

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD

SUBPROGRAMA DE EDC – BIOLOGIA

INFORME FINAL INTEGRADO DE EDC

SECCION DE ENTOMOLOGIA MÉDICA Y CENTRO DE ESTUDIOS EN SALUD

PERIODO DE REALIZACION

ENERO 2016 – ENERO 2017

FRANCISCO JOSUE LOPEZ HUN

PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: EUNICE ENRIQUEZ

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA DE EDC – BIOLOGIA

INFORME FINAL DE DOCENCIA Y SERVICIO

SECCION DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

PERIODO DE REALIZACION

ENERO 2016 – ENERO 2017

FRANCISCO JOSUE LOPEZ HUN

PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: EUNICE ENRIQUEZ

ASESOR INSTITUCIONAL: MONICA BARRIENTOS

Vo.Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

Índice

Introducción	4
Resumen de Actividades	5
Actividades	6
Actividades de servicio	6
Actividades de docencia	7
Actividades no Planificadas	8
Bibliografía	9-10

Introducción

Este documento contiene el informe final de la parte de servicio y docencia del Programa de EDC. Los objetivos de esta programa son; contribuir en la formación del estudiante, contribuir al desarrollo humano de este y que este pueda fortalecer en su área de interés en este caso la Entomología Medica. Es de suma importancia la planificación de esta práctica ya que este presenta programa está diseñado para fortalecer y desarrollar las capacidades intelectuales de los futuros profesionales insertando al estudiante en un entorno de libertad de elección que le induce ejercitar la toma de decisiones (Alquijay, Enríquez, 2016, p.5)

Durante el mes de febrero a junio se han realizado 3 tipos de actividades; Docencia, Servicio e Investigación. Dichas actividades fueron realizadas dentro del Ministerio de Salud Publica en la sección de Entomología Medica. Durante los meses de Marzo y Abril en la unidad de práctica se han realizado distintas actividades de servicio entre estas se encuentran; servicio a insectario, laboratorio y actualización de base de datos. En el mes de mayo se han realizado actividades de , servicio ,insectario y elaboración de reportes para dicha unidad.

Resumen de Actividades

Programa y Actividades	Fecha propuesta	Horas de EDC asignadas	Horas de EDC acumuladas	Horas EDC de Avance/ Acumuladas
A. Servicio				
Servicio Preestablecido U. Biodiversidad-CECON y Jardín Botánico	Febrero	40	40	100%
Servicio Insectario	Marzo – mayo	100	100	100%
Servicio Laboratorio	Marzo – Abril	60	60	100%
Actualización base de datos.	Abril	60	60	60%
Elaboración de reportes y documentos	Mayo	8	8	100%
Taller de Validación de Guía y Almacenamiento, Manejo y Transporte de Insecticidas para el Control Vectorial en Salud Pública	Junio	30	48	100%
B. Docencia				
Lectura de Manuales	febrero	12	12	100 %
Charla de la Sección de Entomología Médica	Mayo	4	4	100%
Capacitación en Pruebas de Elisa	Junio	120	120	100%
C. Actividades no planificadas				
Organización de Registros	Febrero	-	4	-

Actividades

Actividades de servicio

Actividad No.1: Servicio Preestablecido U. Biodiversidad – CECON

Objetivo: Apoyo a la Institución Asignada

Procedimiento: Mantenimiento de colección zoológicos mediante el montaje de especímenes por medio de gradillas y alfileres entomológicos. Actualización de bases de datos de dichas colección esto se realizó; por medio de la verificación de coordenadas usando el programa de Google earth y un reordenamiento en las coordenadas de dicha base de datos.

Resultados : Colección más ordena, limpia y una base de datos más actualizada paras u consulta.

Limitaciones o dificultades presentes: Falta de equipo de computación para la agilización en la actualización de la base de datos.

Actividad 2. Actualización de Base de Datos

Objetivo: Actualización y alimentación de la base de datos.

Procedimiento: Ordenar, ingresar y depurar registros previos para la actualización de la base de datos de las localidades *R. prolixius*. Esto se hizo a través del Programa Excel.

Objetivos alcanzados durante el presente periodo: Se ha logrado tener una base de datos más actualizada y ordenada con datos del 2000 al 2015.

Resultado : Base de datos actualizada organizada y ordenados para su fácil acceso.

Limitaciones o dificultades presentes: Falta de equipo de computación para la agilización en la actualización de la base de datos.

Actividad 3. Servicio Insectario

Objetivo: Mantenimiento y apoyo en las actividades del insectario.

Procedimiento: La alimentación de larvas se llevo a cabo mediante levadura para las larvas de primer estadio y la incaparina para segundo, tercer y cuarto estadio, la cual se agrego a cada una de las bandejas donde se encontraban. El conteo pupas se realizó utilizando una micropipeta con la cual se separaban estas de otros estadios larvales. Cada pupa fue registrada por un contador numérico.

Resultado: Registros de producción de pupas para cada uno de las cepas de Mosquitos de *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus*.

Actividad 4. Servicio Laboratorio

Objetivo: Identificación y montaje de material biológico.

Procedimiento: Mediante claves entomológicas se identificaron las especies colectadas, observaron las características de los especímenes. El material biológico fue montado en cajas entomológicas, mediante alfileres y gradillas.

Resultados Parciales: Especímenes identificados y montados para la colección entomológica de dicha institución.

Limitaciones o dificultades presentes: Falta de equipo para la impresión de etiquetas taxonomicas.

Actividad 5.Elaboracion de reportes y documentos

Objetivo: Brindar apoyo en la elaboración de reportes mensuales y documentos.

Procedimiento: Elaboración de tablas y gráficas para la interpretación de resultados obtenidos en pruebas de insecticidas y producción del insectario en el año 2015. Analisis de los resultados para ser integrado en el reporte.

Resultados Parciales: Reporte reportes de pruebas de insecticida , reporte de producción , oficios y manual de bombas de fumigación.

