhibiendo lesiones y daño en los tejidos blanco (5). La determinación de *Mycobacterium leprae* en las secreciones nasales y el fluido linfático periférico usando tinción ácido rápida y la prueba de PCR, y evaluando la respuesta inmune a *M. leprae* en la población de alto riesgo (p.e. convivientes de casos de lepra) podría permitir predecir cuales de estos individuos presenta riesgo de desarrollar lepra.

Materiales y métodos

Contactos convivientes - individuos > 4 años edad, viviendo en mismo domicilio que caso de lepra multibacilar (MB) por período > 2 años. Se enrolaron 248 individuos.
Pacientes con lepra - individuos con diagnóstico nuevo de lepra lepromatosa de acuerdo a bibliografía (6), bajo tratamiento y/o vigilancia.
Contacto conviviente infectado - contacto conviviente con títulos de anticuerpos IgM para PGL-I considerados positivos.

Serología - Contactos convivientes fueron evaluados:
Anticuerpos IgM contra PGL-I - El suero se centrifugó 3500 pm 10 min, diluyó 1:40, y se realizó la prueba ELISA basada en conjugado sintético conteniendo el epítope carbohidrato de PGL-I. La prueba empleó anti-IgM-alcalina fosfatasa humana y 4-metilumbelipheril phosphato, leyendo fluorescencia en equipo SUMA modelo 421 B (6) (UMELISA HANSEN UM 2008 Tecnosuma, Cuba). El punto de corte, 0,394 (media + 3 desviaciones estándar) fue calculado con 75 muestras de la población general de la ciudad de Medellín con condiciones socio-económicas equivalentes a la población estudiada

Intradermorreacción de Lepromina A - Lepromina A preparada con tejido de armadillo infectado con *M. leprae* (Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri, Cuba). Lepromina A (0,1 ml, 37 x 10^6 bacilos/ml) por inyección intradérmica en la cara lateral del antebrazo derecho, induración leída a 21-28 días post-aplicación, reacciones ≥ 4 mm se consideran reacción de Mitsuda positivas (6).

Tinción ácido rápida (Ziehl Neelsen) - Realizada en secreciones nasales y muestras linfáticas según ya se ha descrito (6).

PCR para detectar M.leprae - Realizada en secreciones nasales y muestras linfáticas mediante PCR usando iniciadores (*primers*) y metodología desarrollada previamente (8,9). Se usaron iniciadores 18kd-1 y 18kd-3, que representan al segmento de 360 pb. Las secuencias de los iniciadores fueron:
S18 kd-1 ATTCGTCGTCGAGTTCGACCTTCCT,
18 kd-3 CTTAGCTTGTTGCGCAAACAACAGT,
los productos de amplificación se corrieron en gel de agarosa al 2%. Se realizó un Southern blot y una prueba específica para confirmar los resultados. El marcado fue realizado usando el marcador de ADN Genius 1 y el equipo de detección de Boehringer (8,9).

Exámenes clínicos - Cada contacto conviviente fue examinado clínicamente para signos en piel o neurológicos de lepra. El tamaño de la cicatriz de BCG fue registrado. La ficha clínica incluyó: datos del caso índice (fecha diagnosis, sexo, edad, índice bacilar al momento del diagnóstico y al momento de la ficha, estado del tratamiento, relación familiar, estado socio-económico) y datos del conviviente (edad, sexo, cicatriz de BCG, tiempo de contacto con caso índice, IgM anti-PGL-I, resultados de la tinción ácido-rápida, reacción de PCR y Mitsuda).
Análisis de datos - El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS. La comparación entre variables cualitativas con la prueba Chi-cuadrado, entre cuantitativas con prueba t de Student. El nivel de significancia se consideró p= 0,05.

Resultados

Se estudiaron 248 contactos convivientes voluntarios de 56 pacientes con lepra multibacilar (13 mujeres, 43 hombres, razón sexos 3:1). La edad media de los pacientes fue 54,3 años (DE 15,2, rango 26-84); para el sexo femenino la edad media fue de 55,2 años (DE 14,3, rango 30-74); para el sexo masculino la edad media fue 54 años (DE 15,7, rango 26-84). De los pacientes 27 (46,2%) estaban recibiendo tratamiento y 29 (53,8%) bajo vigilancia, con un Índice Bacilar (IB)= 0 en 4 pacientes, IB=1 en 4, IB=2,4 en 2, IB= 3 en 2; en los pacientes de sexo femenino fue de IB=0 en 12, IB=3 en 1, con 6 en tratamiento y 7 en vigilancia; y en los pacientes de sexo masculino fue IB=0 en 36, IB=1 en 4, IB= 2,4 en 2 e IB=3 en 1, con 33 en tratamiento y 20 en vigilancia. El tiempo medio de tratamiento de los pacientes fue 5,7 años (DE 7, rango 1-35), con una mediana de 2 años.

De los contactos convivientes la edad media fue de 38,5 años (DE 24,8, rango 4-92), de los 199 de sexo femenino la edad media fue de 30,5 (DE 18, rango 4-72), y de los 49 de sexo masculino la media fue de 49,5 años de edad (DE 26,5, rango 5-92). El estatus socio-económico de la población estudiada corresponde a los grados 1,2 y 3 de una escala de 1 a 6 (siendo 6 el máximo estatus socio-económico). La relación familiar con los casos índice fue: 5,2% esposa/o, 22,5% hija/o, 5,8% padre/madre, y 66,5% otros (hermana/o, cuñado/nuera, tía/o, sobrina/o, prima/o, nieta/o). El tiempo de contacto conviviente-caso índice se analizó en función de la edad. Las tablas 1 a 4

muestran el tiempo medio y el título medio de anticuerpos en los diferentes grupos de edad, de los individuos Mitsuda reactivos y no reactivos.

Tabla 1. Período medio de contacto en convivientes Mitsuda reactivos y títulos IgM anti-PGL-I negativos, Medellin, Colombia

Grupo de edad (años)	**Tiempo medio de contacto (años)**	**Título medio de IgM anti-PGL-I (Absorbancia)**
4 to 14	7,8	0,1568
15 to 24	11,6	0,1196
25 to 34	21,5	0,1319
35 to 44	19,8	0,1510
45 to 54	23,4	0,1000
55 to 64	13,3	0,2333
65 to 74	21,0	0,1827
75 to 84	9,0	0,1530
85 plus	4,0	0,1350

Tabla 2. Período medio de contacto en convivientes Mitsuda reactivos y títulos IgM anti-PGL-I positivos, Medellin, Colombia

Grupo de edad (años)	Tiempo medio de contacto (años)	Título medio de IgM anti-PGL-I (Absorbancia)
4 to 14	7	0,7283
15 to 24	9	0,9680
25 to 34	8	2,0600
35 to 44	*	*
45 to 54	19,5	0,4460
55 to 64	22,7	0,8200
65 to 74	16	0,9760
75 to 84	14,5	0,7595
85 plus	*	*

*Sin convivientes con estas características

Tabla 3. Período medio de contacto en convivientes Mitsuda no reactivos y títulos IgM anti-PGL-I negativos, Medellin, Colombia

Grupo de edad (años)	Tiempo medio de contacto (años)	Título medio de IgM anti-PGL-I (Absorbancia)
4 to 14	4,0	0,1513
15 to 24	16,6	0,1628
25 to 34	17,0	0,1350
35 to 44	18,1	0,1460
45 to 54	15,2	0,1632
55 to 64	11,5	0,1875
65 to 74	8,5	0,2894
75 to 84	14,6	0,1448
85 plus	12	0,1975

Tabla 4. Período medio de contacto en convivientes Mitsuda no reactivos y títulos IgM anti-PGL-I positivos, Medellin, Colombia.

Grupo de edad (años)	Tiempo medio de contacto (años)	Título medio de IgM anti-PGL-I (Absorbancia)
4 to 14	*	*
15 to 24	*	*
25 to 34	*	*
35 to 44	38	0,5620
45 to 54	9	0,8190
55 to 64	14	0,6200
65 to 74	9,8	0,4415
75 to 84	11,5	0,4465
85 plus	10	0,9035

*Sin convivientes con estas características

Se observa que para los convivientes Mitsuda no reactivos la edad media (54,3 años) fue significativamente superior que la de los reactivos (33 años). De la misma manera la diferencia en la edad media de los individuos con títulos positivos de anticuerpos fue significativamente mayor que aquellos con títulos por debajo de la línea de corte. No se encontró asociación significativa de la presencia de cicatriz de BCG con los títulos de IgM anti-PGL-I, ni entre la absorbancia media de los anticuerpos y la reactividad positiva o negativa a la Lepromina A, o entre esta última y el tiempo de contacto conviviente-caso. El tiempo medio de contacto conviviente-caso no fue significativo en relación a la presencia de anticuerpos IgM contra PGL-I.

Dos convivientes mostraron signos de lepra en piel (lesiones hipocrómicas), ambos con tinción ácido-rápida negativa, IB=2,4, títulos positivos de IgM anti-PGL-I, reacción de Mitsuda positiva y presencia de cicatriz de BCG. No se realizó la prueba de PCR en las muestras de estos dos nuevos pacientes, pues dada la tinción positiva se consideró innecesaria. Ambos fueron diagnosticados como con lepra MB y se incluyeron en el programa de tratamiento. La PCR y tinción de Ziehl Neelsen realizada en la secreción nasal y linfa periférica de los demás contactos fue negativa. Los títulos de IgM anti-PGL-I fueron positivos en el 13% de la población estudiada, 59% de ellos fueron Mitsuda reactivos, y se detectó cicatriz de BCG en el 88%.

De esta manera y como se observó en las tablas 1-4 y los demás resultados, los contactos convivientes fueron clasificados en 5 grupos de acuerdo a los resultados de las pruebas: 1) 2 convivientes con lepra MB , 2) 15 convivientes Mitsuda negativos y títulos IgM anti-PGL-I positivos, 3) 13 convivientes Mitsuda positivo y títulos IgM anti-PGL-I positivos, 4) 130 convivientes Mitsuda positivos y títulos IgM anti-PGL-I negativos, 5) 88 convivientes Mitsuda negativos y títulos IgM anti-PGL-I negativos.

Discusión

La búsqueda activa de pacientes con lepra en el departamento de Antioquia, donde la prevalencia ha caído de 1,8 a 0,2 $^{0}/_{000}$ entre 1986 y 2002, es importante para mantener a la lepra entre las enfermedades eliminables como problema de salud pública (3). Los contactos convivientes de pacientes con lepra MB son considerados como los que tienen mayor riesgo de desarrollar lepra clínica. La aplicación de una serie de pruebas de laboratorio simples, descritas en este trabajo, permite una clasificación de riesgo más precisa de dichos contactos.

Se detectaron 2 nuevos pacientes que presentan sólo pequeñas lesiones en la piel. Los pacientes no habían detectado estas lesiones y por lo tanto no habían realizado la consulta médica por ellas. Es importante señalar que esta detección fue precoz, sin ningún daño importante físico o neurológico irreversible. Un segundo grupo de convivientes fue clasificado como grupo de riesgo de desarrollar lepra lepromatosa, con 15 casos infectados (título IgM anti-PGL-I positivo) y respuesta a la Lepromina negativa. Un tercer grupo de 13 convivientes, también infectado (título IgM anti-PGL-I positivo) pero con reacción de Mitsuda positivo, si desarrollan lepra tendrían la forma tuberculoide (4,10). Comparando los títulos séricos de segundo grupo (Absorbancia media 0,5107 DE 0,1353) y del tercer grupo (Absorbancia media 0,78613, DE 0,41407), este último fue significativamente mayor que el anterior. Aunque este resultado parece contradictorio ya que se esperaría que el segundo grupo tenga títulos más semejantes a los de los pacientes, los resultados diferenciales entre ambos grupos muestran que las diferentes respuestas inmunes son importantes en la evolución de la infección. Un cuarto grupo, de 140 convivientes no estuvo infectado, pero la reacción de Mitsuda fue positiva, presentando así una buena respuesta inmune en caso de una infección eventual futura. Por último 88 convivientes fueron negativos en la prueba sérica y para la reacción de Mitsuda, no están infectados, pero probablemente en riesgo de desarrollar lepra lepromatosa ante una infección eventual en el futuro.

En conclusión, en este estudio se detectaron dos pacientes y establecieron aspectos de la respuesta inmune en un grupo de alto riesgo. Los resultados generan cuestionamientos a la aplicación de quimioterapia profiláctica a los contactos convivientes infectados, Mitsuda-negativos. Creemos que las medidas de control a las poblaciones de alto riesgo deben ser reforzadas incluyendo, además del seguimiento clínico, algunas herramientas diagnósticas de laboratorio. Esta últimas, sin ser excluyentes, deberán incluir pruebas directas para detectar la presencia de *M. leprae* (PCR, tinción ácido-rápida) en secreción nasal y fluido linfático periférico, la detección de la respuesta inmune mediante la Lepromina A y pruebas de anticuerpos específicos. La Organización Mundial de la Salud ha indicado como prioridad en la investigación de lepra el desarrollo de tecnología capaz de diagnosticar lepra en su fase subclínica, no sintomática (11). La detección de lepra subclínica junto con un tratamiento precoz y efectivo, contribuirá significativamente a la eliminación global de la enfermedad.

Referencias

1. OPS. Lepra al Día. Boletín Eliminación de la Lepra en las Américas. División de Prevención y Control de Enfermedades Transmisibles OPS 1, 1992: 2.
2. Levy L (editor). Leprosy Research at the New Millennium. A Workshop Sponsored by the International Federation of Anti-Leprosy Associations (ILEP). Lepr Rev 71, 2000: S1-S92.
3. SIVIGILA, web page: www.minsalud.gov.co
4. Pinto R. El control de la lepra en Colombia. Informe quincenal epidemiológico nacional. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Colombia, 30 Mayo 2000.
5. Otthehoff T. Immunology of leprosy: Lessons from and for leprosy. Int J Lepr 62, 1994: 108-121.
6. Instituto Nacional de Salud. El laboratorio en lepra: bacteriología y patología. Manual de procedimientos básicos., Santa Fé de Bogotá DC, 1995.
7. Mora N, Pérez M, Beroliche M. Determinación de anticuerpos anti-glicolípido fenólico I en población general de una área endémica de lepra. Fontilles de Leprología. 6, 1992: 587-589.
8. Job CK, Jayakumar J, Williams DL, Gillis TP. Role of polymerase chain reaction in the diagnosis of early leprosy. Int J Lepr 65, 1997: 461-464.
9. Scollard DM, Gillis TP, Williams DL. Polymerase chain reaction assay for the detection and identification of *Mycobacterium leprae* in patients in the United States. Am J Clin Pathol 109, 1998: 642-646.
10. Colston MJ. The microbiology of *Mycobacterium leprae*, progress in the last 30 years. Trans. Royal Soc Trop Med Hyg. 87, 1993: 504-507.
11. WHO. Report of a Meeting on the future role of leprosy training and/or research institutions, WHO, Addis Adeba, 25-26 February 1998.

Filariasis

Filariasis linfática en Ciudad Olinda: Determinación de niveles de endemicidad y validación de un modelo de intervención para el control

Maria Cynthia Braga, CPqAM/FIOCRUZ Departamento de Parasitología

Artículos originales

Braga C, Dourado MI, Ximenes RA, Alves L, Brayner F, Rocha A, Alexander N. Field evaluation of the whole blood immunochromatographic test for rapid bancroftian filariasis diagnosis in the northeast of Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 45, 2003:125-129.

Braga C, Ximenes RA, Albuquerque M, Souza WV, Miranda J, Brayner F, Alves L, Silva L, Dourado I. Avaliação de indicador sócio-ambiental utilizado no rastreamento de áreas de transmissão de filariose linfática em espaços urbanos Cad Saude Publica 17, 2001: 1211-1218.

Resumen: *Se determinaron los niveles de endemicidad de filariasis en Ciudad Olinda, definiendo estratos urbanos de riesgo según un indicador de transmisión construido a partir de los datos socioeconómicos del censo 1991. Por otra parte se validó la operatividad epidemiológica del método inmuno-cromatográfico de diagnóstico usando anticuerpos monoclonales contra* W. bancrofti *frente al método tradicional de gota gruesa. La prevalencia media de filaremia del 1,3% clasifica a la Ciudad Olinda como un área de baja endemicidad, y la carga parasitaria también resultó baja con un 97,6% de los casos con densidades menores a 100 microfilarias/µl de sangre. En relación a la distribución por región administrativa se verificó una mayor concentración de casos en el Distrito I, especialmente en las áreas pertenecientes a los barrios de Águas Compridas, Alto Nova Olinda, Alto da Conquista, Salgadinho y Sítio Novo. Los resultados contribuyen a priorizar áreas para intervención. En sectores censales clasificados como de bajo riesgo de transmisión ambiental se encontraron casos, por lo que se deben explorar otras variables ambientales y sociales para ajustar el indicador de riesgo. La prueba inmuno-cromatográfica presentó una sensibilidad del 97,7% en condiciones de campo, mostrándose como una herramienta útil para la realización de estudios epidemiológicos en áreas endémicas, pero la especificidad del 72,5% la vuelve inadecuada para su utilización en el diagnóstico y seguimiento de casos individuales. En base a los resultados se proponen medidas de control para Olinda según la estratificación de riesgo.*

Palabras clave: Filariasis, Brasil, indicador riesgo, prevalencia, inmuno-cromatografía, sensibilidad, especificidad.

Introduccion

La filariasis linfática, enfermedad producida por *Wuchereria bancrofti* y transmitida por *Culex quinquefasciatus*, ha experimentado en las últimas décadas un crecimiento focalizado en los suburbios marginales de los países pobres, en la región tropical y subtropical (1). Su impacto en salud pública se debe a las deformidades y discapacidades que produce en las zonas endémicas, especialmente en la fase crónica.

En Brasil, donde las medidas de control eliminaron la enfermedad en muchos de los focos existentes hasta la década de 1950, las ciudades de Recife y Belem son aún áreas de transmisión activa (2).

En Recife las actividades de control de la filariasis bancroftiana comienzan en a mediados del siglo XX ejecutadas por el DENERu y luego por SUCAM, centradas en el combate al agente etiológico mediante identificación y tratamiento de los enfermos (3). Las encuestas periódicas de evaluación indicaron en dicho período una declinación del índice medio de filariasis en la ciudad de 6,9% al 1,5% en 1983 (4). Sin embargo, una encuesta parasitaria realizada en 1989 por el Centro de Investigaciones Aggeu Magalhães en 22 áreas de bajos ingresos de Recife resultó en una microfilaremia de 6,5%, semejante a la descripta por Rachou en la década de 1950 (5). En algunas de dichas áreas el índice superó el 10%, lo que las convierte zonas de alta endemicidad según la clasificación de OMS, expandiendo la parasitosis a otras municipalidades de región metropolitana de Recife como Olinda, Jaboatao y Paulista. Así, diferentes encuestas realizadas en los barrios de Olinda resultaron en prevalencias de microfilaremia del 2 al 13%, mientras estudios entomológicos demostraron altas tasas de infectividad del vector en dicho foco (6). Estos datos implican la necesidad de determinar la dimensión de la endemia para toda la ciudad con el objetivo de diseñar una estrategia efectiva de control, al tiempo que se requiere validar los modelos de intervención.

La intervención enfocada en la identificación y tratamiento del paciente, sin considerar el contexto social de inequidad extrema en que éste se inserta, ha demostrado una efectividad limitada sobre el proceso de transmisión, causando poco o ningún impacto sobre la tendencia expansiva de la endemia. Por ello se intentó una nueva aproximación al problema basado en el modelo de Sistema Unificado de Salud (SUS) (7), que actúa no sólo sobre los aspectos individuales de riesgo sino principalmente sobre la relación entre comportamiento endémico y ocupación del espacio -organizado socialmente- donde la enfermedad ocurre y se reproduce. Se propone así desarrollar medidas de control orientadas por indicadores epidemiológicos y operativos, suficientemente sensibles para detectar en el espacio urbano grupos poblacionales de condiciones sanitarias socioeconómicas heterogéneas entre sí, pero con homogeneidad interna. Este indicador complejo de riesgo de transmisión discrimina poblaciones para la priorización de actividades de intervención, y permite adaptar las mismas a la situación local contribuyendo a su descentralización. Albuquerque y Morais (7) proponen, según el nivel de endemicidad y el riesgo ambiental de transmisión, una gama de acciones que van desde el tratamiento masivo y control integrado del vector al tratamiento selectivo y control situacional del vector.

Este proyecto se propone determinar los niveles de endemicidad de filariasis en Ciudad Olinda y definir estratos urbanos según un indicador de riesgo de transmisión, construido a partir de los datos socioeconómicos del censo demográfico de 1991 (IBGE). Por otra parte se validará la operatividad epidemiológica del método inmuno-cromatográfico de diagnóstico usando anticuerpos monoclonales contra *W. bancrofti* (8,9), que ha demostrado mayor sensibilidad y especificidad que la gota

gruesa, método este último que junto a las dificultades operativas de colectar sangre al atardecer, ha conducido usualmente a la subestimación la prevalencia de filariasis.

Materiales y métodos

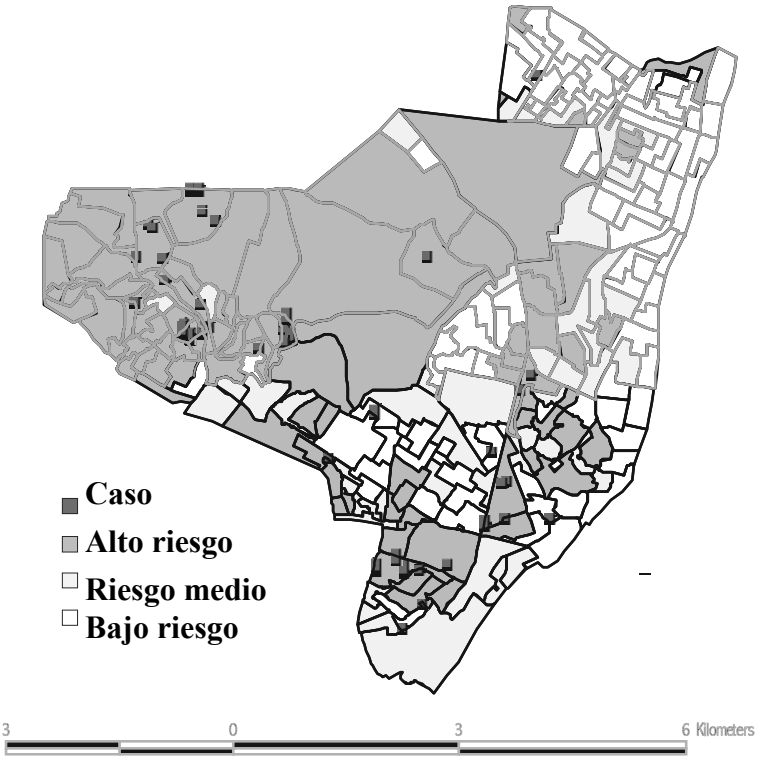
Área y población de estudio - Ciudad Olinda (34° 49´- 34° 54´ 0, 7° 57´- 8° 01´ S), 40 Km², 341.387 habitantes en 1991 distribuidos en 242 áreas censales (10). Clima caliente y húmedo que permite un ciclo continuo y corto de *C. quinquefasciatus*. Las condiciones de drenaje (terrenos planos, manejo de agua pluvial y servida) contribuyen a crear numerosos sitios de cría para el vector que presenta densidades mensuales medias de 20 a 60 *Culex*/habitación/noche. La población de estudio la constituyó una muestra de los residentes con edades entre 5 y 65 años.

