

**S**imposio Internacional de Malaria.  
**Situación, avances y perspectivas**  
*16 al 19 de Julio de 2007*

**PROGRAMA Y RESÚMENES**

**Lilian Spencer & Jazzmín Arrivillaga**  
**(Organizadores - Editores huésped)**

---

**Universidad Simón Bolívar**  
Caracas, Venezuela



## Comité Organizador

*Lilian Spencer*

Departamento de Biología Celular,  
Laboratorio de Inmunología de  
enfermedades infecciosas  
lspencer@usb.ve

*Jazsmín Arrivillaga*

Departamento de Estudios ambientales,  
Laboratorio de Genética de Poblaciones,  
Ecología Molecular de Insectos.  
jarrivillaga@usb.ve

*Raúl Vegas (Secretario)*

Postgrado de Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar

## Investigadores Participantes

Keith Carter (OMS, USA)

Anthony Holder (NIMR, UK)

Amanda Maestre (Universidad  
de Antioquia, Colombia)

Randolph Alonso

(Universidad de Costa Rica)

Maria Anice Sallum (Universidad  
de São Paulo, Brasil)

Jan Conn (Wadsworth Center, USA)

Carmen Bracho (IVIC, Venezuela)

Neira Gamboa (Farmacia-UCV, Vzla)

Gilberto Payares (IBE-UCV, Venezuela)

Noraida Zerpa (IDEA, Venezuela)

Simón López (USB, Venezuela)

Yadira Rangel (UCV, Venezuela)

Juan Carlos Navarro (UCV, Venezuela)

Nereida Delgado (UCV, Venezuela)

María Eugenia Grillet (UCV, Venezuela)

Yasmín Rubio (MSDS, Venezuela)

Jesús Berti (IAE, Venezuela)

José Manuel Lozano (Universidad Nacional  
de Colombia)

## Instituciones Patrocinantes

La edición de esta publicación ha sido posible gracias a la Universidad Simón Bolívar (Decanato de Investigación y Desarrollo, Decanato de Postgrado, Vicerrectorado Académico, Oficina de Asuntos Públicos, Dirección de Cultura, División de Ciencias Biológicas, Departamento de Estudios Ambientales, Departamento de Biología Celular), al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), a la Red Latinoamericana de Biología (RELAB) y a la Organización Panamericana de la Salud (OPS).



Universidad  
Simón Bolívar



Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación  
Adscrito al Ministerio de Ciencia y Tecnología

RELAB



Organización  
Panamericana  
de la Salud

Oficina Regional de la  
Organización Mundial de la Salud

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDAD SIMÓN BOLÍVAR, APARTADO POSTAL 8900.  
CARACAS, VENEZUELA. [simposiomalariausb@gmail.com](mailto:simposiomalariausb@gmail.com)

---

## *Introducción*

La Malaria o Paludismo es una enfermedad metaxénica e infecciosa producida por la invasión a los glóbulos rojos por parásitos conocidos como *Plasmodium*, pertenecientes al Phylum Apicomplexa.

El *Plasmodium* sp. está caracterizado por la presencia de organelas que forman un complejo apical, el cual le permite la invasión a las células hospedadoras, como son los eritrocitos. En esta fase del ciclo de vida del parásito, se presentan las manifestaciones clínicas en el vertebrado, producidas por infecciones simples (la mayoría de los casos) o mixtas dado a la ocurrencia de cuatro especies de *Plasmodium* que infectan a humanos. Las especies de *Plasmodium vivax*, *P. ovale* y *P. malariae* causan morbilidad, siendo responsables de patologías más benignas. Sin embargo, la especie que causa la mayoría de las infecciones severas y es responsables de la alta tasa de mortalidad es *P. falciparum*.

El parásito de la malaria es una especie compleja, que es transmitida por el mosquito *Anopheles* spp. al hospedador susceptible humano, entrando al torrente sanguíneo, por inoculación salival, mientras la hembra-anofelino toma su ingesta sanguínea durante la noche.

En el hombre, el parásito se desarrolla dentro de los eritrocitos con diversos estadios de vida, produciendo posteriormente la lisis del eritrocito (esquizonte tardío), liberándose el estadio de merozoíto consecuencia de la reproducción asexual, los cuales invaden otros eritrocitos. La Esquisogonia eritrocítica genera los síntomas típicos de la enfermedad, el paroxismo malárico, con fiebres cada tres o cuatro días, acompañadas de sudoración y escalofríos. En el caso del *P. falciparum*, una de las principales causas patológicas y de mortalidad es la adherencia de los eritrocitos parasitados al endotelio cerebral y de otros capilares, los cuales conducen a la obstrucción vascular frecuentemente seguida por un estado de coma y finalmente la muerte del paciente, siendo una patología de importancia socio-económica para los países donde existe una alta incidencia, dado a las características patogénicas, que implican en el mejor de los casos una población humana con necesidades de atención médica, pero poca productividad económicamente por las ausencias laborales, lo que limita la existencia de un verdadero desarrollo sustentable.