Limitaciones o dificultades presentes: Falta de equipo de equipo de computacion para la elaboración de reportes y documentos

Actividad 6. Taller de Validación de Guía y Almacenamiento, Manejo y Transporte de Insecticidas para el Control Vectorial en Salud Pública

Objetivo: Validación y evaluación de la Guía para el almacenamiento, manejo y transporte de Insecticidas.

Procedimiento: Se impartieron capacitaciones y talleres basado en el contenido de la guía para el almacenamiento, manejo y transporte de Insecticidas. Los participantes hicieron una revisión a la guía.

Resultado: Aportes puntuales para hacer mejoras en la guía y así poder ser validada en el próximo taller.

Actividades de docencia

Actividad No.1 Lectura de Manuales

Objetivo: Familiarizar al estudiante con los programas y procedimientos de la Sección de Entomología médica.

Procedimiento: Leer detenidamente los siguientes manuales; Manejo integrado de Vectores, Manual Operativo de Vigilancia, Control Entomológico de la Enfermedad de Chagas y Manual operativo de Vigilancia y Control Entomológico de Aedes Aegypti, Vector del dengue en Guatemala.

Resultados: Mayor conocimiento del estudiante sobre los programas de dicha unidad.

Limitaciones o dificultades presentes: Poco acceso a los libros y manuales de esta institución.

Actividad No.2 Charla de la Sección de Entomología Médica

Objetivo: Informar al estudiante de los objetivos, procedimientos de la Sección de Entomología médica y la importancia de esta.

Procedimiento: Se dio una visita guiada por cada área de la sección de la sección de entomología médica, y se impartieron charlas de la función de cada área.

Resultados: Mayor conocimiento de los estudiantes de la función, procedimientos y objetivos de cada una de las áreas de la sección de Entomología Médica.

Limitaciones o dificultades presentes: Falta de coordinación y preparación de esta charlas por el poco tiempo de preparación.

Actividad 3.Capacitacion en Pruebas de Elisa

Objetivo: Capacitar al estudiante para que este pueda realizar pruebas de Elisa a muestras tomadas en Escuintla durante el 2013

Procedimiento: Se capacito al estudiante tanto en la parte teórica y práctica de la técnica, posterior a eso el estudiante realizo esta técnica cualitativa y cuantitativamente.

Objetivos alcanzados durante el presente periodo: Proporcionar al estudiante los fundamentos y capacidades necesarias para que este pueda realizar dicha prueba.

Resultado: Capacidad del Estudiante para realizar dicha prueba.

Actividades no Planificadas

Actividad 2. Organización de Registros

Objetivo: Ordenamiento y clasificación de Registros

Procedimiento: Ordenar y organizar cada uno los registros de control de pupas por año, especie, Fecha y lugar.

Objetivos alcanzados durante el presente periodo: Registro del 2014-2015 ordenados por especie fecha y lugar.

Resultado: Registros organizados y ordenados para su fácil acceso.

Bibliografía

Alquijay, B., Enríquez, E. (2016). Programa analítico. Practica de Experiencias Docentes con la Comunidad. Guatemala; Universidad de San Carlos de Guatemala.

Anexos



Figura 1. Participación en la feria de la salud 2016 en la plaza de la constitución, zona 1 de la ciudad de Guatemala.



Figura 2. Taller de Validación de Guía y Almacenamiento, Manejo y Transporte de Insecticidas para el Control Vectorial en Salud Pública

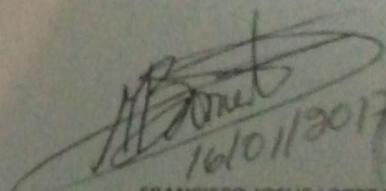

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA DE EDC – BIOLOGIA

INFORME FINAL DE DOCENCIA Y SERVICIO

SECCION DE ENTOMOLOGIA MÉDICA

PERIODO DE REALIZACION

ENERO 2016 – JUNIO 2016


16/01/2017 
FRANCISCO JOSUE LOPEZ HUN

PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: EUNICE ENRIQUEZ

ASESOR INSTITUCIONAL: MONICA BARRIENTOS

Vd. Bto. ASESOR INSTITUCIONAL

Figura 3. Constancia de entre del Informe Final de Docencia y Servicio en la Seccion de Entomología Medica, en el periodo Enero 2016- Enero 2017.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA DE EDC – BIOLOGIA

INFORME FINAL DE INVESTIGACION

Determinación de la tasa de infección por *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* de mosquitos del género *Anopheles* procedentes de La Gomera, Escuintla, Guatemala.

CENTRO DE ESTUDIOS EN SALUD

PERIODO DE REALIZACION

ENERO 2016 – ENERO 2017

FRANCISCO JOSUE LOPEZ HUN

PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: EUNICE ENRIQUEZ

ASESOR INSTITUCIONAL: CARLOS LOL

Vo.Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

Índice

Resumen.....	13
Introducción	13-14
Planteamiento del problema	14
Justificación.....	14-15
Marco teórico.....	15-17
Objetivos.....	17
Hipótesis.....	18
Metodología	18-19
Resultados.....	19
Discusión.....	20-21
Conclusiones	21
Recomendaciones.....	21
Bibliografía.....	21-23
Anexos.....	24-25

Resumen

Antecedentes: En Guatemala la transmisión de la malaria es endémica y es causada principalmente por *P. falciparum* y *P. vivax*. Estos parásitos son transmitidos por mosquitos del Género *Anopheles*. Cuatro de estas especies están incriminados en su transmisión: *An. pseudopunctipennis*, *An. vestitipennis*, *An. darlingi* y *An. albimanus*; este último es considerado el vector principal en Guatemala. *An. albimanus* tiene gran relevancia en la transmisión de la malaria en época de lluvia a pesar de no ser un buen vector. Según estudios realizados en los años 90, en Escuintla esta especie tiene un porcentaje de infección natural 0.063%. En los años 2014 y 2015, Escuintla presentó el mayor número de casos del país, por lo cual este departamento persiste como un área prioritaria para el control de la malaria.