Diseño de estudio - Estudio transversal para estimar la prevalencia de filariasis y verificar su distribución en diferentes estratos de riesgo de transmisión ambiental.
Definición de caso - todo individuo con microfilaremia detectable por gota gruesa.
Indicador de Riesgo de Transmisión: Variables (Censo): a) Viviendas sin sistema público de disposición de excretas ni tanque séptico (%), b) viviendas sin disposición adecuada de basura (%),c) habitantes/habitación promedio. A cada una de las tres variables se le adjudicó una puntuación entre su valor mínimo (0) y máximo y luego se calculó el valor $S_i = (F_{OBS\ i} - V_{min\ i}) / (V_{max\ i} - V_{min\ i})$. Unificadas las escalas el Indicador de Riesgo de Transmisión (IRT) se obtuvo mediante $IRT = 100x\Sigma\ Si/n$ donde n corresponde al número de variables seleccionadas. Se realizó así una lista de áreas censales ordenada por IRT creciente y se realizó posteriormente la separación de las áreas censales por estratos, utilizando los quintiles de la distribución de valores como puntos de corte. Los dos primeros quintiles fueron clasificados como estratos de bajo riesgo ambiental de transmisión, el tercero como de riesgo medio, y el cuarto y quinto como de alto riesgo ambiental (Figura 1)
Técnica de muestreo y tamaño de muestra - Muestreo de conglomerados en dos etapas. Tamaño muestral según Kish (11) considerando una prevalencia de 7%, efecto de diseño 1,9 y error estándar 1,5%, obteniendo así un n= 2.112. Para calcular el efecto de diseño, se consideró un valor de grado de homogeneidad intra-sector de 0,3 (12). Asumiendo una pérdida por causas operativas en la toma de muestra del 20% se calculó un número total de 2.535 personas. Basándose en el número estimado de viviendas por sector (300) y la media de residentes de 5-65 años en la ciudad (3,75 personas), en la primera etapa se seleccionaron 80 áreas censales, y en la segunda 10 viviendas por área (aproximadamente 3.000 habitantes). Una submuestra de 550 personas fue seleccionada para participar en la validación de la prueba inmuno-cromatográfica (CARD test).
Selección de la población muestreada - Primera etapa selección sistemática al azar de las 80 áreas censales, con probabilidades proporcionales de acuerdo a tamaño. Segunda etapa selección sistemática de hogares en cada área, calculando la amplitud del intervalo muestral que resultó 30 (I= 300/10), generando una lista de números al azar para cada área con valores entre 1 y 30, contando las viviendas por manzana

comenzando por el punto inicial (definido por IBGE), y seleccionando en el mapeo la primera vivienda del punto inicial. Luego, durante el reconocimiento del área, recorriendo cada manzana en el sentido de las agujas del reloj, se sorteó una cada 30 viviendas identificadas. Cada 5 viviendas registradas se seleccionó una para la validación de la prueba CARD.

Encuesta serológica y parasitológica - Se realizaron entrevistas registrando todos los residentes de 5-65 años. La toma de muestra para el análisis parasitológico se concretó entre mayo y agosto de 1999. Previo consentimiento se recolectaron entre las 21:00 y 01:00 hs, 60 µl por punción de pulpejo. A los residentes seleccionados para validación de prueba CARD se les tomó tres gotas de sangre adicionales. Se realizó una segunda lectura del 20% de las láminas de ambas técnicas para control de calidad

Figura 1. Casos de microfilaremia por estratos de riesgo socio-ambiental. Municipio de Olinda



Análisis de datos - Prevalencia de microfilaremia mediante EPI INFO, versión 6.0. Sensibilidad y especificidad de prueba CARD mediante programa SPSS-PC.

Resultados

Encuesta parasitológica: De las 1.174 casas seleccionadas participaron 1.066 (90,8%), 46 (3,7%) estaban cerradas o no tenían residentes del intervalo etario definido, y 65 (5,5%) se negaron a participar. Se registraron 3.882 personas, entre 5 y 65 años, de las cuales se realizó la colección vespertina de sangre a 3.232 (83,3%), con rechazo en 398 (10%) y ausencia en 252 (6,5%). La prueba fue positiva en 42 personas, resultando una prevalencia media para la ciudad de 1,3%. La densidad de parasitemia en los positivos varió entre 1 y 126 microfilarias/60 µl de sangre, pero el 97,6% presentaron densidades inferiores a 100 microfilarias/60 µl de sangre. La edad medio de los positivos fue de 28,5 años, con un rango de 9-63 años, la relación masculino: femenino fue de 23:20.

Prevalencia por barrio y frecuencia por estrato de riesgo: De los 42 casos de filariasis 36 (85,7%) se situaron en el estrato de alto riesgo de transmisión (Figura 1). En el estrato de riesgo medio de transmisión se examinaron 565 personas, no habiéndose identificado casos. En el primer estrato, de bajo riesgo de transmisión, de las 1001 personas examinadas 6 (0,6%) fueron positivas (Tabla 1). En relación a la distribución espacial considerando la división administrativa de la ciudad la mayor concentración de casos ocurrió en el Distrito Sanitario I dentro de las áreas comprendidas por Águas Compridas, Alta da Conquista y Sítio Novo (Tabla 2).

Tabla 1. Prevalencia de microfilaremia detectable por gota guesa, según y estratos de riesgo socio-ambiental. Municipio de Olinda, 1999

Riesgo	Quintil	Positivos	Examinados	Prevalencia (%)
Bajo	1º	0	388	0
	2º	6	613	1,0
	Subtotal	6	1001	0,6
Medio	3º	0	565	0
	4º	17	865	2,0
	5º	19	801	2,4
Alto	*Subtotal*	36	1666	2,2
	Total	**42**	**3232**	**1,3**

Validación de la prueba inmuno-cromatográfica: Realizaron la prueba CARD y gota gruesa 645 individuos, de los cuales 203 presentaron antigenemia positiva y 38 microfilaremia. La prueba CARD presentó una sensibilidad del 97,7% (IC 95%:80,9-99,1) y una especificidad de 72,5% (IC 95%:68,5-75,8) (Tabla 3). Los valores predictivo positivo fue de 17,7% (IC 95%:12,9-23,8) y el negativo 99,5% (IC 95%:98,2-99,9%) (Tabla 4).

Tabla 2. Casos de filariasis linfática en barrios de Ciudad Olinda, 1999

Barrio			Gota gruesa				
	Sectores	viviendas	residentes	examinados	positivos	%	grado
Águas Compridas	3	48	186	171	10	5,8	D
Aguazinha	1	17	75	67	0	0	A
Alto da Bondade/Passarinho	3	38	131	108	0	0	A
Alto da Conquista	2	26	97	87	8	9,2	D
Alto Sol Nascente	1	14	47	39	0	0	A
Amaro Branco/Carmo	1	20	74	69	0	0	A
Área Rural	3	42	403	122	1	0,8	B
Bairro Novo	2	20	78	62	0	0	A
Bonsucesso	2	18	78	65	0	0	A
Bultrins/Guadalupe/7 RO	4	60	247	204	2	0,9	B
Caixa D´Agua/Cor. Carneiros	4	54	180	141	0	0	A
Casa Caiada	2	26	73	57	0	0	A
Cidade Tabajara	1	15	53	40	0	0	A
Grafoso	1	21	65	53	0	0	A
Ilha do Maruim	1	18	59	54	0	0	A
Jardim Atlântico	5	49	172	114	0	0	A
Jardim Brasil	3	44	159	129	1	0,8	B
Jatobá	2	27	96	77	0	0	A
Ouro Preto	5	68	253	218	1	0,4	B
Peixinhos	8	99	351	306	2	0,6	B
Rio Doce	13	153	550	438	1	0,2	B
Salgadinho	2	20	72	60	2	3,3	C
Sapucaia de Dentro	4	51	194	179	5	2,8	C
Sapucaia de For a	1	21	81	71	0	0	A
Sítio Novo	1	32	109	89	4	4,5	C
Varadouro	3	54	194	179	5	2,8	C
Vila Popular	1	11	39	33	0	0	A
Total	**79**	**1066**	**4116**	**3232**	**42**	**1,3**	

Grado A: 0%, B:>0%- ≤1%, C: 1%- ≤5%, D: >5%- <10%

Tabla 3. Sensibilidad y especificidad de la prueba inmunocromatográfica (CARD), Olinda 1999

	Gota gruesa					
Prueba CARD	**Positivos**		**Negativos**		**Total**	
	Abs.	**%**	**Abs.**	**%**	**Abs.**	**%**
Positivos	36	97,7	167	27,5	203	31,5
Negativos	2	5,3	440	72,5	438	68,5
Total	38	100,0	607	100,0	645	100,0

Tabla 4. Valores predictivos positivos y negativos para la prueba inmunocromatográfica (CARD), Olinda 1999

	Gota gruesa					
Prueba CARD	**Positivos**		**Negativos**		**Total**	
	Abs.	**%**	**Abs.**	**%**	**Abs.**	**%**
Positivos	36	17,7	167	82,3	203	100,0
Negativos	2	0,5	440	99,5	438	100,0
Total	38	5,9	607	94,1	645	100,0

Discusión

La prevalencia media de filaremia del 1,3% clasifica a la Ciudad Olinda como un área de baja endemicidad. La carga parasitaria de positivos es considerada baja, mientras el 97,6% de ellos presentan densidades menores a 100 microfilarias/µl de sangre. En relación a la distribución por región administrativa se verificó una mayor concentración de casos en el Distrito I, especialmente en las áreas pertenecientes a los barrios de Águas Compridas, Alto Nova Olinda, Alto da Conquista, Salgadinho y Sítio Novo. No se identificó filariasis en Aguazinha, Alto da Bondade/Passarinho, Alto Sol Nascente, Amaro Branco/Carmo, Bairro Novo, Bonsucesso, Caixa D´Agua/Córrego dos Carneiros, Casa Caiada, Cidade Tabajara, Fragoso, Ilha do Maruim, Jardim Atlântico, Jatobá, Sapucaia de Fora e Vila Popular, sugiriendo que no existen focos de transmisión o tienen poco peso relativo epidemiológico. Estos resultados contribuyen a priorizar áreas para intervención.

En barrios clasificados como de bajo riesgo de transmisión ambiental (Rio Doce, Ouro Preto, Jardim Brasil y Varadouro (Sitio Histórico)) se encontraron casos. Este resultado sugiere la influencia de otros factores involucrados en el proceso de transmisión además de los utilizados para construir el indicador, por lo cual se hace necesario explorar otras variables ambientales, como la distancia a los sitios de cría, mar o ríos, tipos de suelo, etc. Otro aspecto a ser investigado es la historia de ocupación de la ciudad, ésto explicaría la ausencia de casos en asentamientos recientes (Passarinho, Alto da Bondade), en áreas de alto riesgo contiguas a barrios de alta prevalencia.

Consistente con las investigaciones previas la prueba inmuno-cromatográfica (CARD) (8) presentó una alta sensibilidad cuando se realizó en condiciones de campo, mostrándose como una herramienta muy útil para la realización de estudios epidemiológicos en áreas endémicas. Por otra parte la baja especificidad del método (72,5%) lo hace inadecuado para su utilización en la investigación y seguimiento de casos individuales.

Recomendaciones

1. Definir el Distrito Sanitario I como área prioritaria para el desarrollo de las acciones de control.
2. Aumentar la sangre de gota gruesa a un volumen de 100µl en dos hojas, para aumentarla sensibilidad de la prueba tomando en cuenta la baja carga parasitaria observada
3. Basado en el modelo de intervención propuesto y los niveles de endemicidad se proponen los siguientes pasos de intervención (Tabla 4)

Tabla 4. Recomendaciones sugeridas por Distrito Sanitarios

DISTRITO SANITARIO I	**Pasos de Intervención**
1. Alto riesgo de transmisión y alta endemicidad Águas Compridas y Alto da Conquista	➢ Tratamiento masivo ➢ Control integrado de vector
2. Alto riesgo de transmisión y endemicidad media/baja Peixinhos, Sapucaia de Dentro y Sítio Novo	➢ Búsqueda activa * ➢ Tratamiento selectivo con DEC ➢ Control integrado de vector
3. Riesgo bajo/medio y baja endemicidad	1. Búsqueda pasiva ** **2.** Tratamiento selectivo con DEC 3. Control situacional del vector
4. Alto riesgo sin transmisión identificada Aguazinha, Alto Sol Nascente, Caixa D´Agua, Córrego dos Carneiros, Passarinho y Sapucaia de Fora	➢ Control integrado del vector ➢ Búsqueda pasiva ➢ Tratamiento selectivo con DEC
DISTRITO SANITARIO II	**Pasos de Intervención**
1. Alto riesgo de transmisión y endemicidad media/baja Varadouro (slums of the V8 and V9), Bultrins, Guadalupe/7RO y Area rural	➢ Búsqueda activa * ➢ Tratamiento selectivo con DEC ➢ Control integrado de vector
2. Riesgo bajo/medio y baja endemicidad Varadouro (Sitio Histórico), Ouro Preto, Rio Doce y Salgadinho	4. Búsqueda pasiva ** **5.** Tratamiento selectivo con DEC **6.** Control situacional del vector
3. Alto riesgo sin transmisión identificada	➢ Control integrado del vector ➢ Búsqueda pasiva ➢ Tratamiento selectivo con DEC

* Casa por casa. ** Colección nocturna en puestos de salud locales

Referencias

1. Mott, KE, Desjeux P, Moncayo A, Ranque P, Raadt P. Parasitic diseases and urban development. Bull World Health Organ 68, 1990: 691-698.
2. World Health Organization. Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO. Expert Committee on Filariasis. Geneva: World Health Organization, 1992, 71 pp.
3. Franco ORL, Lima DMS. Alguns aspectos das atividades contra a Filariose Linfática no Brasil. Rev Bras Malariol Doenças Trop 19, 1967: 74-89.

4. Brasil. Ministério da Saúde: Superintendência de Campanha de Saúde Pública. Controle das Endemias em 1983. Brasília: MS, 1983, 153 pp.
5. Maciel A, Rocha A, Marzochi KB, Medeiros Z, Carvalho AB, Regis L, Souza W, Lapa T, Furtado A. Epidemiological study of bancroftian filariasis in Recife, northeatern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 91, 1996: 449-455.
6. Dreyer G, Medeiros Z. Filariose Linfática: ainda um desafio. Ciência Hoje 12, 1990:6-7.
7. Albuquerque MFPM, Morais HMM. Descentralización del control de las endemias: modelo de intervención para combatir la filariasis de Bancroft. Bol Ofic Sanit Panam 121, 1996:75-85.
8. Freedman DO, Almeida A, Miranda J, Plier A, Braga C. Field trial of a card test for filariasis. The Lancet 350, 1997: 1681.
9. Weil GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of Bancroftian Filariasis. Parasitology Today, v. 13, 1997.
10. IBGE. Censo de 1991. Diretoria de Geociências. Inventário de base operacional, 1991.
11. Kish, L. Survey Sampling. New York: John Wiley & Sons, 1965.
12. Rothemberg RB, Lobanov A, Singh KB, Stroh Jr G. Observations on the application of EPI cluster survey methods for estimating disease incidence. Bulletin of the World Health Organization 63, 1985: 93-99.

Evaluación de las coberturas de distribución masiva de ivermectina y adherencia individual y comunitaria al tratamiento en la oncocercosis humana en el Ecuador

Tamara Mancero, Programa Nacional de Oncocercosis. Ministerio de Salud Pública de Ecuador

Resumen: *La oncocercosis humana es endémica en dos provincias del Ecuador. Desde 1990 el país implementó como estrategia de control la distribución masiva de ivermectina con dosis semestrales y anuales de acuerdo a la endemicidad de cada una de las 119 comunidades endémicas. El registro de la distribución de ivermectina se realiza en un formulario impreso, en forma manual, a través de los agentes locales de salud en las visitas a las comunidades. El procesamiento y análisis de los datos se realiza en forma manual para generar indicadores de proceso, a partir de bases de datos en forma de texto para cada individuo de las comunidades endémicas. En 1999 con el apoyo del TDR-OPS se desarrolló un proyecto para crear una base de datos codificada y más tarde con apoyo de la Iniciativa Regional para la Eliminación de la Oncocercosis en las Américas (OEPA-BID) se desarrolló el sistema de información automatizado del Programa Nacional. El objetivo de este estudio fue el de evaluar las coberturas del tratamiento sobre la población elegible y residente del área endémica, además de determinar la adherencia individual y comunitaria al tratamiento, de acuerdo a la periodicidad de distribución para cada comunidad endémica, a partir de nuevas bases de datos codificadas y confiables. Los resultados revelan la diferencia entre los indicadores reportados hasta 1999 en forma manual y la capacidad del nuevo sistema de información para captar en el denominador de los indicadores a la población emigrante que difícilmente podía ser identificada en el sistema manual. Por otro lado se discuten las ventajas de contar con un sistema de información automatizado que esté alimentado desde el nivel local con individuos identificados con códigos preestablecidos, y que permita realizar un procesamiento y análisis confiables, siendo de esta manera un instrumento para la toma de decisiones efectivo y eficiente.*

Palabras clave: Oncocercosis, sistema de información, cobertura de tratamiento, elegibles, adherencia, distribución masiva de ivermectina, Ecuador

Introducción

La Oncocercosis en el Ecuador es endémica en la provincia de Esmeraldas, ubicada al noroeste de la costa ecuatoriana, se puede identificar un foco principal en el cantón Eloy Alfaro, en la cuenca del río Santiago, cuyos afluentes son los ríos Onzole, Santiago y Cayapa y cinco focos satélites en otros cantones de la provincia en los ríos Tululví, Canánde, Viche, Verde y Sucio. Posteriormente en la provincia de Pichincha se identificaron dos localidades endémicas, producto de la migración de personas infectadas provenientes del foco principal.

En la década de los ochenta se circunscribió el foco oncocercótico y en 1990 el Programa Nacional de Oncocercosis en el Ecuador (PNCO-E) implementó como

estrategia de control de la enfermedad la distribución masiva de ivermectina en las 119 comunidades endémicas, en su mayoría habitadas por población amerindia y afroecuatorianos (1). En el primer año de distribución fueron tratados únicamente los pacientes positivos por biopsia y desde 1991 la distribución de ivermectina ha sido masiva aunque asincrónica con rondas anuales y semestrales de acuerdo a la endemicidad de las comunidades (2,3).

La distribución masiva de ivermectina se realiza a través de agentes locales de salud capacitados en visitas semestrales o anuales a cada localidad en donde a través de observación directa distribuyen el tratamiento, actualizan los censos poblacionales y registran la distribución individual de ivermectina, entre otras actividades (2). Desde 1990 en el nivel local, el registro de la distribución de ivermectina se ha realizado sistemáticamente en forma manual en un formato impreso de programa *Excel*, evidenciándose movimientos migratorios altamente significativos por las características culturales, productivas y étnicas de las zonas endémicas.

El ingreso de los datos al medio magnético ha sido realizado en el nivel central en forma de un archivo de texto con datos de cada individuo del área endémica y por localidad durante los 10 años de distribución de ivermectina. Las coberturas de distribución de ivermectina sobre la población elegible desde 1990 han ido aumentando desde 65% hasta sobre 85% en los últimos años (1, 4), sin embargo el procesamiento y análisis de los datos han sido limitados y obtenidos en forma manual por carecer de una base de datos con códigos preestablecidos que permitan obtener los indicadores deseados, por tanto los reportes y condensados anuales de cada comunidad podrían tener un margen de error.

Por otro lado se desconocían los patrones de distribución de ivermectina de cada localidad, ya que la estrategia de distribución masiva de una a dos rondas anuales ha variado en cada año. Hasta el momento no se conocía la adherencia al tratamiento (número de tratamientos recibidos por un mismo individuo sobre el número previsto de rondas que debía recibir cada comunidad de acuerdo a su endemicidad). Es importante relacionar el indicador de adherencia al tratamiento por individuo y comunidad con la cobertura masiva de ivermectina sobre la población elegible y en riesgo, con los indicadores de transmisión, para tener una idea real del impacto de la estrategia en el Ecuador.

Contar con un sistema de información confiable ayudaría al programa a tomar las decisiones con base en los datos, y facilitará el análisis posterior para observar las tendencias y comprobar eliminación de la enfermedad. Con el apoyo del TDR/OPS se desarrolló este proyecto con el fin de rectificar la información de los censos de distribución de ivermectina entre 1990 y 1999, obtener las coberturas reales de forma automatizada y conocer el indicador de adherencia (número de rondas recibidas por individuo sobre el número de rondas que debía recibir cada comunidad) en las 119 comunidades endémicas, más tarde con apoyo de la Iniciativa de la Eliminación de la Oncocercosis en las Américas se complementó el proyecto con el desarrollo del sistema de información del Programa Nacional de Oncocercosis (5).

Materiales y métodos

Para cumplir con los objetivos previstos, se desarrolló un componente cualitativo a través de un cuestionario semi-estructurado aplicado a 41 promotores de salud y auxiliares de enfermería, 1 grupo focal y entrevistas a profundidad realizadas a los agentes locales de salud e informantes clave de las comunidades endémicas. En un taller posterior, con la participación de los agentes locales de salud en las áreas oncocercóticas, se validaron y estandarizaron los conceptos de migración y se revisaron los criterios de elegibilidad al tratamiento con ivermectina. Una vez definidos los conceptos, se construyeron los indicadores y las variables fueron operacionalizadas para crear las bases de datos. Los numeradores y denominadores de los indicadores de cobertura fueron estandarizados de acuerdo a las recomendaciones regionales y nacionales.

Creación de la base de datos - Este proceso se inició con una revisión exhaustiva de identificación de cada individuo (35779 registros) en cada año de distribución de ivermectina, tomando en cuenta los errores de digitación, migración de una persona a otra comunidad, migración de una familia a otra comunidad, migración por trabajo de un individuo a otra comunidad ya sea en forma temporal o definitiva, matrimonio que implicaba que uno de los individuos de la pareja migraba a otra comunidad, formación de nuevos hogares, defunciones, duplicidad de un individuo en más de una comunidad, nombres y apellidos incorrectos, etc. Esta información almacenada en los archivos del programa, como datos tipo texto en un disco duro e impresos desde el año 90 hasta el 99, fue codificada como registros en campos numéricos. Los campos referentes a datos como edad, peso y dosis individual fueron unificados en códigos específicos. Los archivos de cada año por comunidad y persona fueron unificados con el siguiente año y cada individuo fue buscado de acuerdo a la localidad donde había migrado para lograr un sólo archivo con la historia de cada individuo por cada comunidad a lo largo de diez años de distribución de ivermectina. Esta información fue verificada y sometida a una limpieza de la base de datos en *Excel*, *Access* y verificada en *Epi-info* por segunda ocasión de acuerdo a un código individual para cada habitante de la zona endémica. Se obtuvo una tabla madre en *Excel* que fue subdividida y exportada al programa *Epi-info* versión 6.04b en tres bases relacionadas de datos independientes debido a su gran extensión y la imposibilidad de trabajar con la misma en el programa.

La primera base de datos (ONCOCOM.REC) contenía las siguientes variables: provincia, cantón, río o estero, tipo de comunidad por endemicidad, número de rondas de distribución anual de ivermectina, total de rondas que cada comunidad recibió, si pertenecen o no a las comunidades centinelas, intervención que la comunidad ha recibido y responsable.

La segunda base de datos (TOTALDIS.REC) contenía las siguientes variables: código de comunidad, código de persona, dosis que recibió en la primera ronda desde 1990 hasta 1999, código de elegibilidad desde 1990 hasta 1999.

Finalmente una base de datos con la información de las personas (TOTALPER.REC) que contenía las siguientes variables: código de comunidad, código de la persona, nombre, sexo, etnia, edad que tenía el individuo al momento de ser censado por primera vez en la comunidad, peso que tenía la persona en el primer censo, año en que la persona fue censada por primera vez y año en que la persona tomó su primera dosis de ivermectina.

Procesamiento y análisis

Definición del patrón de distribución: se entiende por patrón de distribución al número de rondas por año y secuencia en el tiempo de distribución que obtuvo cada localidad hasta 1999. Se identificaron 24 patrones de distribución según el año de la primera dosis entregada en la comunidad y el número de dosis recibidas en cada comunidad por año. Esta nueva variable patrón de comunidad fue incluida en la base de datos.

En el programa ANALISIS, se recuperó el archivo TOTPER.REC para calcular el número de dosis que cada persona debía recibir según el patrón de distribución de la comunidad donde reside y por año de primera dosis, a partir de una nueva variable denominada DOSPER y se creó una segunda variable nueva denominada ADTOT99 para conocer el número de dosis que cada persona había recibido durante la cohorte.

En el programa EPED se diseñaron varios programas de procesamiento donde constaban los 24 patrones de distribución para obtener la suma total de las dosis recibidas hasta 1999. A partir de esta información se calculó el porcentaje de adherencia de la siguiente manera: Número total de dosis recibidas por individuo hasta 1999 sobre el número de dosis que cada persona debía recibir según el patrón de la comunidad multiplicado por cien. Posteriormente se calcularon los promedios de adherencia por comunidad y por foco endémico en cortes al año 92 y 96.

Finalmente se obtuvieron las tablas de salida que fueron grabadas en un archivo de texto (ADHTOTAL.INF) para que puedan ser fácilmente recuperadas y editadas en *Microsoft Word*. Las tablas de salida de la adherencia al tratamiento fueron agrupadas en tablas de resumen donde consta el porcentaje promedio de adherencia al tratamiento por río/estero y por comunidad.

Resultados

Los conceptos validados con los agentes locales de salud y el personal profesional del programa, a través del comprobante cualitativo y las recomendaciones regionales se pueden ver en la tabla 1.