La OMS declara esta enfermedad como un problema de salud pública mundial, ya que entre 350 y 500 millones de personas se infectan, de las cuales 1,3 a 2 millones fallecen anualmente.

La malaria a pesar de su ciclo de transmisión, no es una enfermedad uniforme, ya que su impacto y manifestación depende de las características epidemiológicas del área, Adicionalmente, la dinámica y demografía humana, jue-

---

ga un papel importante en la propagación de esta enfermedad metaxénica, decretándola como una enfermedad infecciosa, transmisible y comunicable, lo cual ha incrementado las epidemias, re-emergencias e importación de la malaria (con un incremento de la mortalidad).

Por otro lado, la aplicación de drogas anti-maláricas e insecticidas, sin la existencia de protocolos adecuados a las historia epidemiológica del foci, que incluya pautas preventivas, curativas y de control de la enfermedad, han provocado la resistencia a drogas del *Plasmodium*, la resistencia a insecticidas del *Anopheles*, el deterioro de las campañas en el uso de mosquiteros impregnados con insecticidas, así como la falta de personal capacitado, ausencia de entrenamiento, actualizaciones y transferencia tecnológica, que permitan un diagnóstico certero a tiempo, un tratamiento efectivo de la enfermedad, la prevención de la malaria en mujeres embarazadas, manejo integrado de vectores, el monitoreo-manejo-evaluación efectiva y rápida de las epidemias en la mejor relación costo-eficiencia

Sin embargo, la elaboración de un adecuado protocolo requiere de una integración multi-nacional, multi-institucional, multi-disciplinaria, y la creación del cuádruple “Investigador-Estado-Comunidad-Ciudadano”, para que los programas de manejo y control de la malaria funcionen.

El objetivo de este simposio es dar a conocer los recientes avances que se han logrado en las diferentes líneas de investigación relacionadas a la enfermedad, como son la evaluación de la resistencias a drogas por técnicas moleculares, la estrategia para generación de nuevas drogas, el desarrollo y mejoramiento de técnicas de diagnóstico, el entendimiento de los mecanismos celulares del parásito para la invasión de las células hospedadoras, el estudio de proteínas antigénicas que puedan ser usada en la generación de una vacuna efectiva contra la enfermedad, incluir dentro de las estrategias de manejo de la malaria, estudios de ecología satelital, uso de la tierra, mecanismos de transmisión, taxonomía, sistemática, eco-genética, genética de poblaciones, filogenia para el mejoramiento de los programas de control de las poblaciones vectores. Finalmente establecer una red anti-malárica con la colaboración con los diferentes grupos de trabajo y sus investigadores para el control efectivo de la enfermedad en nuestras regiones, bajo los parámetros establecidos por la OMS/OPS.

# Programa

## Sesión Parásito. Diagnóstico y Biología Celular

Lunes 16 de Julio de 2007

### Coordinadores de la mañana:

*Dres. Lilian Spencer y Anthony Holder*

### Coordinadora de la tarde:

*Dra. Amanda Maestre*

7:30-8:00	Entrega de material. Apertura-Autoridades.		
8:00-8:45	Charla inaugural.		
8:45-9:15	Actualización en el Diagnóstico de la Malaria en Venezuela. <i>Dra. No-raida Zerpa</i> (IDEA, Venezuela)		membrana del eritrocito infectado y la proteína transportadora de aniones AE-1 ó Banda 3. <i>Dr. Gilberto Payares</i> (UCV, Venezuela)
9:15-9:45	Sesión de preguntas	2:30-2:45	Sesión de preguntas
9:45-10:30	<b>Refrigerio</b>	2:45-3:15	Vigilancia molecular de la resistencia a los antimaláricos en Colombia. <i>Dra. Amanda Maestre</i> (Colombia)
10:30-11:00	<i>Plasmodium vivax</i> establece un sistema de tráfico intracelular en el glóbulo rojo parasitado. <i>Dra. Carmen Bracho</i> (IVIC, Venezuela)	3:15-3:30	Sesión de preguntas
11:00-11:15	Sesión de preguntas	3:30-4:00	<b>Refrigerio</b>
11:15-11:45	Malaria parasite invasion of red blood cells. <i>Dr. Anthony Holder</i> (Inglaterra)	4:00-4:30	Redescubriendo a las 4-aminoquinolinas como potenciales agentes antimaláricos: Nuevas modificaciones. <i>Dr. Simón López</i> (USB, Venezuela)
11:45-12:00	Sesión de preguntas	4:30-4:45	Sesión de preguntas
12:00-2:00	<b>Almuerzo</b>	4:45-5:00	Cierre
2:00-2:30	Localización topográfica de antígenos de <i>Plasmodium</i> spp. en la		