Metodología: Para determinar la tasa de infección en mosquitos de la especie *An. albimanus*, se colectaron especímenes en el Parcelamiento Las Cruces, La Gomera, Escuintla, en el 2013. Las 550 muestras fueron analizadas mediante la técnica de PCR anidado.

Resultados: La tasa de infección de *P. falciparum* y *P. vivax* en *An. albimanus* fue 0 para ambos parásitos.

Conclusiones: La tasa de infección fue influenciada por el bajo número de muestras colectadas y por la época. Sin embargo se cree que esta nula tasa de infección puede ser el resultado también de la eficacia de las estrategias de control vectorial en Escuintla.

Introducción

La malaria es una enfermedad causada por el parásito del género *Plasmodium*. Existen más de 150 especies de *Plasmodium* que infectan a diferentes vertebrados, pero solamente cuatro pueden infectar al hombre: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae* (Axt, 2007).

Esta enfermedad tiene un gran impacto en la salud y medios de vida de las personas en todo el mundo. Los últimos datos disponibles, que provienen del 2013, estiman que alrededor de 3,2 billones de personas estaban en riesgo de la enfermedad en 97 países; ese mismo año se reportaron aproximadamente 198 millones de casos en el mundo (OMS, 2015). En Guatemala, la transmisión de la malaria es endémica, geográficamente se distribuye en 20 departamentos, únicamente Totonicapán y Sacatepéquez no reportan casos (Centro Nacional de Epidemiología, 2007). Esta enfermedad sigue siendo un problema de salud pública, principalmente en los departamentos de Escuintla y Alta Verapaz, donde se concentra el 80% de los casos confirmados ((MSPAS, 2015, p.12)).

El *Plasmodium* es transmitido por mosquitos culícidos del género *Anopheles*. En Guatemala han sido reportadas 19 especies de anofelinos, de las cuales únicamente cuatro están involucradas en la transmisión de la enfermedad, siendo *An.pseudopunctipennis*, *An. vestitipennis*, *An. darlingi* y *An. albimanus*; este último es considerado el vector principal en Guatemala seguido en importancia por *An. vestitipennis* y *An. Pseudopunctipennis*(MSPAS, 2007).

Estudios realizados en la zona norte de Guatemala, detectaron la presencia de *P. vivax* y *P. falciparum* en *An. albimanus* y *An. vestitipennis* mediante la disección de glándulas salivales (Clark, Darsie, 1983, p.283). Posteriormente, se encontró *P. vivax* en las poblaciones de *An. albimanus* procedentes de Escuintla y San Marcos mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés)(PAHO, 1996, p. 214). *An. albimanus*, a pesar de no ser un buen vector, cobra relevancia en época lluviosa debido al aumento de sus densidades poblacionales (Clark, Darsie, 1983, p.280). Estudios de los años 1990 y 1997 en Escuintla, muestran que esta especie tiene un porcentaje de infección natural de 0.063% (MSPAS, 2015, p.12). Por lo que se considera relevante actualizar esta información con datos de años recientes.

Por otra parte, se tiene muy poca información de *An. pseudopunctipennis* en Guatemala. Se ha supuesto que este vector también juega un papel importante en la transmisión, tal como en México, donde se ha podido evidenciar su incriminación como principal transmisor de malaria en época seca (Martínez, Bonilla, 2006, p.13). En Guatemala, no se cuenta con estudios que confirmen el rol de esta especie en mantener la transmisión de la malaria en época seca.

Este estudio tuvo como fin actualizar la tasa de infección por *P. falciparum* y *P. vivax* en diferentes especies de anofelinos. Lo anterior se realizará mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) anidada desarrollada para detectar las especies de *P. falciparum* y *P. vivax*.

Planteamiento del problema

En Guatemala, la transmisión de la malaria es endémica, contando para el año 2014 con 5,454 casos, de los cuales el 64% se concentró en Escuintla (Miranda, 2015). Aun cuando en el país se ha observado una disminución en los casos de malaria desde el año 2005 a la fecha, es necesario continuar trabajando para su eliminación, para lo cual es necesario conocer la biología y comportamiento de las especies transmisoras, así como su importancia como vectores tanto en época seca como lluviosa, a fin de implementar las estrategias idóneas para el Manejo Integrado de los Vectores (MIV).

En Guatemala, se sabe que *An. albimanus* es el principal vector durante la época lluviosa (MSPAS, 2015, p.12), sin embargo, esta información está desactualizada, ya que se basa en estudios realizados en los años 90's. Tampoco se cuenta con estudios que confirmen cual es la especie que mantiene la transmisión de la malaria en época seca. En base a estudios realizados en el sur de México, se sabe que *An. pseudopunctipennis* cobra relevancia como vector en época seca (Martínez, Bonilla, 2006, p.13), sin embargo, lo mismo no está comprobado para Guatemala.

Justificación

La malaria es la enfermedad vectorial más seria que afecta a los humanos (Beaty, Marquardt, 1996, p.632). Es una enfermedad endémica en Guatemala, en donde Escuintla es el departamento que siempre ha reportado el mayor número de casos y el único donde se encuentran las dos especies de *Plasmodium* que se reportan para el país (*P. vivax* y *P. falciparum*) donde se han reportado casos sintomáticos para ambas especies (MSPAS, 2015, p. 9-10). En cuanto a los vectores, se han reportado 4 especies, *An. pseudopunctipennis*, *An. vestitipennis*, *An. darlingi* y *An.*

albimanus que han sido incriminadas en base a estudios realizados en los años 90 o a estudios de otros países. Debido a los distintos comportamientos de estas especies y a las implicaciones que esto tiene para el control de vectores, este conocimiento es esencial para implementar estrategias eficaces para el manejo integrado de vectores en el país.