Tabla 1. Criterios de Elegibilidad y No elegibilidad

Elegibles	No Elegibles
• Niños mayores de 15 kilos • Madres con niños lactantes mayores de 8 días • No embarazadas • Ausentes temporales: personas que al momento de la distribución están trabajando en el campo por algunos días, pero viven en la comunidad • Renuentes • Migrante interno: persona que cambió su residencia a cualquier comunidad del área endémica, por trabajo, matrimonio, etc. • Estudiante interno: persona que migró a cualquier comunidad del área endémica para estudiar.	• Mujeres embarazadas • Madres con lactantes menores de 8 días • Menores de 15 kilos • Enfermos graves crónicos o agudos • Visitantes: están de visita por pocos días, no residen en la comunidad y coinciden con la distribución. • Emigrantes y estudiantes externos: personas que han migrado a cualquier sitio fuera del área endémica por trabajo o estudio. • Fallecidos • Destino desconocido

Con las nuevas bases de datos verificadas con estos conceptos y con los respectivos programas realizados en *Epi info* 6.04b se aplicaron los indicadores regionales de cobertura sobre población elegible y en riesgo, para monitorear la distribución masiva de ivermectina como estrategia de control usada en oncocercosis. Desde 1990 hasta 1999 las coberturas alcanzadas se pueden ver en la tabla 2.

Tabla 2. Cobertura de distribución masiva de ivermectina sobre la población elegible del foco principal y focos satélites, 1990-1999. Ecuador

	1990	**1991**	**1991**	**1992**	**1992**	**1993**	**1993**	**1994**
Santiago	*	83,50	72,20	82,00	87,60	82,90	-	82,90
Cayapas		71,16	-	69,06	49,92	75,99	75,39	79,81
Onzole		76,60	-	66,96	-	82,05	-	80,41
Satélites	*	78,47	40,30	53,85	62,22	80,74	82,95	79,83
TOTAL	*	77,43	56,11	67,96	66,58	80,42	79,17	80,73
	1994	**1995**	**1996**	**1997**	**1998**	**1999**	**1999**	**Promedio**
Santiago	-	75,80	80,00	81,60	-	86,70	-	82,28
Cayapas	61,92	79,58	83,96	82,61	89,37	90,26	94,25	79,06
Onzole	88,15	77,72	80,83	85,91	-	80,32	-	79,44
Satélites	97,10	86,66	94,61	89,35	-	89,87	-	80,10
Total	89,05	79,94	84,85	84,86	89,37	86,78	94,30	80,20

* Tratados solo pacientes positivos. Fuente: Nuevo sistema de información PNCO-E

El concepto de residentes en términos del sistema de información es la población en riesgo o población total del área endémica: los elegibles más los no elegibles residentes. La cobertura de distribución de ivermectina sobre la población total se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3. Cobertura de distribución de ivermectina sobre la población total del foco principal y satélites, 1990-1999. Ecuador

	1990	1991	1991	1992	1992	1993	1993	1994
Cob. Santiago	84,8	99,5	62,5	70,7	76,4	68,6	-	72,5
Cob. Cayapas	-	56,1	-	54,8	37,4	64,2	59,1	67,5
Onzole	-	34,9	-	54,7	-	67,6	-	68,6
Satélites	68,1	63,1	37,2	37,6	54,9	66,2	66,5	51,6
Promedio*	**76,43**	**63,4**	**49,9**	**54,5**	**56,2**	**66,7**	**62,8**	**65,1**
Cob. total **	**79,4**	**62,6**	**49,3**	**60,4**	**52,4**	**66,7**	**63**	**66,8**
	1994	**1995**	**1996**	**1997**	**1998**	**1998**	**1999**	**1999**
Cob. Santiago	-	67,3	69,1	68,9	72,0	-	79,6	-
Cob. Cayapas	65,5	70,3	73,6	71,9	71,3	74,8	80,1	81,8
Onzole	72,1	72,3	72,3	76,5	73,2	-	76,5	-
Satélites	16,9	81,2	77,4	77,4	77,6	-	79,1	-
Promedio*	**51,5**	**74,0**	**73,7**	**73,7**	**73,5**	**74,8**	**78,8**	**81,8**
Cob. Total **	**52,2**	**73,8**	**73,0**	**73,0**	**73,2**	**74,8**	**79,1**	**81,8**

* Promedio: promedio coberturas obtenidas por foco, suma todos porcentajes sobre número de focos.
** Cobertura total: suma todas las personas que recibieron ivermectina en el grupo de residentes sobre total de residentes x 100.
Fuente: Nuevo sistema de información PNCO-E

El patrón de distribución de ivermectina por comunidad está en relación al año de la primera distribución de cada comunidad y al número de rondas recibidas en la comunidad hasta 1999, de hecho este concepto podría hacernos pensar que deberían existir sólo 14 patrones de distribución en la medida en que algunas comunidades han recibido en forma sistemática año a año la ivermectina a partir de 1991, pero es importante mencionar que si bien el año de inicio puede coincidir en algunas comunidades, el número de dosis varía. Es por esta razón que se identificaron 24 patrones de distribución (tabla 4), lo que implicó diferentes cantidad de rondas recibidas por persona (tabla 5).

Tabla 4. Patrones de distribución por comunidad categorizados según año de la primera distribución (Inicio) y rondas realizadas hasta 1999 (Rondas). Ecuador

Patrón Nº	Inicio	Rondas	Patrón Nº	Inicio	Rondas
1	1990	9	**13**	1991	13
2	1990	10	**14**	1993	6
3	1990	11	**15**	1991	14
4	1990	12	**16**	1992	8
5	1991	8	**17**	1992	12
6	1991	9	**18**	1993	7
7	1991	10	**19**	1993	8
8	1992	9	**20**	1994	6
9	1991	11	**21**	1995	7
10	1992	9	**22**	1996	4
11	1991	12	**23**	1996	6
12	1993	9	**24**	1996	5

Fuente: Nuevo sistema de información del PNCO-E

Tabla 5. Número de rondas recibidas por número de individuos en las comunidades endémicas

Rondas	Individuos	Porcentaje
4	1237	3,8
5	269	0,8
6	1456	4,4
7	3118	9,5
8	2087	6,4
9	15167	46,3
10	2022	6,2
11	3178	9,7
12	2497	7,6
13	350	1,1
14	1367	4,2
Total	**32750**	**100**

Fuente: Nuevo Sistema de Información PNCO-E

El promedio de adherencia al tratamiento fue de 36,5% (0%-93%), con una mediana de 25% y una moda del 10%, distribuidos según se presenta en la tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje promedio de adherencia al tratamiento por río y año de distribución. Ecuador.

Foco principal	**1992**	**1996**	**2000**
Santiago	18,17	33,47	34,18
Cayapas	29,01	30,52	39,02
Onzole	12,09	32,00	34,00
Focos satelites	**1992**	**1996**	**2000**
Canande	34,16	38,84	43,10
Santo domingo	-	10,00	21,10
Sucio	27,09	29,25	36,00
Tululvi	-	25,18	39,80
Verde	-	27,00	37,00
Viche	28,07	28,89	40,00
Total	**22,03**	**26,52**	**36,02**

Fuente: Nuevo sistema de información PNCO-E

Discusión

El Programa Nacional de Oncocercosis de Ecuador hasta 1999 no había realizado ninguna verificación sobre la calidad de datos recolectados. Estandarizar los conceptos de las variables que son registradas en el nivel local, sus vacíos conceptuales y fortalezas, sirvió para conocer el criterio sobre ausentismo, migración, movilidad y permanencia en una comunidad que manejan los agentes locales de salud de acuerdo a su familiaridad, motivación, conocimiento, compromiso, etc. Esta

estandarización de criterios contribuyó para generar las normas que serán utilizadas en los años venideros.

El uso de los indicadores de proceso como son los de cobertura anual alcanzada sobre la población elegible y residente, sirve para monitorear el impacto de la distribución masiva de ivermectina, como medida de control utilizada en la oncocercosis. Sin embargo, con un inadecuado sistema de información sobre la interrupción de transmisión o el manejo operacional del programa, los resultados no pueden ser verificados. La rectificación de los errores en la recolección de datos, ajuste de numeradores y denominadores en forma automatizada sirve para evaluar la estrategia con indicadores homogéneos y poder comparar las coberturas en el tiempo.

Los informes del PNCO-E desde 1990 fueron realizados en forma manual encontrándose una notable diferencia con los datos obtenidos a partir de las bases de datos rectificadas y procesadas en el programa *Epi-Info* en forma automatizada como se puede observar en la tabla 7.

Tabla 7. Comparación de datos según fuente de información

	Mectizan	**Comité**	**OEPA**		**Nuevo Sistema**	
Año	*Población Total*	*Cobertura Elegibles %*	*Población Total*	*Cobertura elegibles*	*Población total*	*Cobertura eligibles*
1990	14140	94,6	**	**	565	*
1991	15901	99,4	**	**	10213	66,7
1992	20089	93,6	**	**	13498	67,2
1993	22995	**	18295	84,9	16472	79,7
1994	21874	**		90,5	15416	84,8
1995	23145	**	17524	85,2	17349	79,9
1996	23145	94,1	19161	97,0	19844	84,8
1997	19749	96,5	19480	96,0	20785	84,8
1998	21873	90,8	21873	90,8	23259	86,3
1999	21347	92,7	21347	92,7	21147	90,5

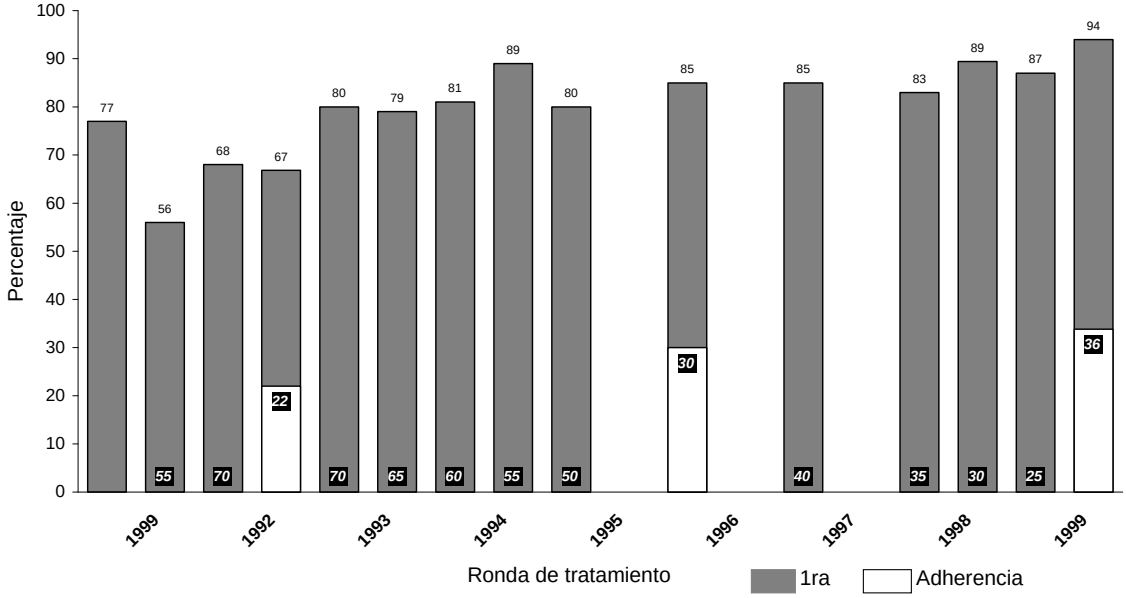
*Tratados solo pacientes positivos ** Sin dato *Fuente:* Archivos PNCO-E (2-3-4)

La diferencia básicamente se debe al control de calidad realizada y a la capacidad del sistema de información automatizado para captar en los denominadores a los emigrantes internos y estudiantes internos, dentro de la misma área endémica, que difícilmente podían ser ubicados por los agentes locales de salud y el personal responsable del procesamiento de los datos en forma manual.

La ivermectina, medicamento eficaz, seguro, de fácil administración y donado en forma gratuita a todos los países endémicos en el mundo, ha sido la única estrategia de control para las Américas(2,3,4,6). En Ecuador en 1999 se cumplió el noveno año de distribución masiva de ivermectina a las comunidades endémicas y las coberturas de distribución han ido aumentando desde 65% en algunas comunidades (80% promedio) en 1991, hasta más del 85% en los últimos años (1,2), sin embargo desconocíamos el promedio real de la población que ha recibido un mismo número de rondas de tratamiento, en vista de que las coberturas han sido obtenidas para cada comunidad y no para un nivel individual. El promedio de personas que tomaron todas las rondas de tratamiento administradas a cada comunidad es de 36,5% mientras que

la cobertura sobre elegibles fue de 80,2% hasta 1999 (figura 1). No existe en la literatura un reporte individual y comunitario de este indicador por la dificultad de obtenerlo ya que es necesario contar con registros exactos por cada individuo a lo largo de cada año de distribución de tratamiento por cada localidad endémica. La baja adherencia individual y por tanto comunitaria a la estrategia en comparación con la cobertura sobre los elegibles puede deberse principalmente a: a) Migración de los habitantes dentro y fuera de la zona endémica por factores culturales, productivos y de supervivencia. b) No elegibles temporales como son las embarazadas, enfermos graves al momento del tratamiento, niños desnutridos, madres que están dando de lactar, ausentes temporales y renuentes. c) Imposibilidad de identificar a los individuos en los censos de distribución de ivermectina cada año en una posible nueva residencia.

Figura 1. Cobertura de tratamiento de Ivermectina sobre la población elegible por ronda de distribución y análisis de punto de la adherencia. Ecuador, 1991-1999



En conclusión el desarrollo del sistema de información del Programa Nacional de Oncocercosis ha servido al equipo de trabajo para generar análisis, reflexiones y re-direccionar algunas actividades específicas basadas en la información. El PNCO-E maneja censos actualizados semestral y anualmente dependiendo de la periodicidad de la distribución del medicamento. Contar con un sistema de información automatizado que permita identificar a cada individuo dentro de toda el área endémica, no solamente genera un cambio inmediato en los numeradores y denominadores para el cálculo de coberturas sino que, permitiría retroalimentar a cada agente local de salud en las comunidades con datos exactos sobre la población censada, la verdadera población residente, la migración efectuada en su localidad, el ausentismo, la no elegibilidad temporal para el tratamiento, etc. Con el manejo manual de los datos, el análisis estuvo limitado a la generación de informes para el

nivel nacional, con el nuevo sistema de información, el monitoreo anteriormente comunitario puede alcanzar el nivel de familia e individuo.

Las bases de datos actuales servirán de base para implementar un sistema de información geográfico que permita visualizar a través de mapas temáticos diferentes aspectos de interés para la gerencia del programa y el nivel operativo, específicamente ubicar las zonas de baja adherencia, alta migración y definir nuevas estrategias de intervención. Las bases de datos del sistema de información, podrían servir para análisis más complejos en el ejercicio de pre-certificación de eliminación de la enfermedad para observar tendencias e incluso ser introducidos en los modelos matemáticos disponibles para oncocercosis con las variables entomológicas, oftalmológicas y parasitológicas. El análisis de los patrones migratorios a través del nuevo sistema de información permitirá mejorar la vigilancia epidemiológica de la enfermedad, focalizando las zonas de riesgo de acuerdo a la población emigrante hacia las áreas donde existe el vector y ubicar en las grandes ciudades a los habitantes provenientes de los focos endémicos. El contar con una base de datos que identifica a cada individuo en tiempo y espacio, permitirá al área de salud utilizar esta valiosa herramienta para la programación y monitoreo de las otras actividades de Atención Primaria en Salud de las zonas oncocercóticas.

Referencias

1. MSP, Ministerio de Salud Pública. Oncocercosis en el Ecuador. Boletín epidemiológico. Serie informe Nº 1. 1: 20 (1995).
2 . Programa Nacional de Oncocercosis. Informe Anual presentado a OEPA. 1992-1999, Quito – Ecuador.
3 . Programa Nacional de Oncocercosis. Reporte Anual presentado al Comité de Mestizan. 1991-1999. Quito – Ecuador.
4 . Blanks, J et al. The Onchocerciasis Programme for the Americas: a history of partnership. Panamerican Public Health 3, 1998: 367-374.
5 . Ortiz, P. Informe Final de la Consultoría para "Sistema de Información para el Programa Nacional de Oncocercosis". Financiado por OEPA/BID 2000. Quito – Ecuador.
6. Guderian RH, Espinel M, Mancero T, Rivadeneira G, Proaño R, Calvopina M, Vieira JC, Cooper PJ. Successfull control of onchocerciasis with community-based ivermectin distribution in the Rio Santiago focus in Ecuador. Tropical Medicine and International Health 2 1997: 982-988.

La expansión de la filariasis en la región metropolitana de Recife, Brasil

Zulma Medeiros, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Universidade de Pernambuco;
Colaboradores:
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ: Conceição Oliveira, Edna Barbosa, Ana Maria Aguiar-Santos, Cristine Bonfim, Ayla Gomes Alves, Marlene Eunice do Espírito Santo, Maria José Evangelista Netto;
Universidade de Pernambuco: José Anchieta Brito;·
Fundação Nacional de Saúde: João Quaresma, José Pereira Costa;
Secretaria de Saúde do Município de Moreno: Jurandir Almeida
Universidade Federal de Pernambuco: Fabio Lessa;
Secretaria de Saúde do Município de Moreno: Ladjane Borba, Zailde Santos

Artículo original municipio Moreno: Medeiros Z, Oloveira C, Quaresma J. A filariose bancroftiana no município de Moreno - Pernambuco, Brasil. *Rev bras epidemiol* 7, 2004: 73-79. Accesible es http://www.scielo.br/rbepid

Resumen: *En Brasil se estima que 49000 personas están infectadas por* Wuchereria bancrofti*, residiendo en dos áreas consideradas endémicas: Maceió -AL y la Región Metropolitana de Recife (RMR)- PE , esta última con la mayor casuística del país. Este estudio tuvo como objetivo identificar los límites de áreas con y sin transmisión activa en Pernambuco. Para ello se realizó un estudio transversal en los Municipios de Moreno y Cabo de Santo Agostinho, en la RMR. El relevamiento epidemiológico fue realizado con entrevistas utilizando cuestionarios con información relacionada a filariasis y búsqueda parasitológica. Entre los 10163 exámenes realizados se detectaron 8 casos (6 hombres/2 mujeres), 2 de Moreno provenientes de Recife (Casa Amarela, Bongi) y el resto de Cabo de Santo Agostinho, uno caso autóctono de Pontezinha y los otros provenientes de Recife (Casa Amarela) y Jaboatão dos Guararapes (Prazeres), 174 individuos (1,7%) refirieron manifestaciones clínicas relacionadas a filariasis, y 74 (0,7%) afirmaron haber tomado dietilcarbamazina. La importancia de este trabajo reside en señalar el desconocimiento de la extensión de la endemia en la RMR, sugiriendo que existe transmisión de filariosis en el distrito Ponte dos Carvalhos y Pontezinha, municipio Cabo de Santo Agostinho y constatando que el municipio de Moreno presenta componentes para mantener el ciclo parasitario. Por ello se deberán establecer actividades de control, y una vigilancia epidemiológica focalizada en identificar las áreas de mayor riesgo para la transmisión. Asimismo se deberán diseñar estrategias para eliminar la filariasis autóctona en los sitios donde se haya instalado, y evitar su instalación una vez que se delimiten las áreas endémicas.*

Palabras clave: Filariasis linfática, vigilancia epidemiológica**,** *Wuchereria bancrofti*, microfilaria, Brasil.

Introducción

La filariasis linfática se ha expandido como consecuencia del crecimiento urbano descontrolado y la falta de planeamiento adecuado en los proyectos urbanos, asociado a la degradación de las condiciones sanitarias en las que vive la mayor parte de la población de las áreas endémicas. Esos factores han contribuido a aumentar el número de criaderos del vector favoreciendo la transmisión local. La Fuerza de Tareas Internacional para la Erradicación de Enfermedades, dadas las nuevas estrategias de control, incluyó en 1993 a la filariasis linfática como una de las seis enfermedades infecciosas consideradas erradicables o potencialmente erradicables (1). En consecuencia el *Conselho Nacional de Saúde do Brasil* homologó en 1996 el inicio del Programa Nacional de Eliminación de la Filariasis Linfática (2).

Actualmente la filariasis linfática en Brasil es considerada endémica en la ciudad de Maceió (Alagoas) y en la Región Metropolitana de Recife-RMR (Pernambuco) (2), y se estima para todo el país 49.000 personas infectadas con *Wuchereria bancrofti* y 3.000.000 de personas viviendo en áreas de riesgo. El primer relevamiento epidemiológico nacional fue realizado en la década de 1950 en 538 localidades, aunque en apenas 11 localidades se comprobó la transmisión activa (3). En Pernambuco la filariasis linfática fue identificada, inicialmente en la ciudad de Recife en el año 1952 (4). En el período 1954-1955 Rachou y colaboradores (3) realizaron una encuesta epidemiológica en dicha ciudad, identificando una tasa media de prevalencia de 6,9% (0,8% - 13,1%) y a *Culex quinquefasciatus* como el vector local, y confirmando así a la filariasis como un problema de salud pública grave para Recife (5). En el año 1959 un estudio en algunos municipios de Pernambuco (Goiana, Igarassu, Paulista, Cabo de Santo Agostinho, Ipojuca, Serinhaém, Rio Formoso, Barreiros e Jaboatão dos Guararapes), presentó en la mayoría un índice de microfilaremia inferior al 1%, específicamente en Cabo de Santo Agostinho resultaron positivos 3/2829 individuos examinados (tasa prevalencia 0,11%), concluyendo que no eran áreas en riesgo epidemiológico (6). Sin embargo había registro en la década de 1980 de uso de dietilcarbamazina por residentes de los municipios circunvecinos a Recife, lo que generaba dudas acerca de los datos oficiales (7).

En la década de 1990 una encuesta verificó que los municipios de Olinda y Jaboatão dos Guararapes con casos autóctonos presentaban índices de infectividad de *C. quinquefasciatus* en torno a 1,2%, mayores que Recife, mientras la transmisión permanecía activa y en proceso de expansión para los otros municipios de la RMR (8). Por otra parte, entre 27.773 militares del Ejército Brasileño residentes en el RMR se observaron casos autóctonos provenientes de 7 municipios, tres reconocidos como endémicos Jaboatão dos Guararapes, Recife y Olinda y cuatro donde no había registros anteriores de infección, Abreu e Lima, Camaragibe, Cabo de Santo Agostinho, y Paulista (9).

Los resultados precedentes indican un desconocimiento sobre la extensión de la endemia en Pernambuco. En el presente estudio se propuso el relevamiento epidemiológico de los Municipios de Moreno y Cabo de San Agostinho para

determinar la prevalencia y densidad de infección por filaria, así como verificar la ocurrencia de transmisión activa, a fin de comprender diferencias intraurbanas que expresen la diversidad de riesgo de enfermar, identificando a su vez nuevas áreas de la RMR con transmisión. De esta manera se espera contribuir al planeamiento de las acciones de control, mediante una mayor precisión en la elección de las acciones necesarias según la localidad y su focalización, disminuyendo a su vez los procesos generadores de inequidad.

Materiales y métodos

Área de estudio - El municipio de Moreno está situado en la RMR, en la *zona de mata*, posee una población de 40.334 habitantes, con una densidad de 4,54 habitantes/vivienda. El 78,10% de los domicilios tiene provisión de agua desde red genera y 5% dispone de red cloacal. Se trabajó en 17 áreas urbanas (Barrios: Alto da Liberdade, Alto da Maternidade, Alto Novo Horizonte, Beira Rio, Bela Vista, Centro, Inabi, Loteamento João Paulo II, Loteamento Nossa Senhora da Conceição, Loteamento Nossa Senhora das Graças, Mangueira, Mucuim, Nossa Senhora de Fátima, Pedreiras, Santo Antônio, Tambota e Xingu), 9 áreas rurales (ingenios: Contra Açude, Cumaru, Dois Irmãos, Gurjaú de Baixo, Jaboatãozinho, Massaranduba, Pinto, Porcinho e Timbó) y 1 distrito (Bonança). El municipio de Cabo de Santo Agostinho, al sur de la RMR, tiene 149.000 habitantes con una densidad de 312,1 habitantes/km^2. La población urbana es de 23.722 domicilios con una tasa media de 4,62 habitantes/vivienda, ocupando 84,6% del área municipal. En la ciudad 65,9% residen en áreas con agua por tubería y 14,7% disponen de red cloacal. Se trabajó en los barrios del área urbana (Bela Vista, Centro, Charneca, Charnequinha, Cohab, Cruzeiro, Malaquias, Pista Preta, Rosário, Santo Inácio, São Francisco, Sapucaia, Torrinha, Vila Roca e Vila Social C.M.), área rural (Usina Liberdade, Usina Mercês, Usina Bom Jesus e Ingenio Trapiche) y distritos (Jussaral, Gaibu, Ponte dos Carvalhos e Pontezinha) (Figura 1)

Figura 1. Mapa de Região Metropolitana de Recife

Tamaño y selección de muestra - Se realizó un estudio transversal de base poblacional. La muestra se calculó para cada municipio estimando un prevalencia de 1% con un error aceptable de 0,05 para cada intervalo de confianza del 95%, sin limitaciones de inclusión acerca de sexo, edad, manifestaciones clínicas y tiempo de

residencia en el municipio. En el municipio de Moreno con un universo de 12.133 domicilios el tamaño muestral calculado fue de 369 domicilios, en Cabo de Santo Agostinho con 31.000 domicilios, el tamaño de muestra resultó de 1.209 domicilios. De los sectores censales (SC) del municipio de Moreno fueron analizados 22 (73%) y 70 (60%) del Cabo de Santo Agostinho, incluyendo todos los urbanos dada la distribución urbana de la filariasis (10) y una muestra de SC rurales (usinas e ingenios) seleccionados por técnica aleatoria simple. Aunque hacían falta registrar 18 domicilios por SC se lo realizó en 22 en Moreno y 20 en Cabo de Santo Agotinho ante eventuales rechazos. Para la selección de los domicilios cada SC se dividió en cuadrantes y se seleccionaron el punto medio de los cuadrantes opuestos en diagonal (2º y 3º) donde se trabajaron dos *logradouros* con 11 (Moreno)/10 (Cabo de Santo Agostinho) domicilios en cada uno (22/20 por SC).