---

## Sesión Drogas Antimaláricas

Martes 17 de Julio de 2007

### Coordinador:

*Dr. Randolph Alonso*

- |           |   |             |   |
|-----------|---|-------------|---|
| 8:00-8:45 | Desarrollo de componentes potenciales de candidatos a vacunas contra la malaria basados en pseudopéptidos de isómeros de enlaces peptídicos derivados de secuencias conservadas del <i>Plasmodium falciparum</i> . <i>Dr. José Manuel Lozano</i> (Colombia) | 9:45-10:30  | <b>Refrigerio</b>   |
| 8:45-9:15 | Infección malárica, estrés oxidativo y anti-maláricos. <i>Dra. Neira Gamboa</i> (UCV, Venezuela)  | 10:30-11:00 | Compuestos semi-sintéticos con actividad biológica de interés obtenidos a partir de metabolitos secundarios encontrados en la naturaleza. <i>Dr. Randolph Alonso</i> (Costa Rica) |
| 9:15-9:45 | Sesión de preguntas   | 11:00-11:15 | Sesión de preguntas   |
|           |   | 11:15-12:00 | Mesa Redonda. <i>Coords. Dres. Amanda Maestre y Gilberto Payares</i>  |
|           |   | 12:00-2:00  | <b>Almuerzo</b>   |

## Sesión Epidemiología de la Malaria

### Coordinador:

*Dr. Jesús Berti*

- |           |  |           |   |
|-----------|--|-----------|---|
| 2:00-2:30 | Diseño de un sistema de vigilancia y control de la Malaria en el contexto de la descentralización de los servicios de salud. Municipio Cajigal, Estado Sucre. <i>Dra. Nereida Delgado</i> (UCV, Venezuela) | 3:15-3:30 | Sesión de preguntas   |
| 2:30-2:45 | Sesión de preguntas  | 3:30-4:00 | <b>Refrigerio</b>   |
| 2:45-3:15 | Ecoepidemiología o Paisaje de la Enfermedad: una disciplina emergente o re-mergente para el estudio de la malaria en Venezuela. <i>Dra. María Eugenia Grillet</i> (UCV, Venezuela)                         | 4:00-4:30 | Uso de la tierra, diversidad de especies y transmisión de malaria en Venezuela. <i>Dra. Yasmín Rubio-Palis</i> (MSDS-Venezuela) |
|           |  | 4:30-4:45 | Sesión de preguntas   |
|           |  | 4:45-5:00 | Cierre  |

## Sesión Ponencias Libres

Miércoles 18 de Julio de 2007

**Coordinadora de la mañana:**

*Dra. Yasmín Rubio-Palis*

**Coordinadora de la tarde:**

*Dra. Nereida Delgado*

8:00-9:15	Ponencias libres.	2:00-2:30	Ponencias libres
9:15-9:45	Sesión de preguntas	2:30-2:45	Sesión de preguntas
9:45-10:30	<b>Refrigerio</b>	2:45-3:15	Ponencias libres
10:30-11:00	Ponencias libres	3:15-3:30	Sesión de preguntas
11:00-11:15	Sesión de preguntas	3:30-4:00	<b>Refrigerio</b>
11:15-11:45	Ponencias libres	4:00-4:45	RED-PLASMA. <i>Coords. Dras. Lilian Spencer y Jazmín Arrivillaga</i>
11:45-12:00	Sesión de preguntas	4:45-5:00	Cierre
12:00-2:00	<b>Almuerzo</b>		

## Sesión Vectores

Jueves 19 de Julio de 2007

**Coordinadora de la mañana:**

*Dra. Jan Conn*

**Coordinadora de la tarde:**

*Dra. Jazmín Arrivillaga*

8:00-8:45	Conflicts in Anophelinae Taxonomy. <i>Dra. Maria Anice Sallum</i> (Brasil)	Epidemiological Studies. <i>Dra. Jan Conn</i> (USA)
8:45-9:15	Impacto de la Filogenética en <i>Anopheles</i> y malaria. <i>Dr. Juan Carlos Navarro</i> (UCV, Venezuela)	11:00-11:15 Sesión de preguntas
9:15-9:45	Sesión de preguntas	11:15-11:45 ¿Por qué un enfoque genético? <i>Dra. Yadira Rangel</i> (UCV, Venezuela)
9:45-10:30	<b>Refrigerio</b>	11:45-12:00 Sesión de preguntas
10:30-11:00	Importance of Population Genetics and Phylogeography to Malaria	12:00-2:00 <b>Almuerzo</b>