Por otra parte, se sabe que en Guatemala *An. albimanus* es el principal vector durante la época lluviosa y se ha creído que *An. pseudopunctipennis* tiene importancia como vector en época seca, pero no se cuenta con estudios que respalden o desmientan esto, por lo que el presente estudio contribuirá a mejorar el conocimiento sobre la infección natural de estas especies, a fin de comprender de una mejor manera la dinámica de transmisión.

Marco teórico

Malaria es una enfermedad conocida también como paludismo que fue descrita por primera vez por el médico francés Laveran en Argelia en 1880. Esta fue corroborada en forma experimental en la India por el novelista, matemático y médico colonial inglés Ronald Ross 1885 (OPS, 2008, p.15). Estos estudios confirmaron que esta enfermedad es causada por el parásito del género *Plasmodium* (OMS, 2015, p.4).

Hay cuatro especies de *Plasmodium* causantes de la malaria en humanos las cuales son: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, de los cuales *P. falciparum* y *P. vivax* son los más prevalentes y *P. falciparum* el más peligroso. *P. knowlesi* es una especie zoonótica que también se sabe que puede afectar a los humanos (OMS, 2015, p.4).

La malaria tiene un gran impacto en la salud y medios de vida de las personas en todo el mundo. Según los últimos datos disponibles, que provienen del 2013, se ha estimado que alrededor de 3,2 millones de personas están en riesgo de la enfermedad en 97 países. Ese mismo año se estima que ocurrieron 198 millones de casos en el mundo y cobró la vida de 584,000 personas, en su mayoría niños menores de 5 años, sólo en el África Subsahariana (OMS, 2015, p.4). En la mayoría de los países donde la malaria es endémica, afecta de manera desproporcionada a los pobres y desfavorecidos, quienes tienen un acceso limitado a los servicios de salud (OMS, 2015, p.4).

En Guatemala la malaria es un problema de salud pública principalmente en los departamentos de Escuintla y Alta Verapaz en donde se encuentra el 80% de los casos (MSPAS, 2015, p.12). En los años 2014 y 2015, Escuintla presentó el mayor número de casos del país (67% y 66% respectivamente), por lo cual este departamento persiste como un área prioritaria para el control de la malaria.

Tal como otros países de la región, Guatemala cuenta con los factores que favorecen la transmisión de la malaria, dentro de las que se encuentran las condiciones ambientales, la migración, los recursos humanos insuficientes para el abordaje de la enfermedad, los presupuestos reducidos, la participación comunitaria limitada, la promoción de la salud y educación sanitaria limitada, el presupuesto descentralizado pero insuficiente, así como las amplias zonas ecológicas con condiciones apropiadas (OPS, 2001, p.13).

El *Plasmodium* es transmitido por mosquitos culícidos del género *Anopheles*. En Guatemala han sido reportadas 19 especies de anofelinos, de las cuales únicamente cuatro están involucradas en la transmisión de la enfermedad, siendo *An. pseudopunctipennis*, *An. vestitipennis*, *An. darlingi* y *An. albimanus* (MSPAS, 2007, p.45). En Centro América el vector primario es *An. albimanus*. Esta especie es mayormente zoofílica y las hembras rara vez se encuentran infectadas por esporozoitos. Mantiene la transmisión, probablemente por sus altas densidades poblacionales. En Guatemala, es el principal vector de la enfermedad, seguido en importancia por *An. vestitipennis* y *An. pseudopunctipennis* (Beaty , Marquardt, 1996, p.66).

Estudios realizados en la zona norte de Guatemala, detectaron la presencia de *P. vivax* y *P. falciparum* en *An. albimanus* y *An. vestitipennis* (Clark, Darsie, 1983,p. 283). También en las poblaciones de *An. albimanus* de Escuintla y San Marcos se encontraron esporozoítos de *P. vivax* mediante el método de ELISA (PAHO, 1996, p. 214).

Anopheles pseudopunctipennis, es uno de los vectores más importantes de malaria en países como; Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, Ecuador, Perú, Brasil, Bolivia Colombia y Paraguay (Ramírez, Ramírez, Fajardo, 1986, p.78). Este vector tiene una distribución desde Estados Unidos hasta Chile y Argentina, pasando por las Antillas Menores. (Ramírez, Ramírez, Fajardo, 1986, p.79)

El hábitad de las larvas de *An. pseudopunctipennis* en su mayoría son las charcas de ríos y arroyos que ocurren en hábitats soleados durante la estación de escasa lluvia tanto en brazos muertos de los cuerpos de agua y en remanentes en la disminución del volumen de agua de los ríos. En estos lugares se encuentran asociadas positivamente con parches o manchones de algas filamentosas, predominando en dicha asociación el alga *Spirogyra* sp. (Savage, Rejmankova Arredondo, Rodríguez 1990, p.612). En países como México se ha podido evidenciar su incriminación como principal transmisor de la enfermedad en época seca, sin embargo en Guatemala no se ha podido comprobar si este se encuentra incriminado en la trasmisión de la malaria en época seca.

Técnica de PCR anidada

La técnica de PCR o la reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente (Rodríguez, Barrera, 2015, p.323-335).

El PCR ha sido implementado para la detección de agentes etiológicos, pasando por genotipificación, análisis de enfermedades genéticas, oncológicas, amplificación y modificación de fragmentos de ADN (Bolívar, Rojas, García, 2014, p.26). Mediante la técnica de PCR se puede demostrar la presencia de agentes etiológicos, gracias a que se amplifica un fragmento del ADN genómico de los microorganismo (Pulido, Mogollón, Morales, Rincón, 2006, p.23).

Una de las variantes del PCR es la técnica anidada, la cual consta de dos reacciones: la primera con cebadores externos y la segunda con iniciadores internos que contienen las secuencias

encontradas en la primera amplificación aspecto que la hace mucho más específica y sensible (Calsamiglia, Pijoan, 1998, p.54-56).