Registro y encuesta- A todos los participantes se les realizó una encuesta estructurada con los datos de identificación personal y los relacionados a filariasis (tratamientos previos y refirieron manifestaciones clínicas - signos/síntomas - sospechosos) y se tomó la muestra para la gota gruesa. *Muestra biológica* - La microfilaremia se determinó a partir de 50 µl (3 gotas) de sangre capilar periférica (23:00-1:00 hs) (11), en gota gruesa coloreada con Eosina-Giemsa, identificando en los casos positivos la especie de filaria (12) y cuantificando la microfilaremia por filtración en membrana de policarbonato (poro 3µm) de 1 ml de sangre venosa con anticoagulante (13). A los individuos convivientes del caso positivo se les extrajo 10 ml de sangre para buscar microfilaremia por filtración. Se realizó control de calidad con lectura duplicada del 100% de las gota gruesa positivas y 20% de las negativas.

Análisis de datos - Los datos obtenidos en el estudio fueron procesados y analizados mediante el programa *EpiInfo*, versión 6.04b.

Aspectos éticos - Los individuos seleccionados fueron contactados y se les explicaron los objetivos del estudio, luego del acuerdo verbal y para la encuesta para filariasis y colección de sangre, se realizó el consentimiento informado escrito (14). En el caso de menores de edad el consentimiento fue dado por los padres o responsables. Cada individuo o progenitor recibió el resultado del examen de gota gruesa, y los informes fueron enviados al Ministerio de salud y a las Secretarías de Salud de los Municipios de Moreno y Cabo de Santo Agostinho. Todos los individuos positivos para microfilaria fueron tratados según la posología recomendada por el TDR/OMS con dietilcarbamazina, en una dosis de 6 mg/kg/día por 12 días (12). Los familiares de individuos microfilarémicos fueron orientados sobre la importancia de la higiene personal y el uso de medidas profilácticas: uso de mosquitero, examen cada 6 meses, búsqueda de atención inmediata ante la aparición de síntomas o signos. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de Investigaciones del *Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães* de la *Fundação Oswaldo Cruz*, siendo considerado consistente con el código de ética, resolución CNS 196/96.

Resultados

Municipio Moreno

Se visitaron 532 domicilios, registrando 2.922 individuos. La edad media fue de 28 años (rango 1-94) y la mayor casuística fue en los individuos del grupo etario de 10-19 años, seguido por el de 1-9 y 20-29 respectivamente.

Se tomaron 2.513 muestras de sangre (rechazo 10,2%, ausentes 3,8%), 1.291 mujeres y 1.222 hombres, sin diferencias en la distribución por sexo entre las áreas urbanas, rurales y distritos municipales. Los exámenes de gota gruesa presentaron 2 resultados positivos, siendo los demás negativos. Los resultados positivos fueron: 1) paciente femenino, 17 años, residente del barrio de Alto da Liberdade los 5 años previos, proveniente de Casa Amerela-Recife, 192 mf/ml (microfilarias/ml) en sangre venosa, 7 familiares sin microfilarias y asintomáticos. 2) caso masculino, 06 años, residente del Distrito de Bonança por dos años proveniente de Bongi-Recife, 270 mf/ml, vinculado a dos familias una en el mismo municipio con 17 individuos y la otra con 3 personas del barrio de Bongi - Recife, la filtración de 10 ml de sangre de las familias detectó otro caso de infección filarial en la del Barrio de Bongi. Los casos y los familiares no refirieron manifestaciones clínicas.

En cuanto a signos/síntomas clínicos característicos entre los 2.513 examinados, 65 refirieron manifestaciones (1 con elefantiasis, 15 refirieron hidrocele, 6 relataron varicocele y 43 referieron erisipela) se muestran en la tabla 1. Por otra parte 24/2513 afirmaron haber realizado un tratamiento anterior (χ^2=3182,21, p<0,05) siendo 4 autóctonos del municipio, y dos de ellos con tratamiento debido a quejas clínicas (erisipela e hidrocele).

Tabla 1. Población examinada para filariasis bancroftiana según referencia de manifestaciones clínicas en áreas del Municipio de Moreno, Estado de Pernambuco, Brasil

Refirieron manifestaciones clínicas	**Sexo**				
	Femenino		**Masculino**		**Total**
	Autóctono^{+}	*Alóctono*$^{++}$	*Autóctono*$^{+}$	*Alóctono*$^{++}$	
Elefantiasis	-	01	-	-	**01**
Hidrocele	NA	NA	03	12	**15**
Orina lechosa	-	-	-	-	**-**
Varicocele	NA	NA	-	06	**06**
Erisipela	01	26	03	13	**43**
Total	**01**	**27**	**06**	**31**	**65**

Caso necesario: Autóctono^{+} - Individuo residente desde el nacimiento en el barrio/localidad del municipio.
Alóctono^{++}- Individuo residente en el barrio/localidad del municipio durante la minoridad de edad

Cabo de Santo Agostinho

Fueron examinados y tomada la muestra de sangre a 7.650 individuos de ambos sexos en 1.416 domicilios. De ellos 7.644 resultaron negativos para filariasis y 6 casos con microfilarias, uno caso autóctono de Pontezinha, tasa de prevalencia 0,08%

(IC 0,0288-0,1706). La densidad absoluta de microfilaremia en sangre entre los 6 parasitados varió de 5 a 443mf/ml, media 94 mf/ml.

La edad media del total de examinados fue de 26,6 años (rango 1-98 años) y entre los microfilarémicos 22,5 años (11-29 años). De los 7.650 examinados 4.147 (54,2%) eran de sexo femenino, mientras 5/6 de los microfilarémicos eran de sexo masculino (χ^2 2,07, $p > 0,05$).

No hubo referencias a síntomas relacionados a filariosis entre los microfilarémicos, ni nuevos casos identificados entre los convivientes con el caso índice cuando se realizó la búsqueda por filtración. Sin embargo, al momento de encuesta, 7 (0,09%) sufrían elefantiasis, 20 (0,26%) refirieron molestias urogenitales, 2 (0,03%) describieron "orina lechosa", 80 (1,05%) informaron haber tenido erisipela (Tabla 2). La mayor proporción de signos/síntomas se presentó en el barrio Ponte dos Carvalhos y 3/7 casos de elefantiasis residían en el barrio de Rosário.

De las 7650 personas evaluadas en el municipio 50 afirmaron haber realizado un tratamiento previo para filariasis y todos negativos por gota gruesa. En este grupo 18 presentaron quejas clínicas (14 erisipela, 4 urogenitales), y 38%(19/50) vivían en el distrito de mayor casuística Ponte dos Carvalhos, siendo seguido por el barrio de Cohab, con un porcentual de 22%(11/50) (Tabla 2).

Discusión

En Brasil, en las últimas décadas se realizaron inversiones significativas en saneamiento básico pero no en forma homogénea, permaneciendo desigualdades inter e intrarregionales y principalmente dentro de un mismo municipio. La población urbana del estado de Pernambuco cuenta con abastecimiento de agua por la red general en un 88,47%, pero sólo un 41,91% con sistema cloacal (15), proporción aún menor en los dos municipios estudiados (5%-14,7%), lo que se traduce en un mayor número de criaderos potenciales para el vector de la filariasis (10). Estos factores y el proceso de urbanización han contribuido a la permanencia de la filariasis como un problema de salud pública en Pernambuco, semejante a lo que viene ocurriendo con otras endemias prevalentes en área urbanas y periurbanas de países en desarrollo (16,17,18). Este proceso involucra fenómenos sociales y económicos tales como la migración, oportunidad laboral e infraestructura de servicios, expresándose su impacto en la salud como desigualdades socio-espaciales de los espacios urbanos (19).

A partir de 1940 los cambios resultantes del proceso de industrialización de Pernambuco estuvieron asociados a migraciones del área rural para la ciudad de Recife. En 1979 la población de la RMR creció un 44,5% siendo 33,5% del total de la ciudad inmigrantes (20). El proceso de demanda de vivienda condujo al loteo de terrenos urbanos de bajo costo para una población de pocos recursos y una urbanización mal planeada. En las barriadas -*favelas*- así generadas se presenta simultáneamente una alta densidad poblacional y condiciones favorables para la

formación de criaderos del vector, articulándose la organización social de la ciudad al ciclo infeccioso de la filariasis (20).

Tabla 2. Población examinada para filariasis bancroftiana según referencia de manifestaciones clínicas en áreas del Municipio de Cabo de Santo Agostinho, Estado de Pernambuco, Brasil, 2000

Área	Elefantiasis	Erisipela	Molestias Urogenital	"Orina lechosa"	Asintomático	Total
B.São Francisco	1	2	-	-	445	448
Bela vista	-	-	1	-	275	276
Centro	-	12	2	-	733	747
Charneca	-	5	-	-	683	688
Charnequinha	-	-	-	-	25	25
Cohab	1	12	1	-	868	882
Cruzeiro	-	2	-	-	77	79
Engenho Trapiche	-	-	-	-	55	55
Gaibu	-	2	-	-	111	113
Jussaral	1	2	1	-	305	309
Malaquias	-	6	1	-	258	265
Pista Preta	-	-	-	-	71	71
Ponte dos Carvalhos	1	26	9	2	2509	2547
Pontezinha	-	3	1	-	265	269
Rosário	3	1	-	-	198	202
Santo Inácio	-	2	-	-	126	128
Sapucaia	-	-	-	-	43	43
Torrinha	-	-	-	-	34	34
Usina Bom Jesus	-	2	1	-	138	141
Usina Liberdade	-	1	1	-	43	45
Usina Mercês	-	2	2	-	136	140
Vila Roca	-	-	-	-	39	39
Vila Social C. M.	-	-	-	-	104	104
Total	**7**	**80**	**20**	**2**	**7.541**	**7.650**

Algunos individuos microfilarémicos identificados en este estudio provenían de áreas ya conocidas como endémicas: barrio de Casa Amarela y Bongi en Recife y de Prazeres en Jaboatão dos Guararapes (8,21) y migraron a los municipios de Cabo de Santo Agostinho y Moreno buscando vivienda. Este tipo de migración es importante para la introducción de la infección en un área sin transmisión activa pero condiciones ambientales para fijarla y diseminarla. Jaboatão dos Guararapes en 1959 tenía una prevalencia de infección de 0,84%, entonces no se realizó ningún trabajo sistemático pues todos los casos eran importados de Recife, y ya en 1992 presentó una de las mayores prevalencias de la RMR (8,10)

La endemia es mantenida por los individuos microfilarémicos (22), en su mayoría asintomáticos, aunque en algunos se presenta el daño linfático o manifestación subclínica. Las manifestaciones más evidentes con linfodema o hidrocele ocurren en una pequeña proporción de infectados luego de varios años de exposición al parásito, lo que dificulta el diagnóstico precoz por consulta espontánea. Desde este punto de vista epidemiológico los 8 casos con microfilaremia son asintomático y 3 pertenecían a un mismo grupo familiar, mostrando la influencia de los conglomerados humanos

con condiciones de vivienda precaria y protección contra el vector insuficiente o nula (23). Medeiros (22) demostró que los familiares de individuos microfilarémicos corren un riesgo 4,19 veces superior de tener infección filarial, cuando son comparados contra familiares de individuos sin microfilaremia. Otros estudios también sugieren que hijos de madres microfilarémicas son más susceptibles a adquirir infección que los nacidos de mujeres sin la parasitosis (24).

Un dato relevante sobre la endemicidad de filariasis en el área fue el hallazgo de 174 referencias de quejas clínicas por enfermedad filarial (erisipela, elefantiasis, urogenitales). La enfermedad por filaria es silenciosa, sus manifestaciones se presentan en una pequeña proporción de los infectados y después de varios años de exposición al parásito, dificultando su diagnóstico. En relación al tratamiento previo para filariasis, 74 individuos afirmaron haberlo realizado, resultado que merece una investigación más detallada.

La situación identificada de filariasis bancroftiana en los municipios de Cabo de Santo Agostinho y Moreno muestra la necesidad de establecer actividades de control de la endemia, así como implantar un servicio de vigilancia epidemiológica para filariasis en el área. Especialmente se deben instrumentar relevamientos periódicos en las áreas limítrofes con áreas ya endémicas, como el distrito de Ponte dos Carvalhos por su proximidad con el de Jaboatão dos Guararapes y por haber sido el distrito que presentó mayor número de infectados, referencia de manifestaciones clínicas y de tratamiento previo. Los relatos de manifestaciones clínicas también sugieren que se debe ofrecer a la población servicios de diagnóstico y tratamiento..

Referencias

1. CDC. Recommendations of the International Task Force for disease eradication. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2(RR-16), 1993: 1-38.
2. Brasil, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Gerência de Endemias Focais. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. Programa de Eliminação da Filariose linfática no Brasil, Brasília-DF-1997. Brasília, 1997. 15 p.
3. Rachou RG. Conceito e programa de profilaxia da filariose bancroftiana no Brasil. Rev Bras Mal Doen Trop 12, 1960: 11-39.
4. Azevedo R, Dobbin Junior JE. Filariose (*Wuchereria bancrofti*) no Grupo Residencial do IAPB no Bairro dos Afogados (Recife). Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães 1, 1952:157-162.
5. Rachou R, Villela AM, Cruz AE, Carvalho G. A filariose bancroftiana em Recife (Pernambuco). Resultado de um inquérito realizado em 1954-1955. Rev Bras Mal Doen Trop 8, 1956: 359-367.
6. Dobbin Junior JE, Cruz AE. Inquéritos de filariose em alguns municípios do litoral-mata de Pernambuco. Rev Bras Mal Doen Trop 19, 1967: 45-51.
7. Brasil, MS. SUCAM, Departamento de Erradicação e Controle de Endemias. Filariose bancrofti. Demostratrivo dos resultados obtidos em 1985 e projeções para 1986.Programa de Eliminação da Filariose linfática no Brasil, 1986, 82-87
8. Medeiros, Dreyer G, Andrade L, Pires ML, Mendes J, Pimentel R. *Wuchereria bancrofti* microfilarial density of authochthonous cases and natural *Culex* infectivity rates in Northeast Brazil. J Trop Med Hyg 95, 1992: 214-217.

9. Medeiros Z, Gomes J, Béliz F, Coutinho A, Dreyer P, Dreyer G. Screening of army soldiers for *Wuchereria bancrofti* infection in the metropolitan Recife region, Brazil: implications for epidemiological surveillance. Trop Med Int Health 4, 1999: 499-505.
10. Brasil, MS. Fundação Nacional de Saúde. Gerência de Endemias Focais. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. Relatório da Reunião de Avaliação do Programa de Controle da Filariose Linfática no Brasil, Recife- PE- 2000. Brasília, 2000. 58 p.
11. Dreyer G, Pimentael A, Medeiros Z, Béliz F, Moura I, Coutinho A, Andrade LD, Rocha A, Da Silva LM, Piessens WF. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. Trop Med Int Health 1, 1996: 264-272.
12. WHO -Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO Expert Committe on Filariasis, Geneva, 1992, 75p. (Technical Report Series, 821).
13. Dennis DT, Kaen BH. Isolation of microfilariae: Report of a new method. J Parasitol 57, 1971:1146-1147.
14. Marques MB. Bioética na política pública do Brasil. Informe epidemiológico do SUS, Brasília, 5, 1996: 67-86.
15. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Censo Demográfico, 2000. Rio de Janeiro, 2000.
16. Silva LJ. Crescimento urbano e a doença da esquistossomose no município de São Paulo (Brasil). *Rev Saúde Pública* 19, 1985: 1-7.
17. WHO (1994) *Lymphatic filariasis:* Infection & Disease: Control Strategies. Malaysia: WHO/ TDR- Division Of Control Of Tropical Diseases. Report Of A Consultative Meeting Held A The University Sains Malaysia Penang. Malaysia, 1994, 30 P.
18. Mott KE, Desjeux P, Moncayo A, Ranque P, De Raadt P. Parasitic diseases and urban development. Bull WHO 68, 1990: 691-698.
19. Albuquerque, MFPM. Urbanização, Favelas e Endemias: a produção da filariose no Recife, Brasil. Cad Saúde Pública 9, 1993: 487-497.
20. Melo ML. Metropolização e Subdesenvolvimento – o caso do Recife. Recife: Editora da Universidade Federal de Pernambuco, 1978.
21. Maciel A, Rocha A, Marzochi KBF, Medeiros Z, Carvalho AB, Regis L, Souza W, Lapa T, Furtado A. Epidemiological study of bancroftian filariasis in Recife, Northeastern Brazil. Mem Inst O Cruz 91, 1996: 449-455.
22. Medeiros Z. Contribuições ao estudo epidemiológico da filariose na Região Metropolitana do Recife. 1998, 142f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
23. Albuquerque MFM, Morais HMM. Descentralization of endemic disease control: an intervention model for combating bancroftian filariasis. *Pan Am Jo Public Health* 121, 1997: 75-86.
24 . Alexander MDE, Kazura JM, Bockarie MJ. Parenteral infection conformided with local infection intensity as risk factores for childhood microfilaremic in bancroftian filariasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92, 1998: 23-24.

Enfermedad de Chagas

Enfermedad de Chagas: Papel del peridomicilio como posible fuente de reinfestación domiciliaria triatomínica en Uruguay

Yester Basmadjián, Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad de la República (UDELAR), Montevideo, Uruguay

Resumen: *Las acciones realizadas por el Programa de Control de Enfermedad de Chagas, del Ministerio de Salud Pública de Uruguay, han reducido la presencia del* Triatoma infestans*, logrando de esta manera un corte en la transmisión vectorial de la enfermedad en el país, certificado en 1997 por OPS/OMS. Sin embargo los peridomicilios rurales y periurbanos, estructuralmente complejos y con una variedad de fuentes de alimento, son sitios potenciales de recolonización de triatominos, por lo que deben ser monitoreados en forma continua. En el actual escenario de control alcanzado la vigilancia de poblaciones residuales requiere de un gran esfuerzo de tiempo y costos, aún si es realizada por personal entrenado. Por ello se propone evaluar en campo el uso de sensores peridomésticos de triatominos, hechos de caña y cartón asfaltado, para aumentar la posibilidad y oportunidad de detectar* T.infestans *residuales y* T. rubrovaria *silvestres. Los sensores fueron colocados en los departamentos de San José y en Artigas, donde la línea de base mostró dos gallineros infestados por 55* T. infestans *sin infección y alimentados con gallina (doble difusión) en la primera, y un intradomicilio por* T. rubrovaria *en la segunda, que fueron fumigados. En diez visitas mensuales posteriores no se encontraron triatominos en los sensores pero sí otros artrópodos mostrando su calidad de refugios. Se sugiere evaluar la estrategia en otras áreas con mayor posibilidad de hallazgo de colonias residuales.*

Palabras clave: *Triatoma infestans, Triatoma rubrovaria*, sensores, Uruguay.

Introducción

Uruguay es un país con 176.215 km^2 (1), que presentaba inicialmente un área endémica para la Enfermedad de Chagas de 135.061 km^2 (2), vinculada a la presencia de *Triatoma infestans*, único vector domiciliario en el territorio.

Las acciones realizadas por el Programa de Control de Enfermedad de Chagas, del Ministerio de Salud Pública, han reducido notoriamente la presencia del vector, logrando de esta manera un corte en la transmisión vectorial de la enfermedad, certificado en 1997 por una comisión internacional evaluadora, coordinada por OPS/OMS (3).

La posibilidad del hallazgo de estos insectos por parte del personal debidamente entrenado resulta engorrosa, ya que son necesarias muchas horas-hombre para lograr capturar, de existir, algún ejemplar. Es debido a estas dificultades, que se planteó la búsqueda de triatomineos mediante la colocación de sensores en estructuras peridomiciliarias, ya que es desde este lugar que se podría eventualmente recolonizar el domicilio, tanto por *T. infestans*, como por *T. rubrovaria*, principal triatomineo

silvestre en el Uruguay, considerado vector de sustitución de *T. infestans*. Es justamente de esta especie de la que ya se ha reportado intradomiciliación en distintas zonas del país (2,4-12).

La colocación y vigilancia de los sensores deberá estar enmarcada en una participación comunitaria efectiva, medida que ya fue probada y que es considerada fundamental en la continuidad y sustentabilidad de las acciones de control y vigilancia (13-16).

Materiales y métodos

Área de estudio - El trabajo en terreno se realizó en dos áreas:
a) Departamento de San José: área en la que aún es posible hallar *T. infestans* a nivel peridomiciliario. Localidades "Mundo azul" y "Rincón de Batlle", ubicadas en la tercera sección judicial del departamento, distantes aproximadamente 110 Km. de Montevideo. Ambas integradas por pequeñas chacras y tambos, dedicados fundamentalmente a la lechería y cultivo de huertas. Existen en total unas 50 viviendas en un área de unos 50 Km^2, de las cuales se obtuvo el aval de 10 para participar en el proyecto luego de explicar el mismo y distribuir folletería.
b) Departamento de Artigas: área en la que se eliminó *T.infestans* en el año 1985, detectándose en cambio en los peridomicilios la presencia de *T. rubrovaria*. Localidad de "Pintadito", conocida también como "Cerro El Ejido", distante unos 600 Km. de Montevideo. Consta de una agrupación precaria de viviendas en la zona suburbana de la capital departamental, con casas construidas con diversidad de materiales (bloques, ladrillos, madera, chapa y cartón), carentes de agua potable en los domicilios, y teniendo algunas luz eléctrica. Todas presentan un peridomicilio pequeño, con estructuras muy variadas. Existen muy pocos gallineros en la zona. Se obtuvo el permiso para realizar el trabajo en 16 viviendas.

Muestreo entomológico
a) Departamento de San José: Se realizó la evaluación entomológica de las estructuras peridomiciliarias, eligiéndose los gallineros en todas las viviendas para la colocación de los sensores, previa búsqueda minuciosa de triatominos. En las estructuras seleccionadas, fueron puestos hasta 4 sensores a diferentes alturas del suelo. Los sensores se identificaron con el número de vivienda y según su localización en la estructura. De hallarse triatominos en la búsqueda previa, éstos eran trasladados al laboratorio donde se realizaría búsqueda de infección por *Trypanosoma cruzi* y posteriormente estudio del perfil alimentario mediante la técnica de doble difusión en agar (17-20). A partir del mes de junio, se colocaron (además del sensor de caña utilizado), sensores confeccionados con chapa de cartón asfaltado, a sugerencia de los agentes sanitarios que señalaban dicho material como el utilizado usualmente en la confección de los gallineros infestados con triatominos. En las posteriores visitas, fue efectuado el recambio de sensores, los que se trasladaban al laboratorio para ser abiertos. Los diversos artrópodos hallados se mantuvieron para su posterior determinación por entomólogos. Las visitas al área de estudio se realizaron

inicialmente en forma bimensual según el cronograma inicial pautado, pasando a hacerse en forma mensual a partir de mayo, totalizando 10 visitas al terreno. Ante la falta de triatominos en la zona estudiada, y en colaboración con el Programa de Chagas del Ministerio, se realizaron salidas a terreno en busca de nuevas áreas a estudiar en el Departamento de San José. Lamentablemente, no se lograron identificar nuevas zonas con presencia de *T.infestans* en peridomicilio en las zonas en las que está trabajando el Programa.
b) Departamento de Artigas: El mismo procedimiento que en San José, evaluándose previamente la zona y colocándose sensores en los peridomicilios. El recambio de los mismos se efectuó en forma similar a la otra zona de estudio. Al igual que en San José, a partir de junio se colocaron, además de los sensores de caña, sensores confeccionados con cartón asfaltado. Los muestreos se realizaron en forma mensual, totalizando en enero del corriente 10 muestreos. Se mantuvo la misma sistematización de trabajo en ambas zonas

En ambas zonas se investigó además presencia de triatomineos en ecotopos silvestres cercanos a los domicilios.