Para la detección de *Plasmodium* en mosquitos *Anopheles* se ha implementado la técnica de PCR anidada la cual demostró tener mayor sensibilidad y ser más específico que otros métodos como el ensayo de ELISA. Esta técnica no presenta problemas de sobre estimación en la tasa de infección, problemas al ser almacenados en etanol o isopropanol e insensibles a niveles muy bajos de infección, los cuales si son un problema en el ensayo de ELISA (Bass, Nikou, Blagborough, Vontas, Sinden, Williamson, Field, 2008, p.2).

La técnica de PCR anidada utiliza cebadores para secuencias específicas que codifican un fragmento de una subunidad del ARN ribosomal que permite la detección de las cuatro especies de *Plasmodium* que infectan al humano. Esta técnica para mejorar la sensibilidad, utiliza dos rondas de PCR, el primer ciclo de amplificación utiliza los cebadores rPLU5 y rPLU6 1. El producto obtenido se utiliza para un segundo ciclo de amplificación, en el que se detecta cada especie del parásito por separado utilizando cebadores específicos para cada especie (Snounou, Viriyakosol, Zhu, Jarra, Pinheiro, Rosario, Thaithong, Brown, 1993, p.315).

La técnica de PCR anidada ha sido utilizada para el diagnóstico de la malaria y para la recopilación de datos epidemiológicos ya que ha resultado ser más sensible que la microscopía de diagnóstico de rutina. Además, permite una identificación exacta de todas las especies de *Plasmodium* presentes en muestras de humanos. Esto se ha podido corroborar en estudios realizados en Tailandia donde se analizaron muestras de sangre obtenidas de 196 pacientes, donde tras analizar las muestras por el método de PCR se encontraron 129 muestras positivas, 67 negativas y tras ser analizadas por el método de microscopía se encontraron 106 positivas y 90 negativas, dentro de las cuales 32 eran positivas pero no pudo ser detectado el parásito sin embargo con el método de PCR si se pudo detectar, esto ha demostrado que el método de PCR es más sensible y preciso que la microscopía de diagnóstico de rutina (Snounou, G, Viriyakosol, Jarra, Thaithong, 1993, p.283-289).

Objetivos

Objetivo General

Determinar la tasa de Infección por *P. vivax* y *P. falciparum* de los mosquitos del género *Anopheles* colectados en La Gomera, Escuintla, en el 2013.

Objetivos Específicos

Determinar la presencia o ausencia de esporozoítos de *P. vivax* en mosquitos del género *Anopheles* colectados en La Gomera, Escuintla en 2013.

Determinar la presencia o ausencia de esporozoítos de *P. falciparum* en mosquitos del género *Anopheles* colectados en La Gomera, Escuintla en 2013.

Hipótesis

H: La tasa de infección por *P. vivax* o *P. falciparum* en mosquitos del género *Anopheles* es igual a 0.

Ha: La tasa de infección por *P. vivax* o *P. falciparum* en mosquitos del género *Anopheles* es mayor de 0.

Metodología

a) Diseño

Población: Mosquitos de la especie *An. pseudopunctipennis* y *An. albimanus* de Guatemala.

Muestra: Mosquitos de la especie *An. pseudopunctipennis* y *An. albimanus* del Parcelamiento Las Cruces, La Gomera, Escuintla, colectados en el 2013.

b) Técnicas a usar en el proceso de Investigación

Recolección de los datos:

Se realizó la disección de cabeza y tórax de un total de 550 hembras del género *Anopheles*. La cabeza y tórax se colocaron en un tubo de 1.5 mL rotulado con un código único; las patas, alas y abdomen se colocaron en otro tubo rotulado con el mismo código para posteriores ensayos. Se utilizó como grupo control a individuos de la especie *An. albimanus* de una colonia de laboratorio, llamada Sanarate. Posterior a eso se realizó la extracción de ADN para cada uno de los individuos como se describe a continuación: Los mosquitos se colocaron en tubos de 1.5 mL estériles y rotulados con su respectivo código. Luego, se agregaron 100 µL de DNAzol a cada tubo que contenía las partes del mosquito, las cuales se maceraron con un pistilo estéril hasta no ver partes reconocibles. Se centrifugaron los tubos por 10 min a 10,400 rpm a temperatura ambiente o a 4°C. Se transfirió el sobrenadante de cada muestra a un nuevo tubo de 1.5 mL estéril rotulado con el código del mosquito. Se almacenó el *pellet* de cada macerado a -20°C para posteriores extracciones. Posteriormente, se agregaron 500 µL de etanol absoluto a cada tubo que contenía el sobrenadante y se mezcló por inversión 8 veces. Se incubaron las muestras a temperatura ambiente por 3 min y luego se centrifugaron a 6,600 rpm por 5 min a temperatura ambiente o 4°C. Se removió el sobrenadante de cada muestra y se lavó el *pellet* con 1mL de etanol al 70%. Se mezcló por inversión 6 veces y se centrifugó a 6,600 rpm por 5 min a 4°C esto se realizó dos veces. Posterior a esto se removió el sobrenadante y se dejó secar el *pellet* a temperatura ambiente por 15 min. El *pellet* fue resuspendido en 100 µL de buffer TE 1X y se dejó por toda una noche a 4°C y al día siguiente se almacenaron las muestras de ADN a -20°C hasta su utilización.

Análisis:

Las muestras que tuvieron fragmentos amplificados con un tamaño 206 bp fueron tomadas como positivas para *P. falciparum* y fragmentos con un tamaño 121 bp se identificaron *P. vivax*.

c) Instrumento para registro y mediciones de las observaciones:

Para la detección *P. vivax* y *P. falciparum* se realizó la técnica de PCR anidada. Las muestras fueron procesadas realizando *pools* de 50 muestras por PCR. Se realizó un total de 11 PCRs. La detección de los dos parásitos se basó en la amplificación del gen *ssrRNA*. Para la primera amplificación se usaron los cebadores rPLU5 y rPLU6. Para la segunda amplificación se utilizaron cebadores específicos para *P. falciparum* rFAL1 y rFAL2. Para *P. vivax* rVIV1 y rVIV2.

Se utilizó un termociclador de marca Applied Biosystems modelo 2720. Para todas las reacciones se utilizó un volumen de 20 µL. En todas las reacciones la amplificación se realizó utilizando agua ultra pura, buffer promega 1x, MgCl₂ promega 2.5mM, dNTPs 200 µM y hotstart go-taq promega 1.25 U. Los parámetros de amplificación para la primera reacción fueron los siguientes: activación a 95°C por 3 min durante 1 ciclo; desnaturalización a 94°C por 1 min durante 35 ciclos; hibridación a 60°C por 2 min durante 35 ciclos; extensión a 72°C por 2 min durante 35 ciclos; extensión final a 72°C por 10 min durante 1 ciclo. Para la segunda reacción de amplificación se utilizaron los productos de la primera reacción y los mismos parámetros únicamente en la hibridación la temperatura es de 55°C por 30 segundos. Los productos de amplificación fueron visualizados por electroforesis en geles de agarosa al 2% utilizando un marcador de masa molecular de 50 pb (Novagen).

Resultados

Para determinar la tasa de infección de *P. falciparum* y *P. vivax* en *An. albimanus* se procesaron 550 mosquitos. Para ninguna de las muestras la técnica de PCR anidada amplificó el fragmento de *P. falciparum* (206 pb) o el de *P. vivax* (121pb), por lo tanto, ninguno de estos mosquitos se encontró infectado con *P. falciparum* y *P. vivax*. La tasa de infección de *Anopheles albimanus* fue de 0% (0/500) para ambos parásitos del género *Plasmodium*.

Tabla 1. Tasa de Infección por parásitos del género *Plasmodium* en la especie *Anopheles albimanus*.

Especie	No. de Individuos	No. de individuos infectados con <i>P. vivax</i>	No. de individuos infectados con <i>P. falciparum</i>	No. de Individuos Negativos	Tasa de Infección*
<i>An. albimanus</i>	550	0	0	550	0% (0/550) <i>P. vivax</i> 0% (0/550) <i>P. falciparum</i>

*La Tasa de Infección por parásitos del género *Plasmodium* en la especie *Anopheles albimanus* se obtuvo dividiendo el número de mosquitos infectados dentro del número total de muestras y multiplicando por 100. Los resultados fueron obtenidos durante los meses de julio – noviembre del 2016 en el Laboratorio de Entomología y Ecología de la Unidad de Malaria del Centro de Estudios en Salud, Universidad del Valle Guatemala.

Discusión

La tasa de infección de *An. albimanus* para Escuintla fue de 0.0%. Esto puede indicar una reducción total ya que según estudios realizados en 1990 en el mismo departamento, la tasa de infección de este vector fue de 0.063% (MSPAS, 2015).

Una de las probabilidades por las cuales se obtuvo una tasa de infección de cero puede ser la baja cantidad de mosquitos colectados. Esto coincide con estudios realizados en Colombia en donde se calculó la tasa de infección para *An. darlingi*, *An. marajoara*, *An. albitarsis* y otros anofelinos de importancia. En dicho estudio el vector que presentó una de las mayores tasas de infección fue *An. darlingi*, del cual se colectaron 1,116 mosquitos, de los cuales únicamente uno presentaba *P. vivax*, por lo que la tasa de infección de dicha especie fue de 0.008, que a diferencia de los demás vectores presentaron una colecta menor a 100 individuos con ningún espécimen infectado (Martínez, Bonilla, 2006, p.10).

Otro de los factores que pudo haber intervenido en la baja tasa de infección pudo haber sido el tiempo de colecta. Esta se hizo a finales de noviembre e inicios de diciembre y no de mayo a octubre en los meses de invierno. La mayor abundancia de las poblaciones es durante la época de invierno. Esto se debe a que los criaderos están relacionados con la lluvia y pudo haber tenido un efecto directo en las poblaciones o a largo plazo lo cual disminuyó las poblaciones (Zimmerman, 1992, p.371). En estudios realizados en Cuba, donde se hicieron colectas durante un año, y fue en la estación lluviosa cuando se obtuvo una mayor abundancia de *An. albimanus* que en cualquier otra época del año, lo cual corrobora que las poblaciones de esta especie están limitadas por variables climatológicas durante todo el año (Rodríguez, Diéguez, Roqueiro, Fernández, Navarro, 1999). Esto pudo haber disminuido las poblaciones afectando el número de individuos colectados. Esto redujo la probabilidad de poder obtener especímenes que portaran dichos parásitos, ya que esta especie es un mal vector por presentar una tasa de infección relativamente baja que, según la literatura, se encuentra entre el 1-2% (Frederikson, 1993, p.76). Esto ha producido especulaciones en las cuales esta especie es importante solo cuando es abundante (Loyola, Arredondo, Rodríguez, Bron, Vaca, 1991).

La nula tasa de infección pudo haber sido afectada por descenso en los casos de malaria en Escuintla ya que para el 2015 reportaron una disminución del 26% (Vásquez, 2016)). Esto reduce las posibilidades de que los mosquitos de esta especie se alimenten de sangre infectada con gametocitos lo cual pudo haber afectado la tasa de infección de esta especie (Mullen, Durden, 2002, p.597).

El uso de cloroquina ha sido eficaz para la eliminación de *P. falciparum* y el tratamiento de cloroquina y primaquina ha sido utilizado para la eliminación de *P. vivax* (Vásquez, 2016). El uso

de este medicamento ha reducido el número de casos lo cual reduce indirectamente la tasa de infección de *An. albimanus* (Vásquez, 2016). Esto reduce las probabilidades del vector de alimentarse de alguna persona con estos parásitos. La tasa de infección de *P. falciparum* coincidió con lo esperado ya que los casos reportados por esta especie en Guatemala son muy bajos los cuales hasta el 2015 representaron únicamente el 0.2% en todo el país (Vásquez, 2016). Por lo tanto se esperaba tener un valor sumamente bajo o nulo en la tasa de infección para esta especie. Para *P. vivax* se esperaba tener una tasa de infección alta en el vector ya que esta especie hasta el 2015 representó el 99.83% de casos en el país, sin embargo se obtuvo un valor nulo (Vásquez, 2016).