Aspectos operativos - El Programa de Control de la Enfermedad de Chagas, del Ministerio de Salud Pública, dirigido por la Dra. Raquel Rosa, facilitó la comunicación con las respectivas Intendencias Departamentales, Direcciones Departamentales de Salud y con los agentes sanitarios correspondientes. Se realizó la primera salida a San José en el mes de enero. Con respecto a las reuniones con los vecinos, las mismas se efectuaron en el mes de julio en la Escuela Rural Nº 84 de San José y en Agosto en la Parroquia que está situada en el propio cerro Ejido en Artigas. La segunda reunión con los vecinos se realizó en diciembre.

Resultados

En la evaluación de base se encontraron triatominos en los gallineros de 2/10 de las viviendas que aceptaron participar en el proyecto en el departamento de San José (vivienda Nº 9: 42 ejemplares de diversos estadios de *T. infestans* y vivienda Nº 10: 13 ejemplares de *T. infestans*). Ambas estructuras, posteriormente a nuestra visita, fueron fumigadas por el Servicio de Lucha contra la Enfermedad de Chagas. En los demás sólo se hallaron diversos rastros (deyecciones, cubiertas de huevos y, en uno de ellos, un ejemplar muerto de *T. infestans*). Esas estructuras ya habían sido previamente fumigadas por el Servicio de Control. Los triatomineos colectados fueron trasladados al laboratorio para investigar infección por *T. cruzi*, siendo todos los ejemplares negativos y posteriormente se les estudió el perfil alimentario mediante la técnica de doble difusión en agar, mostrando todos los ejemplares alimentación exclusiva sobre aves.

Se realizaron en esa zona en total 10 visitas. Los sensores fueron identificados y guardados en bolsas de poliuretano en forma individual, tanto los de caña como los de cartón. Una vez en el laboratorio se procedió a su apertura en forma cuidadosa, hallándose en varios de ellos diferentes especies de artrópodos (insectos y arácnidos)

los que identificados según vivienda y sensor fueron enviados a determinar por entomólogos. No fueron encontrados triatomineos en ninguno de los sensores. Tampoco fueron hallados en las estructuras peridomiciliarias.

Con respecto al departamento de Artigas, la evaluación entomológica en el intra y peridomicilio de las viviendas participantes resultó en un único ejemplar de V estadio de *T. rubrovaria* intradomiciliario, el cual fue negativo a la infección por *T. cruzi*. Entre marzo y mayo se observó que algunos de los peridomicilios habían sido modificados, tanto por acción antrópica como por acción eólica. Esta es una característica de la zona que no había sido notada previamente, ya que las visitas del Servicio de Control se realizan en forma más espaciada; los habitantes remueven con frecuencia las estructuras que depositan en los alrededores de su vivienda. Luego de esta visita, el trabajo en el área de estudio se realizó en forma mensual, completando en enero los 10 muestreos sin hallazgos de triatominos en los sensores.

En ambas localidades, en forma simultánea con el trabajo en los peridomicilios, se realizó búsqueda de triatomíneos silvestres. En el departamento de San José fueron colectados 27 ejemplares de *T. rubrovaria* y en el departamento de Artigas se colectaron 54 ejemplares de *T. rubrovaria*, 8 de *T. circunmaculata* y 34 de *T. platensis*. Los ejemplares de *T. rubrovaria* y *T. circunmaculata* fueron colectados en pedregales, mientras que los de *T. platensis* fueron hallados en nidos de aves. Estos fueron trasladados al laboratorio, donde se investigó infección por *T. cruzi*. Sólo se detectó infección por *T. cruzi* en 3 ejemplares de *T. rubrovaria* de Artigas.

En San José los vecinos no concurrieron a la reunión programada. En cambio en Artigas la concurrencia fue numerosa, motivándose a los presentes para que actuaran como mediadores entre la comunidad y los agentes sanitarios. En la segunda reunión en Artigas, notificado el estado de avance del proyecto, a pedido de los propios vecinos, se decidió realizar estudio serológico a los niños menores de 12 años que viven en la zona en conjunto con el Programa de Control de Chagas. La finalidad del mismo sería la instauración inmediata del tratamiento en caso de detectarse algún niño seropositivo.

Discusión

Uruguay se encuentra actualmente en etapa de vigilancia epidemiológica, luego de haberse certificado el corte en la transmisión vectorial, logrado fundamentalmente mediante la eliminación del vector intradomiciliario *T. infestans* de la mayor parte de su área de dispersión inicial. En esta situación, la búsqueda y el eventual hallazgo de algún ejemplar de este insecto se vuelve sumamente engorrosa, por lo que es necesario la instrumentación de nuevos métodos sensores, que permitan una permanencia de los mismos en la zona a vigilar.

Para ello se estudió la efectividad en terreno (ya había sido probada previamente en laboratorio) de sensores. Los utilizados en esta ocasión fueron realizados con caña, cortados al medio y con un papel adentro como oferta de refugio al insecto.

El resultado obtenido ha sido negativo. No se han hallado triatominos en el interior de los sensores, pero posiblemente eso se deba a la inexistencia de los

mismos en el área estudiada. Es de recordar que este trabajo se realizó en estrecho contacto con el Servicio de Lucha contra la Enfermedad de Chagas del Ministerio de Salud Pública, y que todas las áreas habían sido fumigadas por el servicio. En San José, zona en la cual fueron colectados triatomineos en la primera visita, se realizó fumigación en forma inmediata a nuestra visita. En ese departamento ya se estaba en el segundo o tercer ciclo de fumigación.

En el transcurso del trabajo se incorporó un nuevo modelo de sensor confeccionado con chapa de cartón asfaltado, material utilizado con suma frecuencia en la construcción de gallineros. Estos también resultaron negativos a la presencia de triatomineos.

Por este motivo, en forma conjunta al Servicio, se investigaron nuevas zonas, en busca de colonias de insectos a nivel peridomiciliar, siendo esa búsqueda infructuosa.

El hecho de haber hallado numerosos artrópodos dentro de los sensores nos indica en forma lateral que los mismos ofrecen buen refugio; el problema ha sido la no existencia de triatomineos en las áreas en las que desarrollamos el trabajo.

Un hecho a destacar es la gran movilidad que presentan los peridomicilios en la zona estudiada del departamento de Artigas. Los vecinos cambian de continuo la ubicación de los elementos que acumulan en ese lugar. Esta inestabilidad de las estructuras impediría la colonización por ejemplares de *T. rubrovaria* en ese hábitat.

Finalmente, queríamos hacer mención a las reuniones con los vecinos. La reunión en el Departamento de San José fue un fracaso. A pesar de haber invitado a los vecinos en forma personalizada verbalmente y mediante la entrega de una carta, la concurrencia fue nula. Esto tiene varias lecturas: la zona donde desarrollamos el trabajo es una zona de tamberos, que presentan una rutina de trabajo muy marcada, con dos horarios de ordeñe de las vacas (en la madrugada y en la tarde), lo que marca mucho el tiempo de que pueden disponer los pobladores. Además, no existe entre los pobladores la inquietud manifiesta en otros habitantes del país en lo que respecta a los triatomineos. En esta zona, la infestación es a nivel fundamentalmente peridomiciliar (gallineros), no estando el ser humano en estrecho contacto con el insecto, como sucedía en el norte del país. Finalmente no existen prácticamente pacientes chagásicos en ese Departamento, en la encuesta serológica de 1986 se obtuvo un 1 % de prevalencia a nivel departamental (21), por lo que la Enfermedad de Chagas, y en consecuencia los triatomineos no son un problema sentido por la población. En cambio en el Departamento de Artigas, a pesar de que desde 1985 se encuentra libre de infestación por *T. infestans*, la población está muy movilizada en lo que respecta a este tema. Las dos reuniones realizadas con los vecinos contaron con una numerosa concurrencia, se obtuvo una buena participación de los mismos, tanto en la vigilancia de los sensores como en la denuncia, generalmente errónea, de aparición de triatomineos. La motivación fue tan importante que a instancias de los propios vecinos realizamos una encuesta serológica a los niños menores de 12 años habitantes de ese barrio, para instaurar eventualmente el tratamiento etiológico de hallarse algún seropositivo.

En conclusión, se señala la necesidad de hallar en el territorio nacional una zona en la cual existan aun colonias peridomiciliarias de triatomineos para poder probar en terreno los sensores que sabemos son efectivos, tanto en laboratorio como en otras

zonas de nuestro continente. Ellos serían una herramienta de detección longitudinal eficaz en las etapas de vigilancia vectorial, permitiendo una permanencia en el lugar y complementando de esa manera la vigilancia realizada en forma puntual por los agentes sanitarios.

Referencias

1. Centro Latinoamericano de Economía Humana. Territorio y clima. Población. Indicadores Básicos del Uruguay. Montevideo: CLAEH, 1990: 17-8.
2. Tálice R, Costa R, Rial B, Osimani J. Los 100 primeros casos agudos confirmados de Enfermedad de Chagas. Montevideo: Monteverde, 1940.
3. OPS: 2ª Evaluación del Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas. Comisión Intergubernamental del Cono Sur para la Eliminación de *T.infestans* y la interrupción de la Tripanosomiasis Americana Transfusional. OPS/HCP/HCT/ 97.97, Washington, 1997.
4. Carcavallo R, Rabinovich J & Tonn R. Factores biológicos y ecológicos en la Enfermedad de Chagas. Tomo I OPS OMS. 1985.
5. Salvatella R. Triatomíneos del Uruguay. Rev Méd Uruguay 2, 1986: 106-113.
6. Salvatella R, Calegari L, Lowinger M et al. *T. rubrovaria* (Hemiptera, Triatominae) y su papel como vector secundario del ciclo domiciliario de *T.cruzi* en Uruguay. Rev. MED Uruguay 7, 1991: 45-50.
7. Osimani, J. La Enfermedad de Chagas. In: Reunión Panamericana sobre Enfermedad de Chagas. 1º, Río de Janeiro, 1950.
8. Salvatella R, Briano D, Calegari L. Notificación de intradomiciliación de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) en una vivienda de la 8ª seccional de Rivera (Uruguay). X Congreso Latinoamericano de Parasitología.I Congreso Uruguayo de Parasitología . Montevideo, 1991.
9. Calegari L, Casserone S, Somma R et al. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) en la planta urbana de la ciudad de Salto. En: Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedad de Chagas. Córdoba.1984.
10. Basmadjián Y, González M. Ecología de *Triatoma rubrovaria*. Bol Soc Zool Uruguay (2ª época) 9, 1995: 43-47.
11. Salvatella R. Los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Protozoa, Mastigophora) en Uruguay. Rev. Med Uruguay 9, 1993: 55-64.
12. Salvatella R, Rosa R, Basmadjián Y et al. Ecology of *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Triatominae) in Wild and Peridomestic Environments of Uruguay. Mem Inst Oswaldo Cruz 90, 1995: 324-328.
13. Pinto Dias J, Borges Dias R. Participaçao da comunidade no controle da doença de Chagas. Saúde Brasil 1, 1983: 205-211.
14. Salvatella R, Calegari L, Lowinger M et al. La Enfermedad de Chagas y la transmisión de *Trypanosoma cruzi* en una localidad rural de Tacuarembó. Rev Med Uruguay 5, 1989: 11-19.
15. García-Zapata M, Marsden P. Enfermedad de Chagas: control y vigilancia con insecticidas y participación comunitaria en Mambaí, Goiás, Brasil. Bol Of Sanit Panam 116, 1994: 97-110.
16. Cecere M, Gürtler R, Canale D et al. El papel del peridomicilio en la eliminación de *Triatoma infestans* de comunidades rurales argentinas. Bol Of Sanit Panam 121, 1996: 1-9.
17. Wisnivesky-Colli C, Gürtler R; Solarz N et al. Feeding patterns of *Triatoma infestans* in relation to transmission of American trypanosomiasis in Argentina. J Med Entomol 19, 1982: 645-654.
18. Salvatella R, Calegari L, Puime A et al. Perfil alimentario de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) en ámbitos peridomiciliarios de una localidad rural de Uruguay. Rev Ins Med Trop. Sao Paulo 36, 1994: 311-320.
19. Salvatella R, Rosa R, Basmadjián Y et al. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) y su alimentación por "linfoclepsio" intraespecífico. Bol Soc Zool Uruguay (2ª época) Vol 7: 21-22 1992 (Act. III Jorn. Zool. Uruguay).

20. Calegari L, Salvatella R, Guerrero J et al. Hábitos alimentarios de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae), en diferentes situaciones eco-epidemiológicas. Bol Soc Zool Uruguay (2ª época) 9, 1995: 61-66.
21. Salvatella R, Calegari L, Casserone S et al. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en 13 departamentos del Uruguay. Bol Of Sanit Panam 107, 1989: 108-117.

Tuberculosis

El uso de información socioeconómica en la construcción de indicadores de la situación colectiva de riesgo para la ocurrencia de tuberculosis en Olinda, estado de Pernambuco, Brasil

Wayner Vieira de Souza, Centro Pesquisas Aggeu Magalhães da FIOCRUZ

Artículo original: Souza VW, Ximenes R, Albuquerque MFM, Lapa TM, Portugal JL, Lima MLC, Martelli CMT. The use of socioeconomic factors in mapping tuberculosis risk areas in a city of northeastern Brazil. Rev Panam Salúd Pública 8, 2000: 403-410.

Resumen: *En Brasil el desafío de alcanzar las necesidades de aquellos que viven en las áreas periféricas y marginales impulsa la necesidad de cambiar la estrategia de Vigilancia Epidemiológica por un Sistema de Vigilancia Integrado de Salud Pública, sustituyendo el enfoque de individuos de alto riesgo por el de áreas/poblaciones de alto riesgo. En ese sentido este estudio propone integrar dos bases de datos: El Sistema de Vigilancia de Alertas de Salud y el Censo Demográfico. Utilizando datos socio-económicos y técnicas de geoprocesamiento se creó un indicador colectivo de riesgo de tuberculosis para Olinda, Pernambuco. Dos métodos diferentes fueron probados: El Indicador de Carencia Social y el Análisis de Componentes Principales seguido de Análisis de Agrupamiento (*cluster*). El objetivo fue estratificar el espacio urbano y verificar la asociación entre el gradiente de riesgo resultante y la incidencia media de enfermedad entre 1991 y 1996. Los resultados obtenidos mostraron una asociación entre carencia social y ocurrencia de enfermedad, destacando además los grupos y áreas prioritarios que requieren intervención. Se sugiere un seguimiento efectivo del tratamiento de los casos pulmonares BAAR+ (Bacilos Ácido Alcohol Resistentes), la búsqueda de contactos y el monitoreo de los casos multidroga resistentes, de acuerdo con la organización de los servicios de salud en los Distritos Sanitarios.*

Palabras clave: Tuberculosis, Indicadores, riesgo colectivo, análisis componentes principales, Brasil.

Introducción

La Vigilancia Epidemiológica en Brasil ha seguido un modelo de intervención vertical enfocado en el nivel de vigilancia individual. Este procedimiento resultó en una acumulación de datos de poco uso en el proceso de toma de decisiones en salud. El problema condujo a la discusión del tipo, cantidad y calidad de la información obtenida por los indicadores tradicionales de morbilidad y operativos utilizados por los programas.

En la medida que el objeto de la vigilancia epidemiológica debe ser la identificación y diseño de intervenciones para el control de endemias y epidemias relacionadas al área en que ocurren, se requiere superar el enfoque basado en individuos de alto riesgo hacia la definición de "situaciones de alto riesgo" (1). Este

cambio de enfoque se ha tornado más necesario aún teniendo en cuenta la re-emergencia y emergencia de enfermedades en las últimas dos décadas. Sin embargo, el concepto de re-emergencia tiene diferente significado en países desarrollados y economías periféricas. En Brasil enfermedades como la tuberculosis no son re-emergentes sino problemas de salud pública desde hace décadas (2), representando una continua amenaza debido a la falla de los sistemas de salud, la aparición de resistencia a las drogas terapéuticas, las inequidades sociales y la pobreza (3-6).

La tasa nacional de incidencia de tuberculosis en los últimos 15 años se ha mantenido por arriba de los 5 $^{0}/_{000}$ habitantes, siendo la enfermedad endémica urbana con la tasa de mortalidad más alta, con 100 000 óbitos entre 1979-1995. Más del 85% de los casos presentaron la forma pulmonar, y entre ellos 60% fueron BAAR+ (Bacilos Ácido Alcohol Resistentes), el grupo de mayor importancia epidemiológica. En Pernambuco la situación es similar a la del resto del país, pero en los últimos años las tasas de incidencia superaron a las nacionales, y la mortalidad fue 1,5 veces la promedio de Brasil, sugiriendo deficiencias en los sistemas de salud.

Basados en información socio-económica del Censo Demográfico, se propuso establecer un indicador de estado de riesgo colectivo para la ocurrencia de tuberculosis mediante dos metodologías diferentes, con el objeto de estatificar el área urbana de Olinda, en el estado de Pernambuco. El objetivo fue verificar la asociación entre el gradiente de riesgo resultante de dicha estratificación y la incidencia media de enfermedad en el período 1991-1996. Tomando a la tuberculosis como ejemplo, por la relevancia y magnitud del problema, pero como contribución a la implementación de un sistema de vigilancia de enfermedades endémicas en áreas urbanas, estructurado con los servicios de salud, y organizado según el sistema de los distritos sanitarios. Este sistema está diseñado para generar cambios en los procedimientos sanitarios, que así serán capaces de identificar áreas de riesgo o situaciones basadas en poblaciones definidas (8).

Materiales y métodos

Área y población de estudio - Olinda, municipalidad de la Región Metropolitana de Recife, estado de Pernambuco, Brasil (34º49'-34º54' O, 7º57'-8º2'S), con 341 394 habitantes al 01/08/1996 (Censo Demográfico 1991), crecimiento 1991-1996 aproximadamente 0,5%/año, área 40,83 Km^2, densidad 8 500 habitantes/Km^2, lo que la torna en una de las más densamente pobladas de Brasil (1).

Fuentes de datos - Sistema de Vigilancia de Alertas de Salud *(Sistema de Informações sobre Agravos de Notificação)* (SINAN/MS/FNS/CENEPI) colectado por las autoridades de salud del Estado de Pernambuco. La base de datos del Censo Demográfico 1991 (9) ofreciendo información cruda de cada segmento censal de la municipalidad de Olinda, datos poblacionales adicionales del censo, y la base de datos poblacionales de 1996 (9) para Brasil, Pernambuco y Olinda. Como punto de partida se utilizó un mapa de calles digitalizado provisto por el Departamento de Cartografía e Ingeniería de la Universidad Federal de Pernambuco, se le agregaron

los segmentos censales (243 sectores base de datos censo 1991), barrios, distritos sanitarios y áreas de manejo (mapas analógicos de Autoridades de Salud y Planeamiento). La digitalización de las nuevas capas variables con el programa MaxiCad de adquisición de imágenes.

Análisis de datos y procedimientos - El primer análisis descriptivo utilizó la ocurrencia de todas las formas de tuberculosis utilizando la incidencia anual como indicador, período 1991-1996 (datos censales en los dos puntos extremos y datos completos y actualizados de incidencia hasta 1996). La unidad de análisis fue el segmento censal. Se georeferenciaron los casos nuevos de tuberculosis identificando sector residencial (dirección en formulario SINAN) y verificado con la base de datos de Servicio de Correos y Telégrafos (ECT). La incidencia media para cada segmento para el período 1991-1996 se calculó para incrementar la estabilidad de los datos (población interpolada al 31/12/93, punto medio del período considerado). Se adicionó con el programa *ArcView* 3.0 información socioeconómica y demográfica de cada segmento censal al mapa digital. Se asumió una distribución de Poisson para verificar si la relación distribución de la enfermedad segmento censal era aleatoria (10-12). Se construyó luego un indicador colectivo para probar dos metodologías diferentes.

La primera adoptó el Indicador de Carencia Social (ICS) como marcador de situaciones de riesgo colectivo. El ICS se calculó a partir de variables secundarias (13,1) derivadas de variables primarias del censo 1991 (9) y distribuidas a nivel de segmento censal (13), seleccionadas por su relación con la transmisión de la enfermedad o la carencia social. Las variables secundarias fueron: a) % jefes de familia > 1 año escolaridad, b) % analfabetos 10-14 años, c) % jefes de familia con ingreso menor un salario básico, d) % viviendas en construcciones precarias, e) habitantes/dormitorio promedio. Se utilizó un modelo de análisis de la varianza para verificar la asociación entre gradiente de riesgo (expresado en quintiles de la distribución de ICS) y la incidencia de enfermedad tomando las incidencias medias 1991-1996 por el grupo de segmentos censales de cada uno de los quintiles. A fin de ajustarse a la lógica de las iniciativas de control, se caracterizaron estratos de riesgo en función de la distribución del ICS.

La segunda metodología no se basó en variables primarias seleccionadas intencionalmente del censo, sino por un grupo de variables que representan todo el espectro de dicha base de datos. En el análisis de factores se usaron dos productos básicos, ponderación de factores que describe la correlación entre factores derivados del análisis y cada una de las variables utilizadas originalmente, y la puntuación de factores que les da valores específicos calculados para cada segmento censal por separado y formado por la suma de los valores estandarizados de las variables originales (14-16). Se usaron 16 variables y 241 sectores, aunque 2 sectores no eran residenciales. De esta matriz de datos se realizó la determinación de factores iniciales mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP). El Componente Principal 1 (CP1) se tomó como marcador de la "dimensión" carencia social, permitiendo a las variables elegidas y así al "puntaje" como valor específico del factor calculado para cada segmento censal, ordenar los sectores según la característica estudiada (14-15).

Con el objeto de definir límites para la estratificación de los segmentos censales se uso el modelo de agrupamiento de las k-medias (17), que usa agrupamientos (*clusters*) k que maximizan la variación externa y minimizan la interna al grupo (18). A fin de ajustarse a la lógica del planeamiento de control a nivel local se utilizó un k=5. Para verificar la relación entre el gradiente resultante de esta estratificación y la incidencia, se utilizó un modelo de análisis de la varianza, tomando las incidencias medias del período 1991-1996 para el conjunto de segmentos censales que conforman cada uno de los grupos definidos por el análisis de agrupamiento.

La etapa final fue el análisis conjunto de la distribución de segmentos censales según su clasificación por las dos metodologías. La prueba de Kappa se utilizó para explorar la concordancia entre las dos clasificaciones (18)

Resultados

En el período 1991-1996 se registraron 2102 nuevos casos de tuberculosis en Olinda, resultando una media de aproximadamente 1 nuevo caso cada 1000 habitantes, prácticamente el doble de la media nacional (tabla 1).

Tabla 1. Tasas de incidencia de tuberculosis en Olinda, 1991-1996

Año	Nº de casos	Población *	Tasa de incidencia **
1991	304	341.127	89,1
1992	368	342.735	107,4
1993	331	344.350	96,1
1994	271	345.974	78,3
1995	475	347.604	136,6
1996	353	349.243	101,1
Media	**350,3**	**345.149**	**101,5**

* Población ajustada al punto medio del período, ** Tasa incidencia por 100 000 habitantes

Del total de casos registrados 1723 (82%) fue georeferenciado por segmento censal, con más del 80% para cada uno de los años de estudio. No fue posible identificar el sector en aquellos casos con información insuficiente (371 casos, 17,6%) o dirección no informada (8 casos, 0,4%). A pesar de este bajo porcentaje de no-referenciados, la mayor parte de los casos presentaba datos insuficientes en la dirección, sugiriendo que residen en conjuntos habitacionales precarios o asentamientos en formación.

Al analizar la media de incidencia 1991-1996 para cada segmento censal, 11 sectores presentaron más de 18 casos (3 o más casos por año promedio), representando el 5% de la población total de la municipalidad pero más del 15% de todos los nuevos casos de tuberculosis, con una tasa de incidencia 2,3 veces la media de Olinda. La tabla 2 muestra los valores observados y aquellos esperados según la distribución de Poisson, y la prueba estadística de ajuste (χ^2) que sugiere una distribución agregada de enfermedad a nivel de segmento censal y no una

distribución al azar de la misma. Lo que remarca la necesidad de encontrar formas de estratificar la población con diferentes niveles de riesgo colectivo.

Tabla 2. Distribución de frecuencias observadas y esperadas de la incidencia media de tuberculosis en Olinda. 1991-1996, por segmentos censales y resultados del ajuste por χ^2

Incidencia*	Frecuencia observada	Frecuencia esperada	χ^2
0 −| 71,25	128	250	587
71.25 −| 95,00	30	195	140
95,00 −	83	25	125

χ^2 = 852066, un grado de libertad, nivel de significancia ≈ 0. *Tasa incidencia por 100 000 habitantes

El puntaje alcanzado por cada sector, en adición a los valores encontrados del ICS, fueron ordenados en forma creciente, los menores valores de ICS correspondiendo a la menor carencia y los más altos a la mayor carencia o riesgo. En la tabla 3 se observa la incidencia media y el ICS según la distribución de quintiles del Índice, mostrando una asociación positiva entre la ocurrencia de enfermedad y el riesgo medido como ICS. En la Figura 1 se observa esta distribución en el mapa de Olinda, indicando la prioridad relativa de las 5 áreas de manejo de salud.