El uso de mosquiteros tratados con insecticidas, repelentes e insecticidas en este departamento pudieron haber diezmando las poblaciones o imposibilitado la infección del mosquito, debido a la eficacia de esos para controlar este vector esto pudo haber afectado directamente la tasa de infección del vector (OMS, 2016).

Conclusiones

La época de colecta y el bajo número de individuos colectados determinó la baja tasa de infección para *An. albimanus*, por lo tanto es necesario realizar una colecta durante la época de invierno para obtener resultados más certeros. Las estrategias para controlar e esta especie han resultado eficaces para reducir la tasa de infección y así reducir la transmisión de la malaria en Escuintla.

Recomendaciones

El muestreo debe de realizarse durante la época de invierno donde las poblaciones son abundantes y así obtener un mayor número de especímenes para obtener una tasa de infección sin sesgo.

Bibliografía

Axt, F. (2007). Comparación de una prueba rápida con el método convencional gota gruesa para el diagnóstico de malaria en un área endémica. Universidad de San Carlos de Guatemala; Guatemala.

Beaty, B., Marquardt, W. (1996). La Biología de las enfermedades vectoriales. Estados Unidos.

Bolivar, A., Rojas, A., García, P. (2014). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. Avances en Biomedicina. 3(1) p.25-33

Bass, C., Nikou, D., Blagborough, A. Vontas, J., Sinden, R., Williamson, M., Field, L., (2008). PCR-based detection of Plasmodium in Anopheles mosquitoes: a comparison of a new high-throughput assay with existing methods. Malaria Journal. 7(177); p.1-9.

Clark, S. Darsie, R. 1983. The Mosquitoes of Guatemala. Mosquito Systematic. 15 (3): p.283

Calsamiglia, M. Pijoan, C. (1998). PCR based diagnostics for proiling Mycoplasma hyopneumoniae shedding. Allen D Lemman Swine Conference, pp. 54-56, 1998

Centro Nacional de Epidemiología. 2007a. Semana Epidemiológica en Guatemala, No. 7. MSPAS, Guatemala. Año IX, No. 474.

Frederikson, E. 1993. Bionomics and control of *Anopheles albimanus*. Pan Am Health Organization Tech Pape. 34; p.76 .

Guzmán, E., Vázquez, M.(2004). V. Las Pruebas de ELISA. 140(3) p.48

Jiménez, P., Conn, J., Wirtz,R., Brochero, H.(2012). *Anopheles* (Diptera: Culicidae) malaria vectors in the municipality of Puerto Carreno, Vichada, Colombia.Biomedica.32(3);p.1-12

Loyola, E., Arredondo, J., Rodríguez, M., Bron, D., Vaca, A.(1991). *Anopheles vestitipennis*, the probable vector of *Plasmodium vivax* in the Lacadon forest of Chiapas, Mexico. Trans R Soc Trop Med Hyg 85;171–174

Martinez, C., Bonilla, O. (2006). Diversidad y distribución geográfica del género *Anopheles* en el sur de México. Biodiversitas. 17(3); p.12-15.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social -MSPAS-. (2007). Manual operativo para la vigilancia y control de las fases inmaduras de los vectores de malaria en Guatemala. Guatemala.

MSPAS. (2014). 20 Semana epidemiológica. Guatemala.

MSPAS. (2015). Guía operativa de manejo integrado de vectores con énfasis en malaria en Guatemala. Guatemala.

Miranda, A. (2015). Sala situacional de malaria. MSPAS. Guatemala.

Mullen, G., Durden, L. (2002). Medical and Veterinary Entomology. Elsevier Science. USA. 597 pp.

Organización Panamericana de la Salud. (2008). Manual para la vigilancia y el control del paludismo en Mesoamérica. México

Organización Panamericana de la Salud. (2001). Informe de la situación de los programas regionales de malaria en las Américas. Mexico.

Organización Mundial de la Salud.(2016).Estrategia técnica Mundial Contra la Malaria 2016-2030. Francia.

Panamerican Health Organization. (1996). Biology and ecology of *Anopheles albimanus* Wiedmann in Central America. Pan American Health Organization; Washington.

Pulido, A., Mogollón, J., Morales, H., Rincón, M.(2006). Estandarización y Aplicación de la técnica de PCR- Anidado para la detección *Mycoplasma hyopneumoniae*. Veterinaria y de Zootecnia. 53; p.22-32

Rodríguez, S., Barrera, S.(2004). La reacción en la cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. Ciencia UANL. 2(4);p.323-335.

Rodríguez, R., Diéguez, L., Roqueiro, L., Fernández, M., Navarro, A.(1999).Análisis de la actividad hematofágica y de la influencia ambiental sobre el principal vector de la malaria en Cuba: *Anopheles albimanus*. Revista Cubana de Medicina Tropical. 51(2).

Savage, H., E. Rejmankova; J., Arredondo D., Rodríguez M. (1990). Limnological and botanical characterization of larval habitats for two primary malarial vectors, *Anopheles pseudopunctipennis* and *An. albimanus*, in coastal areas of Chiapas state, México. J. Am. Mosq. Control Assoc. 6(4); p.612-620.

Snounou, G., Viriyakosol, S., Zhu, X., Jarra, W., Pinheiro L., Rosario, V., Thaithong, S., Brown, N. (1993). High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction.Molecular and Biochemical Parasitology. 61; p.315-320

Snounou, G, Viriyakosol, S., Jarra, W., Thaithong, S.(1993). Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. Molecular and Biochemical Parasitology. 58;p.283-292

Vasquez, E.(2016). Análisis de la Malaria,2015. Guatemala; Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Zimmerman, R.(1992). Ecology of malaria vectors in the Americas and future direction. Men Inst. 87(3); p.371-383.

Anexos:

Determinación de la tasa de infección por *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* de mosquitos del género *Anopheles* procedentes de La Gomera, Escuintla, Guatemala.

Carlos Lol, Francisco López, Ligia Díaz.

Antecedentes: En Guatemala la transmisión de la malaria es endémica y es causada principalmente por *P. falciparum* y *P. vivax*. Estos parásitos son transmitidos por mosquitos del Género *Anopheles*. Cuatro de estas especies están incriminados en su transmisión: *An. pseudopunctipennis*, *An. vestitipennis*, *An. darlingi* y *An. albimanus*; este último es considerado el vector principal en Guatemala. *An. albimanus* tiene gran relevancia en la transmisión de la malaria en época de lluvia a pesar de no ser un buen vector. Según estudios realizados en los años 90, en Escuintla esta especie tiene un porcentaje de infección natural 0.063%. En los años 2014 y 2015, Escuintla presentó el mayor número de casos del país, por lo cual este departamento persiste como un área prioritaria para el control de la malaria.

Metodología: Para determinar la tasa de infección en mosquitos de la especie *An. albimanus*, se colectaron especímenes en el Parcelamiento Las Cruces, La Gomera, Escuintla, en el 2013. Las 550 muestras fueron analizadas mediante la técnica de PCR anidado.

Resultados: La tasa de infección de *P. falciparum* y *P. vivax* en *An. albimanus* fue 0 para ambos parásitos.

Conclusiones: La tasa de infección fue influenciada por el bajo número de muestras colectadas y por la época. Sin embargo se cree que esta nula tasa de infección puede ser el resultado también de la eficacia de las estrategias de control vectorial en Escuintla.

Key words: Malaria, Tasa de infección, PCR anidada, *Anopheles*.

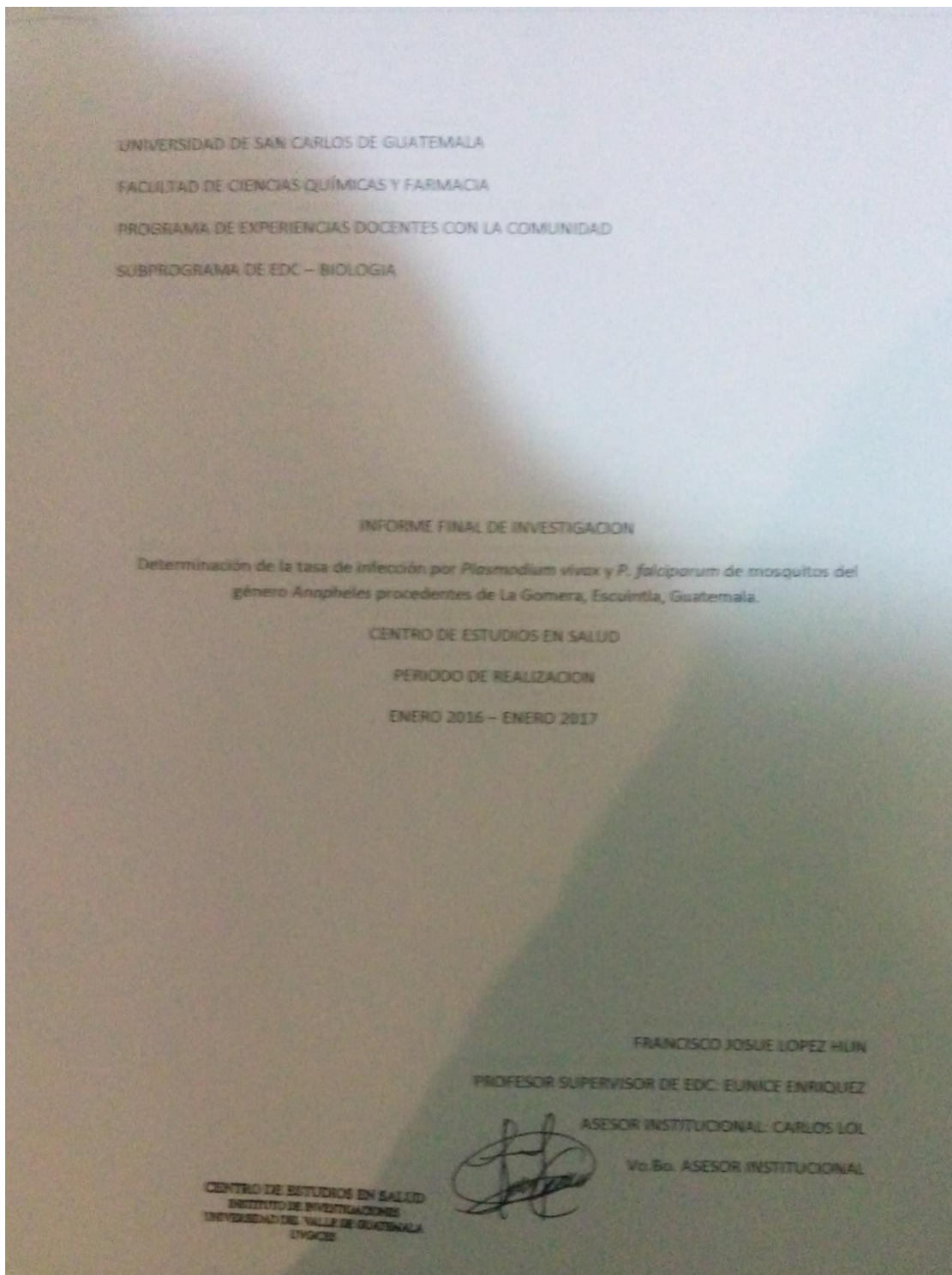


Figura 1. Constancia de entre del Informe Final de Docencia y Servicio en el Centro de Estudios en Salud, en el periodo Enero 2016- Enero 2017.