Tabla 3. Incidencia media de tuberculosis por 100000 habitantes e Índice de Carencia Social (ICS) de acuerdo a su distribución por quintiles para la Municipalidad de Olinda, 1991 – 1996

Quintiles	Casos totales	Media anual	Población*	Incidencia media	ICS
1. Menor ICS	197	32,8	62561	52,4	4,7
2. Menor intermedio	276	46,0	64164	71,7	11,3
3. Intermedio	406	67,7	70947	95,4	22,1
4. Intermedio superior	446	74,3	74091	100,3	36,3
5. Mayor ICS	398	66,3	73386	90,3	57,7
Total/media	**1723**	**287,2**	**345149**	**83,2**	**NA****

* Población al 31/12/93. ** no aplicable

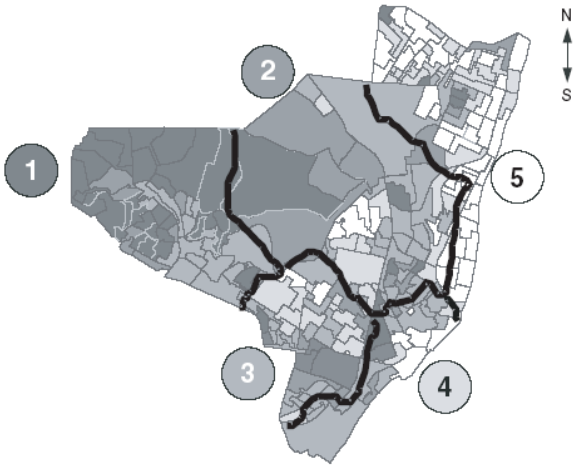


Figura 1. Mapa de riesgo de tuberculosis de acuerdo a la distribución por quintiles del ICS, indicando la prioridad de intervención. Olinda, Pernambuco, Brasil, 1991-1996. Prioridad: 1 mayor riesgo/prioridad - 5 menor riesgo/ prioridad

La tabla 4 muestra los resultados del análisis de la varianza comparando las tasas de incidencias medias para cada quintil definido por el ICS. Empleando la prueba de Duncan (19) para identificar grupos homogéneos se encontró una diferencia significativa entre los quintiles 1 y 2 en relación a los quintiles 3, 4 y 5, lo cual caracteriza dos situaciones diferentes de carencia social/riesgo.

Tabla 4. Resultados del análisis de la varianza para comparación de la tasa media de incidencia de tuberculosis obtenidas en la tabla 3

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Nivel de significancia
Entre grupos	79 801,2	4	1950,3	5,26	< 0,01
Dentro de grupos	895 281,0	236	3793,6		
Total	**975 082,2**	**240**			

El análisis de componentes principales (APC) siguió la forma de una matriz de variables secundarias. Como primer resultado la tabla 5 muestra los valores medios, desviaciones estándar de las variables secundarias y la ponderación que representa el coeficiente de correlación entre cada variable y el Componente Principal 1 (CP1). Este resultado muestra un gran número de viviendas con instalaciones sanitarias inadecuadas, sin recolección regular de basura y con altas tasas de analfabetismo, como también desviaciones estándar cerca o por encima de la media para la mayor parte de las variables, indicando la existencia de disparidades extremas en la distribución de las variables y grandes inequidades sociales. Las variables más fuertemente correlacionadas con las "dimensiones" de carencia social indicadas por el CP 1, son aquellas con factores de ponderación superiores a 70%, capaz de explicar alrededor de un 43% de la variación total de los datos analizados.

Tabla 5. Porcentaje medio, desviación estándar y Factor de ponderación de las variables usadas en el Análisis de Componentes Principales

Variable	Media	Desviación Estándar	Factor ponderación
% hogares en conglomerados habitacionales	26,1	40,1	-0,397
% hogares en aglomeraciones precarias	20,6	31,5	0,800
% viviendas con agua entubada de otras fuentes	1,7	6,0	0,112
% viviendas sin agua entubada pública	15,8	20,0	0,776
% viviendas sin agua entubada de otras fuentes	5,9	12,3	0,582
% viviendas sin condiciones sanitarias satisfactorias	45,0	40,0	0,762
% viviendas ocupadas por el propietario	15,3	22,1	0,628
% de viviendas rentadas	15,5	7,9	-0,254
% de viviendas prestadas	4,8	3,9	0,018
% Viviendas sin recolección regular de basura	32,3	33,1	0,750
Número promedio de habitantes por habitación	2,1	0,4	0,902
Número promedio de habitantes por vivienda	4,4	0,4	0,604
% jefes de familia sin escolaridad	15,0	11,3	0,886
% jefes de familia con ingreso < 2 salarios mínimos	27,8	18,1	0,717
% jefes de familia sin ingresos	8,2	7,2	0,517
% analfabetos 10-14 años de edad	13,9	11,2	0,9014

El factor de puntuación, normalizado para segmento censal, sirvió para el análisis de agrupamiento (*cluster Analysis*) con un número de grupos (k.-medias) de 5. Los valores medios del factor 1 y el análisis de la varianza de este agrupamiento basado en PC 1 se muestran en la tabla 6. El resultado muestra la gran significancia de la diferencia entre subconjuntos de segmentos censales definidos por este análisis, aunque el ajuste entre incidencia y gradiente de riesgo se verá más adelante.

Tabla 6. Valores medios del factor 1 y análisis de la varianza de agrupamiento de segmentos censales k=5, con base en PC (1)

Grupo	Factor medio 1	Varianza	SC entre Grupos	GL	SC Intra Grupos	GL	F	NS
1	-1,236	0,030						
2	-0,714	0,022						
3	-0,004	0,039	229,3	4	10,7	236	1268,(	> 0,01
4	0,733	0,054						
5	1,636	0,102						

SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de Libertad, NS: nivel de significancia

La tabla 7 muestra, para cada grupo definido en el análisis, los valores de casos e incidencia. La tabla 8 muestra el análisis de la varianza de la incidencia media de cada grupo. la Figura 2 muestra los resultados del análisis de agrupamiento (*cluster)* indicando el riesgo relativo de tuberculosis en las diferentes aáreas de Olinda. Realizada la prueba de Duncan para identificar grupos homogéneos se encontró una diferencia significativa entre los grupos 1 y 2 en relación al 3 y 4. Estos resultados muestran la existencia de diferencias en la incidencia media entre los estratos poblacionales definidos por el Análisis de Componentes Principales, para la identificación de un componente principal de carencia social, traducido aquí como riesgo de contraer tuberculosis. La excepción es el grupo 5 discutido más abajo.

Tabla 7. Incidencia media de tuberculosis en Olinda, 1991-1996, de acuerdo a los grupos definidos por el Análisis de Componentes Principales, con k=5

"Grupo"	Nº segmentos censales	Total casos	Media anual	Población al 31/12/93	Incidencia 100 000 hab
1. Menor carencia	46	207	34,5	52 350	65,9
2. Menor intermedia	64	359	59,8	92 379	64,8
3. Intermedia	53	511	85,2	79 060	107,7
4. Intermedia superior	42	370	61,7	66 932	92,1
5. Mayor carencia	36	276	46,0	54 427	84,5
Total	**241**	**1 723**	**287,2**	**345 149**	**83,2**

Tabla 8. Resultados del análisis de la varianza para tasas de incidencia media obtenidas en tabla 7'

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Nivel de significancia
Entre grupos	69 229,7	4	17 307,4	4,51	0,002
Intra grupos	905 852,4	236	3 838,4		
Total	**975 082,2**	**240**			

Figura 2. Mapa de riesgo de tuberculosis y prioridades de intervención obtenido por análisis de componente principal y análisis de agrupamiento (*cluster)*, Olinda, Pernambuco, Brasil, 1991-1996. Prioridad: 1 mayor riesgo/prioridad - 5 menor riesgo/ prioridad

La tabla 9 muestra la distribución conjunta de los segmentos censales de acuerdo a su clasificación por las dos metodologías, mostrando una gran coincidencia entre las dos distribuciones, principalmente por la convergencia de las áreas de bajo y alto riesgo.

Tabla 9. Distribución de segmentos censales de Olinda según la clasificación de riesgo de las dos metodologías de estratificación, y prueba Kappa de ajuste entre ambas distribuciones para 5 estratos de riesgo

Quintiles	Bajo riesgo	Bajo intermedio	Intermedio	Intermedio superior	Alto riesgo	Total
1	36	13	0	0	0	**49**
2	10	38	0	0	0	**48**
3	0	13	35	0	0	**48**
4	0	0	18	30	0	**48**
5	0	0	0	12	36	**48**
Total	**46**	**64**	**53**	**42**	**36**	**241**

K=0 689, z =21,21; nivel significancia ≈ 0,000

Discusión

En el período estudiado la municipalidad de Olinda presentó altas tasas de incidencia de tuberculosis, alcanzando valores de 100 nuevos casos cada 100 000 habitantes hacia el fin del período, lo que muestra la magnitud del problema y resalta la necesidad de redefinir el modelo de vigilancia actual. La adopción del segmento censal como base del análisis permitió la estratificación del área urbana, aportando una visión de riesgo colectivo que es capaz de explicar la diferencias de ocurrencia de tuberculosis en Olinda. La elección del segmento censal como unidad básica de la estratificación de la población, según sus niveles de carencia social, ha sido utilizada en diferentes contextos en los que fue capaz de explicar diferencias de morbilidad y mortalidad (20-21). Debido a la forma en la que son construidos las características socio-económicas de los habitantes de los segmentos censales son razonablemente homogéneas internamente y heterogéneas en relación a los otros segmentos,

En nuestro análisis la distribución de tuberculosis en Olinda no resultó uniforme. El riesgo colectivo, medido como carencia social por dos métodos diferentes, estuvo positivamente asociado con la incidencia de tuberculosis. La estratificación comprendió 5 estratos en cada metodología, con el objeto de proveer una forma de establecer prioridades para los servicios de salud. La correspondencia entre situación de riesgo e incidencia de tuberculosis fue menos que "perfecta" en algunos casos. Cuando el ICS fue construido con la técnica de puntaje, en la estratificación por quintiles, la mayor incidencia se observó en los 3 estratos más carenciados. Esto podría deberse a: a) que el 18% de los casos no referenciados tienen direcciones que sugieren la localización en las áreas más carenciadas, b) que pasado cierto umbral de carencia (intermedio) ya existen las condiciones para la reproducción de la enfermedad sin mayor gradación observable, c) problemas intrínsecos del sistema de información y accesibilidad a los servicios de salud "excluyendo a los excluidos" (22).

Se observó gran concordancia en la definición de áreas de riesgo entre ambas metodologías, validando así la segunda a la primera, ratificando que las variables incluidas en el ICS tienen una correlación > 70% con el componente principal. La metodología de Análisis de Componentes Principales aparenta ser mejor para abarcar la "dimensión" de carencia, disminuyendo las inconsistencias por ser más rigurosa en varios aspectos, incluyendo el estadístico. Por otra parte la calificación del ICS, a pesar de generar más inconsistencias, es más sencilla de construir y por lo tanto de operar por los servicios de salud.

Analizando la identificación de estratos de riesgo en los Distritos Sanitarios y Operativos se observa que una definición o re-definición de las iniciativas de control desde la perspectiva de riesgo colectivo es posible. Esta estratificación permite también comprender el proceso de generación de la enfermedad en función de la ocupación de áreas urbanas, importante para el planeamiento, organización de servicios de salud en base a necesidades de la población (calidad y cantidad), y la ubicación y jerarquización de dichos servicios (23). Esta discusión conduce a una más general sobre el Sistema de Vigilancia en Salud Pública, en el caso específico de la

tuberculosis, incluyendo el concepto de riesgo colectivo, no nuevas formas de tratar la enfermedad sino la identificación de poblaciones/áreas de alto riesgo estableciendo una vigilancia más eficiente en esos grupos. Este sistema deberá incluir control estricto de los casos de tuberculosis pulmonar BAAR+ y sus contactos, el seguimiento para verificar la aparición de resistencia y aún el monitoreo de tratamiento de los casos notificados en cada servicio de salud, de acuerdo con una lógica espacial compatible con la organización de los Servicios de Salud en Distritos Sanitarios.

La falta de datos actualizados en bases digitales es un problema corriente cuando se trabaja con eventos geo-referenciados. La base utilizada para Olinda se basa en relevamientos de fotografías aéreas de la década de 1980, lo que junto a la desactualización en la base de datos de calles, generó cierta dificultad para relacionar casos y segmentos censales residenciales, aunque no hubo expansión urbana en la década de 1990. Este problema se solucionó, cuando fue posible, por métodos tradicionales, incluyendo llamadas telefónicas a direcciones adyacentes. Otro problema importante es la frecuencia de la colección de datos socio-económicos o demográficos, que no se corresponde con los datos de morbilidad. Por ello, se comenzó el período de estudio, 1991-1996, por la existencia de datos del Censo 1991, y las tasas medias se refirieron al punto medio, el 31/12/93, infiriendo dicho valor al asumir que no hubo cambios substanciales en la tendencia de los datos registrados.

Construir los indicadores de movilidad a partir del Sistema de Información (SINAN) también generó problemas por la falta de datos o su baja calidad, en especial en referencia a las direcciones de casos, y se encontraron dobles notificaciones, por el servicio de salud donde aparece inicialmente el caso y por el servicio de salud de su área de residencia. Estas duplicaciones fueron excluidas en este estudio.

El segmento censal fue adoptado como unidad de análisis ya que es la máxima desagregación de datos socio-económicos y demográficos colectados sistemática y periódicamente a nivel nacional en forma normatizada, aunque presenta falta de estabilidad para los datos de áreas pequeñas, lo que se intentó superar tentativamente mediante el agregado de datos en tiempo y espacio (24-26).

El ICS, por puntajes, al asignar a todas las variables el mismo peso, tiene limitaciones metodológicas, pero esta deficiencia teórica se compensa con su facilidad de manejo a cualquier nivel del Sistema Nacional de Salud (SUS). El análisis de Componentes Principales seguido por el Análisis de Agrupamiento (c*luste*r) demostró mayor consistencia desde el punto de vista académico pero presenta mayores dificultades para ser aceptado por las diferentes áreas del SUS. El problema para establecer los límites y número de estratos de riesgo, se resolvió en la distribución del ICS por quintiles, y la definición de 5 grupos o agregados en el análisis de Componentes-Agrupamiento, aunque la consistencia entre ambas metodologías, ratificando a la primera, sugiere que los resultados obtenidos son útiles para el establecimiento de prioridades por los servicios locales de salud, y adecuados para confrontar el conocimiento previo que los agentes de salud tiene sobre sus respectivas áreas de trabajo.

En conclusión este trabajo, a pesar de las dificultades metodológicas puntualizadas, presenta una propuesta para superar el problema de falta de indicadores de riesgo colectivo integrando dos bases de datos, el Censo Demográfico y el SINAN. Se estableció de esta manera una comunicación entre los sistemas de información tradicionales, que permite un análisis interactivo de datos socio-económicos y de salud, y permite determinar indicadores de carencia social como marcadores de riesgo colectivo.

Referencias

1. Ximenes RAA, Martelli CT, Souza WV, Lapa TM, Albuquerque MFM, Morais Neto OL, Silva SA, Lima MLC, Portugal JL. Vigilância de doenças endêmicas em áreas urbanas a interface entre mapas digitais censitários e Indicadores epidemiológicos. Cad Saúde Púb 15, 1999: 109-118.
2 . Global challenge of tuberculosis (editorial). The Lancet 344(8918), 1994: 277-279.
3. Farmer P. Social inequalities and emerging infectious diseases. Em Inf Dis 2, 1996: 259-269.
4. Enarson DA, Grossnet J, Mwinga A, Hershfiekd ES, O'brien R, Cole S, Reichman L. The challenge of tuberculosis statements on global control and prevention. The Lancet 346, 1995: 809-819.
5. Gamundir R. The emergence of TB signals dangers. 1995. APLA's home page (http://www.apla.org.\apla\9512\tuberculosis.html), 1998.
6. Sabroza PC, Toledo LM, Osanal CH. A organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos. In: Leal MC, Saborza PC, Rodriguez RH, Buss PM. Saúde, ambiente e desenvolvimento. Processos e consequências sobre as condições de vida. São Paulo. Hucitec, Rio de Janeiro Abrasco, 2: 57-77, 1992.
7. Brasil. Ministério da Saúde Série histórica de casos de agravos e doenças infecciosas e parasitárias no Brasil, 1980 a 1986: tuberculose. Informe epidemiológico do SUS a. 6: 95-103, 1997.
8. Mendes EV *et al*. Distritos sanitários conceitos. En: Mendes EV. Distrito Santiário. Processo social de mudança das práticas sanitárias do Sistema Único de Saúde. São Paulo: Hucitec: Rio de Janeiro: Abrasco: 150-185, 1993.
9. FIBGE: Censos demográficos. Fibge's home page (http://www.ibge.gov.br), 1998.
10. Elliot P, Cuzick J, English D, Stern R. Environmental Epidemiology Methods for Small-Area Studies. Oxford: Oxford University Press, 1996.
11. Hays WL. Statistics Fort Worth: Holt, Reinhart and Winston, 1998.
12. Sokal RR. Testing statistical significance of geographic variation patterns. Syst Zoology 28, 1979: 227-232.
13. UNICEF (Fundo das Nações para a Infância) Municípios brasileiros crianças e suas condições de sobrevivência. Brasília: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1994.
14. Kleinblaun DG, Kupper LL, Muller KE. Applied regression analysis and other multivariable methods. Belmonte: Dusbury Press, 1987.
15. Souza J. Análise em componentes principais e suas aplicações. In: Métodos estatísticos nas ciências psicossociais. Brasília: Thesaurus, 1987.
16. Chaatfield C, Collins AJ. Introduction to multivariate analysis. London: Chapman and Hall: 57-87, 1986.
17. CDC. Guidelines for investigating clusters of health events. Morbidity and Mortality Weekly Report. 39(RR-11), 1990: 1-23.
18. Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Chapmand and Hall, 1995.
19. Bailar JC, Mosteler F. Medical Uses of Statistics. Boston: NEJM Books, 1992.
20. Carstaris V, Morris R. Deprivation explaining differencies in mortality between Scotland and England and Wales. BM. 299, 1989: 886-889.
21. Patterson CC, Waugh NR. Urban/rural and deprivational differences in incidence and clustering of childhood diabetes in Scotland. Int J Epidem 21, 1992: 108-117.

22. Castelhanos PL. Sistemas nacionales de salud según condiciones de vida y del impacto de las acciones de salud y bienestar. Programa análisis de la situación de salud y sus tendencias. Washington: OPS/OMS, 1993.
23. Albuquerque MFPM, Morais HMM, Descentralizando o controle das endemias um modelo para a intervenção em liariose bancroftiana. Rev Panam Salud Pública1, 1996: 155-163.
24. Dolk H, Mertens B, Kleinschmidt I, Walls P. Shaddick G, Elliot PA. Standardisation approach to the control of socioeconomic confounding in small area studies of environment and health. J Epidem Comm Health 49, 1995:9-14.
25. Sunnybrook health science centre health services research group. Small-area Variations what are they and what do they mean? Can Med As J. 146, 1992: 467-470.
26. Carstairs V, Lowe M. Small area analysis creating an area base for environmental monitoring and epidemiological analysis. Comm Med 8, 1986:, 15-28.

Resultado del seguimiento diagnóstico en sintomáticos respiratorios con sospecha de tuberculosis pulmonar en tres redes de salud de la Dirección de Salud de Lima Sur, Perú

David Zavala Rosas, Programa Nacional de Control de la Tuberculosis - Ministerio de Salud, Perú; Richard Rodríguez, Servicio de Neumologia del Hospital de Apoyo "Maria Auxiliadora" - Lima, Perú;Alfredo Torres, Director del Laboratorio de Salud Publica DISA, Lima Sur Perú

Resumen: *Se realizó un estudio descriptivo en 107 pacientes de Lima - Perú, que eran sospechosos de tuberculosis pulmonar, cuyos exámenes iniciales fueron negativos. Se les practicó el procedimiento de "seguimiento diagnóstico" con exámenes auxiliares diversos, demostrándose: que la radiología de tórax no es determinante en el diagnóstico de tuberculosis; que una tercera y cuarta baciloscopía, con su respectivo cultivo para Micobacterias, ayudan en un 10,28% a diagnosticar tuberculosis en estos casos; que el hemograma, el frotis de esputo con Gram y el cultivo para gérmenes comunes de esputo, descartan la tuberculosis en estos casos en un 93,70%; que la broncofibroscopía, el examen citológico de esputo y la búsqueda de* Pneumocistois carinii *no contribuyeron en el presente estudio. Se concluye que, en estos pacientes, sospechosos de tuberculosis, para hacer su diagnóstico diferencial antes de tomar una decisión terapéutica, el procedimiento de "seguimiento diagnóstico" propuesto fue de ayuda en un 97,19% de los casos.*

Palabras clave: Tuberculosis, diagnóstico diferencial, "seguimiento diagnóstico", Lima, Perú.

Introducción

En el Perú, a fines de la década del ochenta, la tuberculosis presentaba altas tasas de incidencia, subnotificación, tratamiento de sólo el 50% de los diagnosticados en los establecimientos del Ministerio de Salud, con una tasa de curación del 50% y de abandono superior al 40% (1). Frente a esta situación, el estado Peruano, a partir del segundo semestre de 1990, reestructuró el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNCT), de acuerdo a los objetivos de la OMS para lograr el control de la tuberculosis: a) diagnosticar al 70% de los enfermos con tuberculosis pulmonar bacilífera, b) curar a 85% de los enfermos diagnosticados con tuberculosis pulmonar bacilífera mediante tratamiento gratuito y supervisado en boca, c) vacunar con BCG a no menos del 90% de los recién nacidos (1,2).

La detección en el país de "sintomáticos respiratorios" (tosedores crónicos por más de 15 días), mejoró en calidad como en oportunidad de registro e información. La proporción de sintomáticos respiratorios examinados (2 baciloscopías) en relación a los registrados aumentó, 26%-36% en 1991, 71%-98% en 1992, 85%-86% en 1993/94, 90%-98,3% en 1995-2000 (3-7). Los sintomáticos respiratorios con baciloscopía positiva disminuyeron de 18,7% a 2,5% en el período 1990-2000, y la positividad de las bacilosocopías de 10,8% a 2,3% de las baciloscopías de diagnóstico (3-7). Sin embargo, existe una proporción de sintomáticos respiratorios, 8%-10% (8) de los examinados, que a pesar de tener sus dos baciloscopías negativas, presentan

síntomas, signos y radiografía de pulmones compatibles con tuberculosis (TB), a quienes se le practica seguimiento diagnóstico y diagnóstico diferencial (9). Aunque no existe un protocolo que sistematice el seguimiento diagnóstico que conduzca al hallazgo de otras patologías que puedan simular tuberculosis pulmonar.

El diagnóstico de tuberculosis pulmonar, confirmada bacteriológicamente, mediante baciloscopía, varió de 57,3% en 1991 al 80% en el 2000, y en el grupo ≥15 años, fue 69,0% en 1993 y 85,1% en el 2000. El cultivo diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* fue de 11,9% en 1996 y 5,8% en el 2002, lo cual significó que el aporte del cultivo al diagnóstico fue de 3,5% en 1996 a 4,8% en el 2000, lo cual resulta todavía insuficiente, llamando la atención la alta proporción de casos pulmonares que se diagnostican con baciloscopía positiva. El incremento en la detección de casos de tuberculosis en pacientes sospechosos que resultan negativos a la baciloscopía, sobretodo en los jóvenes, es una actividad que debe mejorarse con una mayor capacitación y participación del personal médico en el primer nivel de atención. Esto permitirá prevenir el diagnóstico tardío que determina la oportunidad perdida del diagnostico por cultivo. Asimismo debe involucrarse al médico en el diagnóstico diferencial de tuberculosis y en la decisión del tratamiento cuando por exclusión de otras patologías se llega a diagnóstico de tuberculosis.

Por ello en este estudio se propuso determinar las patologías respiratorias no tuberculosas luego de realizar el seguimiento diagnóstico en pacientes sintomáticos respiratorios con sospecha clínica de tuberculosis pulmonar, quienes tienen previamente frotis negativo y radiografía de pulmones anormal. Se busca con ello actualizar al personal médico, de la jurisdicción del estudio, para la realización adecuada del seguimiento diagnóstico, y protocolizar el seguimiento diagnóstico de otras patologías respiratorias con síntomas respiratorios, en pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar, para contribuir a la toma de decisiones oportuna y adecuada.

Materiales y métodos

Estudio descriptivo y prospectivo, en el que se realiza el seguimiento diagnóstico a pacientes sospechosos de tuberculosis pulmonar no demostrada bacteriológicamente, para descartar otras patologías antes de iniciar tratamiento antituberculoso.

Muestra - Se calculó en 105 pacientes, error 6%, precisión 90%, tasa de no respuesta 10%, asumiendo seguimiento 10% de los sintomáticos sobre 17 236 sintomáticos respiratorios identificados en los establecimientos de salud de estudio. Entre los atendidos entre 24/4/02 y 25/10/02 en 15 establecimientos de los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa El Salvador de la jurisdicción de la Dirección de Salud II "Lima Sur", con 2 baciloscopías negativas y sintomatología sugestiva de tuberculosis se incorporaron 107 de forma aleatoria.

Definiciones - Sintomático respiratorio BK (-) sospechosos de tuberculosis: Sintomático respiratorio con dos baciloscopías negativas, que tiene síntomas y signos clínicos e imágenes radiológicas sugestivas de tuberculosis (Rayos X anormal).

Radiografía anormal: Toda imagen patológica de radiografía de pulmones, incluyendo signos de derrame pleural.

Procedimientos - Dos baciloscopías adicionales, si negativas se deriva la segunda muestra para cultivo. Diagnóstico diferencial: a) Enfermedades infecciosas (neumonía bacteriana o atípica). b) Secuelas de patologías pulmonares (bronquiectasias, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar intersticial difusa, bulas, abscesos). c) Micosis pulmonar. d) Neoplasia. e) Enfermedad parasitaria pulmonar. f) Neumoconiosis, etc. Como parte del estudio de dichas patologías, se solicitaron los siguientes exámenes: a) Hemograma completo. b) Gram de esputo. c) Cultivo para gérmenes comunes. d) Examen directo y cultivo par hongos. e) Crioaglutininas. f) Citológico de esputo – Papanicolau- (3 muestras)- g) Estudio de parásitos (*Pneumocystis carinii*). Simultáneamente si el paciente continuaba con síntomas respiratorios se realizaron dos baciloscopías semanalmente. La toma de muestras se realizó en cada establecimiento de salud y fueron procesadas en el laboratorio del Hospital "San José" – Villa El Salvador. Si el caso lo requería se indicó tratamiento antibiótico a gérmenes comunes, evitando el uso de fluoroquinolonas (10). Si hubo adicionalmente un derrame pleural se realizó la respectiva toracocentesis y biopsia pleural para el estudio bacteriológico e histopatológico respectivo. Si el resultado de los exámenes resultó negativo o el cuadro clínico no revirtió con tratamiento antibiótico, se realizó una broncofibroscopía en el Servicio de Neumología del Hospital "María Auxiliadora". Una vez obtenido el resultado de todos los exámenes, el médico consultor tomó la decisión diagnóstica y dio las indicaciones terapéuticas respectivas.

Resultados

Se evaluaron 107 pacientes, edad media 39,79 años, (rango 15-82 años), mediana 38 años, 51,4% (55) de sexo masculino, aunque en el grupo etáreo de 20-29 años predominó el femenino y en el 30-49 años el masculino. El 37,4% refirió ocupación en su casa y el 22,4% obreros, 29,9% originarios de Lima y 31,7% del resto del país. En la tabla 1 se muestra la frecuencia de hábitos nocivos, que discriminada por individuos mostró hábitos nocivos en el 35% de los casos.

Tabla 1. Hábitos nocivos en pacientes enrolados en el seguimiento diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Tipo de hábito nocivo	Frecuencia	%
Drogas	2	5,26%
Tabaco	6	15,79%
Licor	20	52,63%
Café	25	65,79%
Total de pacientes com hábitos nocivos	**38**	**100,00%**

De los pacientes evaluados, 34 (31,8%) tuvieron antecedentes personales y 49 (45,8%) familiares de tuberculosis, y 67 (62,6%) tenía uno o los dos antecedentes. En ambos casos la historia del episodio más reciente se daba en un período < 2 años en la mayoría de casos (moda 2 años TB personal, 0 años TB familiar). El peso fue en promedio 55,56 kg, mediana 55 kg, rango 32-87 kg, la talla registró un promedio de 1,57 m, mediana 1,56 m, rango 1.32-1.75 m.

El diagnóstico presuntivo que se dio a estos pacientes en 105 casos (96,13%) fue de tuberculosis, en 2 casos bronquitis crónica. Como segunda alternativa en 18 pacientes se pensó en otra patología (tabla 2).

Tabla 2. Diagnóstico presuntivo alternativo en pacientes del seguimiento diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Diagnóstico Presuntivo 2º	Frecuencia	%
Amigdalitis aguda	1	5,56%
HIV	1	5,56%
Bronquiectasia Infectada	1	5,56%
Fibrosis	1	5,56%
Micosis Pulmonar	1	5,56%
Neumonía Basal Izquierda	3	16,67%
Bronquitis crónica	10	55,56%
Total	**18**	**100,00%**

En los 18 casos se sospechó también de TBC

En el seguimiento diagnóstico realizado a estos pacientes, las dos primeras baciloscopías resultaron negativas. En las dos baciloscopías siguientes y en el cultivo se diagnosticó a 11 pacientes con tuberculosis pulmonar (10,28%) (tabla 3). En estos 11 casos no necesariamente terminó su seguimiento diagnóstico, debido al tiempo en que se tuvieron los resultados.

Tabla 3. Resultado positivo en las baciloscopías y cultivo para micobacterias en pacientes del seguimiento diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Examen Bacteriológico	Frecuencia	%
1ra Baciloscopía	0	0,00%
2da Baciloscopía	0	0,00%
3ra Baciloscopía	2	1,86%
4ta Baciloscopía	1	0,93%
Cultivo para Micobacterias	10	9,34%
Total de Positivos	**11**	**10,28%**

Proporción en función de los 107 pacientes

Se obtuvo una radiografía estándar de tórax en 100 pacientes (93,5%), de los cuales en 47% el resultado fue anormal, los diagnósticos se ven en la tabla 4.

Tabla 4. Resultado de la radiografía estándar de tórax en pacientes del seguimiento diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Resultado de la Radiografía Pulmonar	Frecuencia
Derrame pleural unilateral	1
Infiltrado unilateral	10
Infiltrado bilateral	1
Infiltrado unilateral con cavitación	1
Radiografía anormal sin descripción especifica	31
Signos radilógicos inflamatorios inespecíficos	3
Total	**47**

En el seguimiento diagnóstico a 95 personas se les realizó un hemograma, cuyos resultados se presentan en la tabla 5. Se observa que se presentó un hemograma anormal en 93,68% de los casos en que se realizó este análisis, muchas de las fórmulas leucocitarias también son anormales, eosinofilia, incremento en las formas segmentadas de los neutrófilos (desviación derecha), linfopenia y linfocitosis. El hematocrito fue menor de 36% en 22 casos (23,66%), mediana 40% de hematocrito.

Tabla 5. Resultados del hemograma en pacientes del seguimiento de diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Hemograma	Frecuencia	%
Hemograma anormal	89	93,68
Leucopenia	32	34,41%
Leucocitosis	13	13,98%
Desviación izquierda	2	2,13%
Desviación derecha	48	51,06%
Eosinofilia	20	21,51%
Basofilia	1	1,08%
Monocitosis	1	1,08%
Linfopenia	23	24,73%
Linfocitosis	27	29,03%

El resultado de otros análisis para identificar causalidad nosológica, resultó en positividad Gram en esputo 56,8%, y de su cultivo para gérmenes comunes 59,5%. Se aislaron hongos mediante cultivo en el 32,5% de las muestras y las crioaglutininas fueron positivas (titulación mayor a 1/32) en 12,1%, mientras la detección de *Pneumocistis carinii* y el examen citológico no contribuyeron al diagnóstico (0,0%). El resultado de los 53 cultivos positivos a gérmenes comunes resultó de 1 (1,89%) para cada uno de los siguientes: Streptococos, *Streptococos aureus*, *Klebisella neumoniae,* Pseudomonas y *Candida albicans* y 48 (90,57%) para Streptococos hemolítico. Para los 28 diagnósticos de hongos los cultivos resultaron 1 (3,57%) levaduras e hifas, 3 (10,71%) levadura, 24 (85,71%) *Candida albicans*.

La broncofibroscopía no ayudo en el diagnóstico final luego del seguimiento diagnóstico.

Luego de la evaluación realizada mediante la estrategia denominada "seguimiento diagnóstico", el diagnóstico definitivo en estos 107 pacientes fue la expresada en la tabla 6 y en la tabla 7 se muestra la frecuencia de los otros diagnósticos.

Tabla 6. Frecuencia de los diagnósticos finales en pacientes del seguimiento diagnóstico de tuberculosis. DISA II Lima Sur 2002

Diagnóstico Definitivo	Frecuencia	%
Continua en seguimiento diagnóstico	3	2,80%
Tuberculosis	25	13,37%
Otro diagnóstico	79	73,83%
Total	**107**	**100,00%**

Tabla 7. Otros diagnósticos en pacientes del seguimiento diagnóstico de tuberculosis DISA II Lima Sur 2002

Diagnóstico Definitivo	Frecuencia	%
Micosis pleural	1	0,93%
Neumonía	3	2,80%
Bronquiectasia infectada	4	3,74%
Neumonía atípica	4	3,74%
Asma bronquial	5	4,67%
Bronquitis crónica	5	4,67%
Micosis pulmonar	8	7,48%
Bronquiectasia	10	9,35%
TB secuela	11	10,28%
Bronquitis	14	13,08%
Bronquitis aguda	14	13,08%
Total	**107**	**100,00%**

Discusión

El presente estudio descriptivo se realizó en 107 personas entre 15 y 82 años de edad, que fueron atendidas en 15 establecimientos del Ministerio de Salud de la zona urbano marginal del cono sur de Lima. De estos 30% eran procedentes de la ciudad de Lima, 22% obreros, 35% con algún tipo de hábitos nocivos y 64% con antecedentes de tuberculosis personal o en la familia. Todos ellos presentaban sintomatología compatible con tuberculosis pulmonar, mayormente tos con un tiempo de evolución superior a 15 días.

El "seguimiento diagnóstico" para casos sospechosos de tuberculosis que tienen dos exámenes baciloscópicos negativos (búsqueda de bacilos alcohol-ácido resistentes en frotis de esputo coloreado con técnica Ziehí Neelsen y microscopía óptica), se inicia en estos pacientes con la solicitud de dos exámenes baciloscópicos más y de un cultivo para micobacterias de la cuarta muestra de esputo.

Para 11 pacientes el procedimiento acabó con estas pruebas, ya que en tercera muestra hubo una positividad del 2.5% (2 muestras de 79), en la cuarta muestra del

2.2% (1 muestra de 46) y en el cultivo de 13.3% (10 muestras de 75). Esto quiere decir, que solicitando 2 muestras más y un cultivo, se podría diagnosticar tuberculosis pulmonar a un 10,28% (11 pacientes de los 107 iniciales) de los sospechosos que no se pudo detectar en las dos primeras baciloscopías.

Los demás pacientes continuaron el fluxograma de procedimientos para descartar la tuberculosis con la solicitud de un hemograma y fórmula leucocitaria, hematocrito, estudios varios de esputo (frotis para Gram, cultivo para gérmenes comunes, cultivo para hongos, detección de *Pneumocistis carinii*, examen citológico con técnica de Papanicolaou) y examen broncofibroscópico.

El protocolo de "seguimiento diagnóstico" propuesto en este estudio, ayudó a aclarar el panorama en 104 casos de los 107 (97,2%), que tuvieron un diagnóstico final.

La broncofibroscopía, la búsqueda de *Pneumocistis carinii* y el examen citológico en esputo no contribuyeron al diagnóstico. El hematocrito, el cultivo de hongos y las crioaglutininas contribuyeron poco en el descarte de tuberculosis.

En conclusión, el protocolo de "seguimiento diagnóstico" propuesto, en la población estudiada, definió la patología de los pacientes con sintomatología sospechosa de tuberculosis, antes de tomar una decisión terapéutica.

El hemograma, el frotís con coloración Gram y cultivo en esputo, juntos, colaboraron en descartar tuberculosis en un 93,7% (74 de 79 pacientes que se hicieron las tres pruebas y el diagnóstico final no fue tuberculosis).

La radiografía nos ayuda a identificar anormalidad en pulmones, pero existen diferentes patrones muy inespecíficos (14) que sin la ayuda de la bacteriología no podría llegarse a na conclusión diagnóstica.

Finalmente, el proceso de seguimiento diagnóstico, contribuyó en 10,28% en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

Referencias

1. Suárez PG. El control de la tuberculosis en el Perú y sus logros en el periodo 1990 - 2000. Tuberculosis en el Perú. Informe 2000. Ministerio de Salud. Perú. 2001.
2. Organización Mundial de la Salud. Tratamiento de la tuberculosis: Directrices para los Programas Nacionales. Ginebra, Suiza. 1997.
3. Ministerio de Salud. Capítulo IV. Información estadística. Tuberculosis en el Perú. Informe 2000. Perú. 2001.
4. Ministerio de Salud. Seminario Taller Nacional: Evaluación del Programa de Control de la Tuberculosis. Año 1991. Perú. 1992
5. Ministerio de Salud. Tuberculosis en el Perú. Informe anual - Perú 1992. Perú 1993.
6. Ministerio de Salud. Tuberculosis en el Perú. Informe 1996. Perú. 1997.
7. Ministerio de Salud. Informe de evaluación del Programa de Control de la tuberculosis del Perú. 5 al 16 de abril de 1999. Tuberculosis en el Perú. Informe 1999. Perú. 2000.
8. Ministerio de Salud.Actualización de la doctrina, normas y procedimientos para el control de la tuberculosis en el Perú. Perú. 2001.
9. Harries A, Maher D. TB/VIH. Manual clínico para América Latina. WHO/TB/96.200(S). Organización Mundial de la Salud. 1997.
10. Yoon YS, Lee HJ, Yoon HI, Yoo CG, Kim YW, Han SK, Shim YS, Yim JJ. Impact of fluoroquinolones on the diagnosis of pulmonary tuberculosis initially treated as bacterial pneumonia**.** Int J Tuberc Lung Dis 9, 2005: 1215-1219.
11. Miranda G, Diaz J. Manifestaciones radiográficas de la tuberculosis pulmonar. Rev Clin Radiol 10, 2004: 178-182.

Epidemiología de la TBC en indígenas y su relación con la accesibilidad cultural-geográfica a los servicios de salud

Mayling Chacare; Colaboradora, Maria Elena Morales; Centro Amazónico de la Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar" (CAICET), Unidad de Tuberculosis; Programa Integrado de Control de la Tuberculosis del Estado de Amazonas (PICTA), Venezuela

Resumen: *Se identificaron en la población indígena del estado de Amazonas los factores relacionados con la enfermedad y muerte por TB, estableciendo las relaciones entre el comportamiento epidemiológico de la TB y la accesibilidad cultural y geográfica a los servicios de salud y a las medidas de control. Se realizó un análisis epidemiológico de tasas diferenciales entre etnias y con no indígenas, y un estudio del componente sociocultural mediante entrevistas y estudio de casos (análisis del discurso). La mayor incidencia de TB en poblaciones indígenas en el estado de Amazonas es consecuencia del proceso histórico de exclusión y desigualdad que han vivido con relación a la sociedad nacional y que no necesariamente tienen que ver con la accesibilidad geográfica. Dentro de este proceso se destaca la distribución desigual y concentración de los servicios públicos, y las políticas integracionistas que han provocado migraciones hacia los centros urbanos, marginalización y adaptación cultural en un medio desfavorable. A partir de los resultados se recomienda: 1) Disminuir el retardo de diagnóstico con búsqueda activa, adiestramiento del personal de salud, adaptación cultural (síntomas) y pertinencia lingüistica según etnia, y comunicación respetuosa entre agentes de salud y médicos tradicionales incorporándolos en la red de diagnóstico. 2) Mejorar la calidad de los datos recolectados para el PICTA. 3) Desarrollar proyectos de investigación específicos según se detalla en la discusión.*

Palabras clave: Tuberculosis, indígenas, factores socioculturales, análisis del discurso, Venezuela.

Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa que, desde 1993, es considerada por la OMS una emergencia global (1). Estudios cualitativos en Salud Pública asocian la incidencia de TB con las condiciones de pobreza, inequidad y exclusión y que factores políticos, económicos y sociales determinan en el éxito del tratamiento (2-4). Otros factores pueden agruparse a su vez en aquellos relacionados con la clínica de la enfermedad como la evolución lenta, síntomas inespecíficos, cronicidad y resistencia (5, 6). En los últimos 23 años las tasas de incidencia de TB cada 100.000 habitantes se estiman para Venezuela en 23,8-28,2 casos, sin embargo en el estado de Amazonas durante el período 1995-2000 esta tasa fue de 51,8 en población general y 87,4 para población indígena (7).

En el estado Amazonas, de 183.500 Km^2, se distribuyen 19 etnias indígenas (45% de la población). Las tasas más altas de TB se registran en las etnias Baniva-Baré y Kurripaco (Arawako) con 2.286 y 5.813 integrantes respectivamente, en los Huottöja

o Piaroa con 12 000 personas, y en los Jivi con 17.586, cada una con patrones culturales, históricos y de distribución geográfica diferentes. Se debe tener en cuenta además que en la sociedades indígenas se establece una fuerte relación entre salud, enfermedad y medio natural, donde es difícil establecer cadenas causales de tipo físico y el carácter de la enfermedad es mágico-religioso (8-11).

El sistema de salud del estado, por otra parte, es centralizado y está dividido en 7 distritos que coinciden con la división municipal. El Distrito Capital, Atures, posee el único hospital (HJGH), el 75% de los Servicios de Salud, la coordinación del Programa Integrado de Control de la Tuberculosis del Estado de Amazonas (PICTA) y el laboratorio de referencia regional (UITBC). Estas instituciones han creado una red diagnóstica que funciona desde 1998 y realizan investigaciones operacionales. A partir de esta se destacó la dimensión del problema TB entre los pueblos indígenas, y su relación a factores socioculturales (12-14). Con el objeto de sistematizar y profundizar las investigaciones operacionales ya realizadas, esta investigación se propuso identificar en la población indígena del estado de Amazonas los factores relacionados con la enfermedad y muerte por TB, y establecer las relaciones entre el comportamiento epidemiológico de la TB y la accesibilidad cultural y geográfica a los servicios de salud y a las medidas de control con el objeto de ofrecer al PICTA herramientas para desarrollar estrategias específicas que consideren el contexto histórico y social en que se desenvuelven estas poblaciones.

Materiales y métodos

Componente epidemiológico - La información de morbilidad entre los años 1980 y 2003, incluyendo etnia, residencia y datos de diagnóstico, se recolectó de fuentes secundarias, datos de PICTA, historias médicas de HJGH e Instituto Nacional de Estadística (INE) y Epidemiología Regional (ER). La información se comparó, corrigió y completó con la base existente en el PICTA (*EpiInfo* versión 6.04). La información de mortalidad se recolectó de los registros de tarjetas de defunción y egreso por defunción por TB en el HJGH, y se construyó una base en *EpiInfo* versión 6.04. La información se completó con los anuarios epidemiológicos (Dir. Epidemiología). Para disminuir las fluctuaciones en las tasas se calculó el promedio por trienio y la población estimada para el año intermedio, obtenida de la proyección de los censos 1980, 1982, 1990 y 1992 (15), para las poblaciones indígenas se calcularon las tasas anuales y trienales. Las tasas de incidencia y mortalidad son expresadas en casos por 100.000 habitantes. El abandono, confirmación y letalidad en porcentual. Para el abandono se consideró como denominador a los casos totales por grupo étnico. La confirmación se calculó con el número de casos de TB pulmonar confirmados bacteriológicamente (serie P) y el total de casos de TB pulmonar confirmados o no (serie N y serie P).

Componente sociocultural

UNIVERSO DE ESTUDIO: Pacientes indígenas y no indígenas activos o egresados por curación, registrados como abandonos, familiares de fallecidos por TB, y personal de salud en estrecha relación con los pacientes.

CRITERIO DE SELECCIÓN: De la base de PICTA: personas serie P, de etnias más afectadas según resultados estudio epidemiológico y de municipios con mayor y menor cantidad de casos y servicios (Atures y Guainía respectivamente).

METODOLOGÍA: Entrevistas mediante cuestionario semi-estructurado de datos socio-históricos, dejando que el entrevistado decida el orden de descripción (construcción de la vivencia personal mediante la memoria), observación participante, fuentes bibliográficas (textos etnográficos y de historia local) y entrevistas informales. Se estudiaron, a partir de las entrevistas semi-estructuradas, las narrativas sobre el evento *padecimiento de enfermedad* mediante el análisis del discurso (16), desde la percepción del paciente y la del personal de salud. Ambos dentro del contexto histórico, geográfico y sociocultural.

MANEJO DE DATOS: Las entrevistas fueron transcritas literalmente, y luego desglosadas en una base de datos (*FileMaker* 6.0) en fichas de datos con dos tipos de información.

A) Datos generales
   1) Datos generales del paciente.
   2) Datos clínicos del paciente en la base del PICTA.
   3) Origen, migraciones.
   4) Trabajo.
   5) Hogar.
   6) Acceso a centros de salud.
   7) Archivo de fotos.

B) Temas o variables sobre la base de la pregunta *lo que dijo sobre*:
   1) Comienzo.
   2) Síntomas.
   3) Estado físico.
   4) Ideas de contagio o transmisión.
   5) Causas o de dónde viene.
   6) Nombre de la enfermedad.
   7) Antecedentes familiares.
   8) Búsqueda de ayuda.
   9) Quien le dio el tratamiento.
   10) Cómo se sintió con el tratamiento.
   11) Actuación del PICTA.

ANÁLISIS: Los relatos de cada tema se resumieron en acciones o locuciones como *eso lo llevo en la sangre*, *me echaron el daño*, *me echaron camajai*, *comenzó con una gripe*, etc. Esas locuciones se agruparon en variables que se codificaron para poder analizarlas en frecuencias. En el caso de la variable *Síntomas* además se respetó el orden en el cual fueron nombradas. Debido a que no todos los entrevistados dieron respuesta a todas las variables se encuentran diferentes totales para cada una de ellas.

Estudio de caso: para la reconstrucción de la vivencia de la enfermedad en un contexto más amplio (17, 18) se realizaron entrevistas semi-estructuradas a cuatro

médicos (1 urbano, 1 rural, 2 rurales de Misión Barrio Adentro) y a dos pacientes en tratamiento, las entrevistas fueron grabadas previo consentimiento, giraron sobre: cómo se contacto al paciente, síntomas que describió el paciente, cómo surge el diagnóstico, problemática y limitaciones al hacer su trabajo.

Resultados

Componente epidemiológico - Se revisaron 1.500 registros de los que se obtuvieron 1.250 casos ingresados al Programa entre 1980-2003. La Tasa de Incidencia Anual (TI) osciló entre 235,6 casos en 1980 y 39,6 en el 2003. Las mayores oscilaciones se observan en la década de los 80, estabilizándose en los 90. El número total de casos confirmados para el período de estudio fue de 772 (61,8% del total) y la TI de casos confirmados bacteriológicamente (baciloscopía y/o cultivo) muestra un comportamiento similar al de la tasa general. El porcentual de confirmación oscila entre 40,6% (1980) y 94% (2003).

Las TI discriminada por grupos étnicos mostró diferencias de magnitud hasta 10 veces mayor para indígenas (septenio 1997-2003, 1980-1996 sin registro de etnia). Las TI fueron para los Baniva-Baré 211,19, Piaroa 76,40, Jivi 68,78, Kurripaco 60,22, Yanomami 50,42, no indígena 23,46. En casos totales el mayor número corresponde a las etnias Jivi y Piaroa. La TI por edad mantiene la diferencia significativa para cada grupo etario, pero especialmente a partir del de 15-24 años. La TI por sexo presentó un comportamiento similar al de la incidencia general, con algunos años con más casos femeninos pero sin diferencia significativa ($p=0,4$). Al comparar el porcentaje de abandono el comportamiento no es homogéneo entre los grupos étnicos, con un rango que abarca desde los Baniva-Baré, seguidos por los Piaroa abandono < 5% hasta los Kurripaco donde alcanza el 25%, e intermedio en no indígenas.

El mayor número de casos ocurre en el Municipio de Atures, 245 casos, principalmente en Puerto Ayacucho y los ejes carreteros Norte y Sur. Los municipios con menor cantidad de casos son Atabapo con 14, Guainía con 7 y Alto Orinoco con 13 casos. Por otra parte el municipio con la TI más alta resulto Manapiare y los de TI menor Atabapo, Guainía y Alto Orinoco (información desde 1995 cuando entra en vigencia la división municipal actual)

Para las tasas de mortalidad los datos no están sistematizados y existen vacíos de información en algunas variables, como etnia, y a su vez discrepancia entre las distintas fuentes de información. Se revisaron 1450 registros de defunciones de 1980 al 2004, de los cuales 13 pertenecían a TB en cualquiera de sus formas. La Tasa de Mortalidad (TM) resultó entre 14,6 y 2,93, con un coeficiente de correlación con el año de $r^2= 0,535$, y una tendencia no muy marcada a la disminución, con dos sectores sinusoidales de la curva entre 1980-1990 y 1991-2003 y un ligero aumento en 1997-2003. La Tasa de Letalidad (TL), con un rango entre 4,79% y 24,35%, fue relativamente constante de 1980 a 1993, con un pico entre 1993 y 1996 y aumento progresivo a partir de 1997 hasta el 2004. La TM para el sexo masculino fue significativamente más alta que para el sexo femenino ($p<0,05$) en los años 1985 y 1993, y superior en la mayor parte del período. Sin embargo en 1984 la TM fue

significativamente mayor para el sexo femenino ($p<0,05$). Por grupo etario la tasa aumenta progresivamente hasta los 64-74 años disminuyendo en el grupo >75 años. En relación con la etnia (sólo en base PICTA, período 1997-2003) la TM resultó en los Baniva-Baré > Jivi > Kurripaco > Yanomami > Piaroa > No indígenas, y en número de casos los Jivi con (45,8%) > Piaroa con 4 (16,7%) > No indígenas con 3 (12,5%) y los Baniva -Barré, Kurripaco y Yanomami con 2 (8,3%). Sin embargo la TL fue Jivi > Kurripaco ≈ Yanomami > Baniva-Baré > Piaroa > No Indígena.

Componente sociocultural - Entre agosto del 2004 y enero del 2005 se realizaron entrevistas a 40 pacientes: 13 en tratamiento, 1 de abandono, 26 con tratamiento finalizado entre 1987-2003, y a la familia de un fallecido, en 5 casos (1 abandono) se realizaron conversaciones informales. Según etnia (mujeres: hombres) fueron 5 (2:3) Baniva, 2 (0:2) Baniva/Kurripaco, 6 (5:1) Baré, 7 (5:2) Kurripaco, 10 (3:7) Jivi, 7 (4:3) Piaroa, 1 (1:0) Yeral, 2 (1:1) No Indígena, en éste ultimo grupo hubo dificultades de identificación y de rechazo. El 55,0% de los entrevistados eran de Puerto Ayacucho, 27,5% de Maroa, 12,5% de San Pablo de Cataniapo y 5,0% de Manapiare.

Los entrevistados mencionaron hasta 4 causas de TB, 69% la atribuyó a una causa única, 19% a dos causas, 9% a tres y 3% (1 caso) a las cuatro causas. La predominante fue el *daño* (14%) seguida de *contagio directo de otra persona* (8%) y gripe (6%). Se identificaron 24 síntomas, como primero recuerdan gripe 18,9%, en segundo lugar 20,6% mencionan tos seca y fiebre (n=34). La *tos con moco* sólo es recordado por un paciente como segundo síntoma. Si se restringe el universo de entrevistas a las personas que estaban recibiendo tratamiento (n=9) la tos seca es el primer y segundo síntoma más mencionado con 20% y 44% respectivamente. La idea de la transmisión está relacionada principalmente con el contagio, 35% mediante vehículo (tomar del mismo vaso, comer del mismo plato, pelos que caen en comida), 10% de otra persona directamente, 3% mencionan saliva y aire. Por otra parte 5% menciona transmisión hereditaria, 8% no saben y 23% no la asocian a ningún contagio.

Los Baré fueron los únicos en plantear la transmisión hereditaria ya que el 57% de los entrevistados dijeron tener antecedentes familiares de TB. Todas las etnias tienen idea de la transmisión por vehículo, la directa de otra persona es mayor en los Piaroa (33,3%), el *daño* sólo aparece en los Jivi y Kurripaco, y los últimos son los que menos asocian a la TB con una enfermedad transmisible (42,9%) coincidiendo en considerar como causa al *camajai* (alimentos o venenos). De las personas entrevistadas 83% presentaba síntomas, 62% recuerda estar en condiciones de *flacura*, *secando*, *flaquita* que se categorizó como pérdida de peso, cansancio y debilidad 18%, y escupir sangre 3%. A partir de las narrativas se establecieron 10 itinerarios, 3 relacionados a la búsqueda de atención médica en el centro de salud y los 7 restantes (58% de entrevistados) incluye de alguna u otra forma la visita al shamán, curandero o brujo. El 56% recuerda haber sido diagnosticado en la segunda búsqueda de atención. En primer lugar acuden al shamán 31%, seguido por la búsqueda del ambulatorio (22%), de estos últimos el 87,5% vuelve a buscar el ambulatorio más de dos veces con un máximo de 6 visitas. Como segunda opción de búsqueda prevalece el ambulatorio y de estos el 67% lo busca en más de dos ocasiones.

Estudio de caso - Se estudiaron dos casos:

Ana de 22 años, habitante del sector Temblador en Maroa de etnia Kurripaco, empleada de limpieza de la Alcaldía, con un familiar cohabitante shamán. Se le detectó TB en Puerto Ayacucho el 17/07/04, y *escapó* dos veces del hospital durante el tratamiento, tras lo cual el PICTA decide darle tratamiento en la casa.

José de 18 años (según autoreferencia aunque sin certeza), se autodenomina Jivi, vive en un área periurbana de Puerto Ayacucho a orillas del Orinoco, su caso fue detectado por una médica cubana de la misión Barrio Adentro mediante búsqueda activa. *José* tiene historial de abandono al tratamiento realizado por el ambulatorio y detectado por el supervisor del PICTA.

Los médicos de Barrio Adentro hablaron con la comunidad para que colabore con el suministro del medicamento. No es posible por cuestión de espacio transcribir los discursos del paciente y del personal de salud analizados en este estudio de casos, y su fragmentación excesiva en un resumen puede falsear el contexto. Por ello se remite directamente a la discusión de las mismas, si existe interés en las narrativas originales se recomienda contactar a las autoras.

Discusión

En el estado de Amazonas las tendencias de incidencia y mortalidad de TB son similares con altas tasas en la década de 1980, disminución en la de 1990 y ligero aumento hacia el 2000. Por otra parte la letalidad se mantiene estable hasta 1993, con un aumento brusco que hace pico en 1997 y desciende, aumentando nuevamente hacia el 2000. Estos patrones se deberían a un mejor diagnóstico (80% confirmación bacteriológica 2002), pero de manera tardía, tal como sugiere el aumento en las tasas de mortalidad y letalidad.

Las TI en indígenas pueden llegar a ser diez veces la encontrada en no indígenas, equiparable a la de países con alta prevalencia de HIV-TB (1), con tasas de 211,2 en algunos grupos. En los registros de 7 años del PICTA el 85% de defunciones (n=23) por TB corresponden a indígenas, consistente con la alta correlación ya descripta entre ser indígena y mortalidad por TB (19). La TM más alta fue entre los Baniva-Baré, pero la TL es más alta entre los Jivi, similar a la de Kurripaco y Yanomami. Estas últimas tres etnias también tuvieron las más altas tasas de abandono, aunque no se pudo cuantificar esta asociación debido a las características de los datos del PICTA (sólo registrado último egreso). Los resultados de casos Jivi y Kurripaco, así como los estudios de casos muestran problemas de adherencia al tratamiento, lo que sugiere una relación abandono-letalidad. Las TM por grupo etario en indígenas y no indígenas no difieren de lo registrado para Venezuela y otros paises aumenta en proporción con la edad (7, 19). Por otro lado en Amazonas las TM de TB según sexo no es un reflejo de la accesibilidad a la atención (20) ya que estas no presenta diferencias significativas. Aunque la mortalidad fue mayor para el sexo masculino esto se ha relacionado con la subnotificación para el sexo femenino (21, 22).

La influencia de factores socioculturales asociados a la accesibilidad al servicio del Sistema de Salud y las tasas resultantes puede analizarse desde el propio registro

de la variable etnia o la actitud del personal de salud. La variable etnia en los registros del PICTA no está claramente definida, los límites entre indígena y no indígena en el ámbito urbano multiétnico es difuso. El concepto de etnia es una construcción social, que responde más a procesos socio-históricos de auto-representación que a categorías definidas. Por ello esta variable no siempre es representativa como indicador de modo de vida o espacio geográfico, con los cuales se puedan asociar factores de riesgo. En este estudio se observó que este problema puede reflejarse en subregistro y/o subnotificación, relacionado con la dificultad para la identificación de estas categorías, como ocurrió en las personas registradas como no indígenas que en la entrevista se reconocían parte de una etnia. Este hecho determina que la no identificación como parte de un grupo étnico disminuya el número de personas de ese grupo y se produzca la disminución de la TM para unos y el aumento para otros (23).

Con relación al personal de salud se observó que la mayoría de las personas visitan el ambulatorio más de dos veces con un máximo de seis, a pesar de ser la gripe y la tos en segundo lugar los síntomas más recordados. En forma coherente el 80% de los entrevistados fueron diagnosticados en la capital del estado, pues en los primeros niveles de atención no se pensó en TB. *Ana* fue diagnosticada como *caso social* asociando su modo de vida y desnutrición como *típicas* de la población indígena, lo que impidió el diagnóstico de TB. La caracterización del caso como *callada* y *difícil* no implicó por el profesional la búsqueda de estrategias de comunicación adecuadas para apreciar los síntomas. Los dos casos estudio, catalogados como *difíciles*, presentaron falta de adherencia al tratamiento, resuelta luego con propuestas adaptadas al contexto de cada uno. Entonces surge que parte del problema de la relación médico/paciente es determinar quien es responsable de la curación. Para el personal de salud son ambos, esperando del paciente *colaboración*, sin embargo se puede estar obviando la visión de éste quien no identifica necesariamente a la enfermedad como *su* problema. La principal responsabilidad del sistema es cortar la cadena de transmisión, la actitud del paciente no puede ser un obstáculo hacia esa meta, deben buscarse las estrategias necesarias para una buena adherencia al tratamiento como se hizo en el caso de *José*.

De los factores socioculturales inherentes al paciente se observó que fueron recordados 24 síntomas de TB, como se dijo el primero y segundo fueron gripe y tos seca respectivamente, sin desglosar o desglosado por etnias. A pesar de ello refieren que se les diagnosticó *gripe pasmada*, *bronquitis*, *parásitos, neumonía, asma*. En el momento del diagnóstico el 62% presentaba pérdida de peso y baciloscopía de dos y tres cruces, lo que indicaría diagnóstico tardío. A su vez el shamán como primera búsqueda de ayuda coincide con la principal causa asociada a la enfermedad, el *daño*. Sin embargo de las 14 personas que visitaron el shamán 71% fue animado a buscar ayuda en el ambulatorio por tener una *enfermedad natural*, y a dos de ellos diagnosticados por el shamán como TB éste les aconsejó buscar atención médica. Los otros pacientes fueron detectados por búsqueda activa reflejando la importancia de esta actividad. Un entrevistado, que tenía un *camajai,* no podía visitar al shamán por ser evangélico, pero luego de acudir al ambulatorio y recibir el diagnóstico de TB visitó al curandero y se sintió mejor. También se observó una mejor adherencia en personas identificadas como evangélicas, y lo contrario entre aquellos que no lo

hacían y localizaban el *daño* en el cuerpo (Jivi y Kurripaco *maguaris* en garganta, Kurripaco *camajai* en estómago). Así, la búsqueda de ayuda tradicional y biomédica occidental no resultaron excluyentes, fenómeno que se ha extendido a la población general.

Se ha propuesto que la evolución lenta de la TB puede tener como consecuencia no adherencia al tratamiento en la detección temprana (24). En este trabajo 2/3 abandonos tenían TB avanzada y el restante, diagnosticado por cultivo, no se sentía enfermo aunque tosía irregularmente. Pero nuevamente este es un problema no específico de las poblaciones indígenas.

Entre los aspectos asociados al contexto cultural, la distribución geográfica desigual de los servicios de salud, con alta centralización en las zonas urbanas del estado Amazonas, y la posible separación en el tiempo entre la primoinfección y el desarrollo de la enfermedad, pueden explicar la alta TI entre poblaciones indígenas. Los Arawako tienen una historia de disminución demográfica y migración forzada desde tiempos coloniales (25), con adquisición de nuevos valores, y la más alta tasa de TI. El 75% de los entrevistados afirmó tener antecedentes familiares con TB, remontándose tres generaciones, antes y durante la migración a Puerto Ayacucho, aunque la instalación en las periferias urbanas facilitó el acceso a los centros de diagnóstico. El 71% de los Baré provienen de la cuenca del Río Negro, el 100% de los Kurripaco de la del río Guainía (Alto río Negro), el 71% de los Baniva de Maroa (río Guainía), y los Piaroa situaron su origen (primera y segunda generación ascendente) en el Alto Cuao, área ancestral aislada de los centros urbanos. Este último pueblo desarrolló una etiología de la TB asociando un conjunto de síntomas, agrupados bajo el concepto de *Warepä* o *Hüarepa* (26, 27), los términos para signos y síntomas, así como la transmisión persona a persona, fueron reconocidos vivencialmente por los Piaroa mayores y referencialmente por los jóvenes entre 20 y 25 años entrevistados en este estudio. También pertenecen a esta etnia los dos shamanes que diagnosticaron correctamente la TB. Los Piaroa reconocen que antes la *Warepä* era mortal, es posible que las migraciones y la actitud positiva frente a la medicina occidental a consecuencia de la influencia de evangelistas norteamericanos hayan cambiado esta situación, con una de las tasas más bajas de abandono. En el caso de los Jivi el mayor número de casos de TB también puede ser explicada a partir de su historia social reciente, provenientes de los llanos de Colombia, hoy en barrios multiétnicos, esta etnia ha sido estigmatizada por las sociedades indígenas y criolla dada su *gran movilidad* y *extroversión,* y presenta hoy una gran variabilidad de modos de vida desde comunidades con sistema de conuco, caza y pesca hasta asalariados urbanos. Aquí hemos encontrado las más altas TM y TL entre los Jivi y Kurripaco, las experiencias dentro de PICTA indican que en los Jivi se encuentran más afectados aquellos con trabajos temporales como migrantes por cosecha y recolectores de basura.

Uno de los aspectos más relacionados con la especificidad cultural es el lenguaje. Existen evidencias que los problemas de comunicación entre el personal de salud y los pacientes pueden determinar incluso la búsqueda de ayuda y producir diagnósticos erróneos, así como las diferencias de género debido a la mayor presión en hombres hacia el bilingüismo. Por otra parte, las diferentes concepciones de los pacientes

sobre el manejo de los procesos de enfermedad y contagio, juegan un papel importante en el diagnóstico y tratamiento de TB. En este sentido ya se discutió más arriba el caso de los Piaroa y el *Warepä*. Los Baré, también con antecedentes familiares, son los únicos que asocian TB con transmisión hereditaria, aunque presentan bajas tasas de abandono al tratamiento. Etnias con altas tasas de abandono, como los Kurripaco, asociaron el *daño* o *Camajai*, y sus malestares estomacales y de garganta con los efectos del tratamiento. Finalmente el rechazo a la entrevista de No Indígenas implica el conocimiento de estigma y exclusión asociado a TB.

El estudio de los dos casos ejemplifica varios de estos aspectos. En el caso *Ana* el principal problema fue el retraso del diagnóstico por la sintomatología inicial, dificultades de comunicación, asociación pobreza-salubridad-desnutrición-indígenas y falta de experiencia por el personal de salud. El segundo problema fue el abandono al tratamiento dos veces debido a la sensación de incomodidad en el Hospital de escasos recursos y atención homogeneizada, la posibilidad de tratarse con su suegro shamán en la casa (aunque para ella no son excluyentes los tratamientos), y el efecto del propio tratamiento antituberculoso en el estómago (recrudecimiento del *Camajai*). El PICTA en Puerto Ayacucho con supervisión estricta de tratamiento y atención personalizada, permaneciendo el paciente en la casa de los suegros, logró la curación del caso.

En el caso de *José* el diagnóstico tardío puede estar también relacionado a la evolución de la clínica. Los síntomas no le impedían realizar actividades aunque presentaba una importante pérdida de peso, lo que vuelve a indicar la necesidad de la búsqueda activa. El desencuentro en la identificación o priorización de la tuberculosis como problema por el paciente fue el detonante para la no adherencia al tratamiento, mientras en el equipo de salud ya existía el preconcepto que los Jivi son *difíciles* para tomar el tratamiento. Cuando los agentes de salud identificaron que el diagnóstico y tratamiento de la TB no es sólo un asunto del paciente sino también del sistema de salud esto permitió conseguir estrategias que se adaptaron a la complejidad de la situación de *José*, en un proceso de migración reciente y adaptación cultural, y con varios miembros de la familia con TB.

En ambos casos se presentaron problemas de accesibilidad no para llegar al ambulatorio sino para ser atendidos, junto a una continuidad histórica de la cadena de transmisión de la TB. Se presentaron claramente problemas de comunicación, aunque ambos son bilingües, asociados a las ideas preconcebidas acerca de las poblaciones indígenas. Los dos viven en zonas perirubanas con dificultades históricas de acceso a los servicios en general. Los dos estudios de caso reflejan a su vez la excesiva *medicalización* en el análisis del problema de la enfermedad y la curación donde aparecen como únicos responsables el médico y el paciente, sin relación con el estilo de vida, contexto cultural, factores estructurales, políticos y socioeconómicos (28).

En conclusión la mayor incidencia de TB en poblaciones indígenas en el estado de Amazonas es consecuencia del proceso histórico de exclusión y desigualdad que han vivido en relación con la sociedad nacional. Dentro de este proceso se destaca la distribución desigual y concentración de los servicios públicos, y las políticas integracionistas que han provocado migraciones hacia los centros urbanos, marginalización y adaptación cultural en un medio desfavorable. Por lo tanto es

necesario que las políticas elaboradas para solucionar los problemas de salud de estas poblaciones sean diseñadas en función de sus necesidades y su especificidad sociocultural y geográfica garantizando la igualdad y equidad. Y sean elaboradas junto de otras políticas gubernamentales (vivienda, educación, etc.), para que de esa manera se garantice la construcción de soluciones integrales y sólidas.

Por ello, en función de los resultados, se recomienda para contribuir al diseño de estrategias de control mejor adaptadas a las especificidades socioculturales, en el marco PICTA:

1. Disminuir el retardo de diagnóstico con:
   a. jornadas regulares de búsqueda activa en áreas aisladas, barrios multi-étnicos y asentamientos semi-nómadas;
   b. adiestramiento en búsqueda activa en el primer nivel de atención (PNA), con formación en adaptación cultural (síntomas) y pertinencia lingüística; y con una remuneración satisfactoria;
   c. apoyo logístico al PICTA para la supervisión del PNA;
   d. incorporar a los médicos tradicionales en la red de diagnóstico por medio de una comunicación respetuosa entre saberes.
2. Mejorar la calidad de los datos del PICTA, delimitando mejor la variable etnia, incorporando:
   a. la historia clínica en la atención médica del PICTA;.
   b. entrevista social del paciente;
   c. personal del área social al PICTA; d) historial de egresos.
3. Desarrollar proyectos para investigar la asociación entre:
   a. incidencia, abandono y estilo de vida entre los Jivi;
   b. estigma y registro entre no indígenas;
   c. efectos de tratamiento, religión y abandono entre los Kurripaco;
   d. enfoque de género y bilingüismo

Referencias

1. WHO. Tuberculosis. Fact Sheet No 104. En: World Health Organization, 2005.
2. Farmer P. The consumption of the Poor: Tuberculosis en the Late Twentieth Century. En: Farmer P, editor. Infections and Inequalities. The modern plagues. Berkeley Los Angeles London: University of California Press, 2001: 184 - 210.
3. Porter J, Grange J. Tuberculosis. An Interdisciplinary Perspective. Londres: Imperial Collage Press, 1999.
4. Buchilet D. Tuberculose, cultura e saúde pública. En: Universidad Nacional de Brasilia, 2000.
5. Demissie M, Lindtjorn B, Berhane Y. Patient and health service delay in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Ethiopia. Public Health 2, 2002: 23.
6. Needman D, Foster, SD, Tomlinson G, Godfrey-Faussett P. Socio-economic, gender and health services factors affecting diagnostic delay for tuberculosis patients in urban Zambia. Trop Med Int Health 6, 2001: 256-259.
7. Programa Integrado de Control de Tuberculosis y Enfermedades Pulmonares. Evaluación Epidemiológica y Operacional. Programa de Tuberculosis Año 2003. Caracas: Ministerio de Salud y Desarrollo Social, 2004.

8. Perera M. Medicina tradicional indígena. Medicina occidental. Compatibilidades y oposiciones. En: Perera M (Ed). Salud y Ambiente. Contribuciones al Conocimiento de la Antropología Médica y Ecología Cultural en Venezuela. Caracas: FACES/UCV, 1997.
9. González Ñañez O. Los Arawakos del Guainía vistos a través del Caso Warekena: "Fronteras, colonización e identidad". La Iglesia en Amazonas 1988(42-43).
10. Overing J. Images of Cannibalism, Death and Domination a "Non Violent" Society. In: D R, editor. Anthropology of Violence. Oxford: Blackwell, 1986.
11. Perdomo A. Estudio preliminar sobre etnobotánica con el grupo Uhuottoj'a de la región del Autana [Tesis de Licenciatura]. Caracas: UCV, 1988.
12. Ortega D. Tuberculosis pulmonar y su control. Algunos aspectos microbiológicos y epidemiológicos de interés en el municipio Atures. Estado Amazonas. CONICIT 96/ 003. Informe final. Puerto Ayacucho: Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar". CAICET, 2005.
13. Sánchez G. Investigación Epidemiológica y Operacional para el Control de la Tuberculosis en el Estado Amazonas. Puerto Ayacucho: Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar". CAICET, 1999.
14. Sánchez G. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Lung Health among aboriginal population in Latin America 6, 2002:16.
15. Oficina Central de Estadística e Informática. XII Censo General de Población y Vivienda. Caracas: Oficina Central de Estadística e Informática, 1990.
16. Searle J. The Acts of Speech. London, 1964.
17. Farmer P. The consumption of the poor. Tuberculosis in the 21st century. Ethnography 1, 2000:183-216.
18. Kielmann K. "Prostitution", "Risk" and "Responsability": paradigms of AIDS. Prevention in women's indentities in Thika, Kenya. En: Inhorn M, editor. The Anthropology of Infectious Disease International Perspective. Amsterdam: Gordon & Breach Publ, 1997.
19. Wilkinson D, Ryan P, Hiller J. Variation in mortality rates in Australia: correlation with Indigenous status, remoteness and socio-economic deprivation. J Public Health Med 23, 2001: 74-77.
20. Martínez A, Rhee J, Small P B. Sex differences in the epidemiology ot TBC in San Francisco. Int J Tuberc Lung Dis 4, 2000: 26-31.
21. Raviglione M, Snider D, Kochi A. Global Epidemiology of Tuberculosis, Morbidity and Mortality of a Worlwide Epidemic. JAMA 273, 1995: 220-226.
22. González E, Borroto S, Armas L, Díaz C, López E. Mortalidad por Tuberculosis en Cuba, 1902 - 1997. Rev Cubana Med Trop 55, 2003: 5-13.
23. Reid Andrews G. Los Afroargentinos de Buenos Aires. Buenos Aires: Editorial de la Flor; 1990.
24. Earnets M, Sbarbaro J. A. Tuberculosis: Adherence to regimens and directly observed therapy. En: Rom WR, Garay S.M, editor. Tuberculosis. Boston: Little, Brown Company, 1996: 927-934.
25. Arvelo Jiménez N. Poblaciones Humanas y Desarrollo Amazónico: El Caso de Venezuela. En: Parà OyUFd, editor. Populacaes humanas e desenvolvimento Amazónico. Brasil, 1989.
26. Zent S. Historical and Ethnographic Ecology of the Upper Cuao River Whotiha: Clues for an interpretation of Native Guianese Social Organization [PhD]. New York: Columbia University, 1992.
27. Rivas P. Algunas Experiencias en la Adaptación de los Protocolos Médicos en Comunidades Cháse, Hiwi y Wóthïha del eje vial El Burro-Samariapo, noreste del Estado Amazonas, Venezuela. In: Perera M, editor. Salud y Ambiente. Contribuciones al Conocimiento de la Antropología Médica y Ecología Cultural en Venezuela. Caracas: Faces /UCV, 1997.
28. Gerrish K, Nazroo J. Editorial. A message from the new editors. Ethnicity and Health 2002;7(1):5-6.