---

2:00-2:30	Control de vectores. Pasado, presente y futuro. <i>Dr. Jesús Berti</i> (IAE, Venezuela)	2:45-4:00	Mesa Redonda. <i>Coord. Maria Anice Sallum y Juan Carlos Navarro</i>
2:30-2:45	Sesión de preguntas	4:00-4:30	Cierre Jornada
		4:30-5:00	Evento Cultural

---

---

# Conferencias

## Sesión Parásito. Diagnóstico y Biología Celular

### Actualización en el Diagnóstico de la Malaria en Venezuela

Noraida Zerpa

Centro de Biociencias y Biología Molecular, Fundación Instituto de Estudios Avanzados. Caracas, Venezuela.

La malaria afecta entre 300 y 500 millones de personas cada año en el mundo y provoca alrededor de 1 a 2,5 millones de muertes anualmente. En Venezuela se producen alrededor de 40.000 casos cada año siendo los estados Bolívar, Sucre y Amazonas los más afectados y la especie predominante *Plasmodium vivax* (81,2%). Un tratamiento oportuno dependerá de un diagnóstico inmediato y preciso y la gota gruesa y extendido de sangre sigue siendo la prueba de elección (*gold standard*) para el diagnóstico de la malaria, ya que permite la identificación de la especie parasitaria, estimación de la parasitemia y estadio de desarrollo. Sin embargo, tiene ciertas limitaciones (entrenamiento de personal, experticia y equipos), lo cual ha incentivado el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico. Esos métodos incluyen diferentes técnicas basadas en PCR (PCR anidada y RT-PCR). El límite de detección de estas técnicas es similar al método parasitológico, pero requieren personal capacitado y equipos costosos, por lo tanto están limitadas a centros de referencia. También se han introducido los ensayos inmunocromatográficos de diagnóstico rápido basados en la captura de antígeno circulante aplicables en condiciones de campo, especialmente en áreas de difícil acceso. Dos de estos métodos han sido evaluados en nuestro país, el Now<sup>®</sup> ICT<sup>™</sup> Malaria Pf/Pv (Binax, Inc., Portland, ME), basado en la captura

de la proteína HRP<sub>2</sub> del parásito y de la enzima aldolasa, común para *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. malariae*. Este método mostró una sensibilidad de 81,4% y especificidad de 100% para el diagnóstico de malaria. El otro método evaluado fue el OptiMAL<sup>®</sup> el cual detecta la deshidrogenasa láctica (pLDH) del parásito, encontrándose una sensibilidad de 100% para infecciones por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en parasitemias  $\geq 200$  parásitos/ $\mu$ . Estas técnicas son de gran utilidad pero no pueden sustituir al método parasitológico.

### *Plasmodium vivax* establece un sistema de tráfico intracelular en el glóbulo rojo parasitado

Carmen Bracho

Laboratorio de Inmunoparasitología, Centro de Microbiología y Biología Celular. IVIC, Apdo. 21827. Caracas 1020-A, Venezuela.

Los parásitos *Plasmodium* durante su ciclo asexual invaden a los glóbulos rojos y se desarrollan en el interior de una vacuola parasitología. El glóbulo rojo es una célula poco activa en procesos de biosíntesis y pobre en organelos para el tráfico intracelular. Sin embargo, el desarrollo del parásito requiere de un aumento considerable en la captación de sustratos para la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y membranas. Esto se logra mediante el establecimiento de un sistema de tráfico intracelular inducido por el parásito en el glóbulo rojo parasitado (GRP). Este novedoso sistema tráfico está conformado por una red de membranas tubo vesiculares

(MTV), entre las que destacan, cisternas, vesículas y caveolas. Hemos estudiado el tráfico secretor de *Plasmodium vivax* en el GRP, mediante métodos de inmuno-localización de proteínas por microscopía de fluorescencia convencional o con focal y electrónica de transmisión. La inmuno-marcación de la Pv-148, una proteína que el parásito exporta hacia la membrana de superficie del GRP y la co-tinción de membranas con ceramida conjugada a Bodipy-FL, una sonda con afinidad por el aparato de Golgi, reveló que la Pv-148 se exporta de manera abundante y en asociación con estructuras tubo-vesiculares que se tiñen con la ceramida fluorescente. Adicionalmente examinamos la naturaleza de red MTV indagando homólogos de marcadores de organelos de tráfico intracelular de eucariotas, como el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi y las caveolas. Con estos estudios se encontraron homólogos del tetrapéptido KDEL, la sarcalumina y de una ATPasa de calcio (la SERCa-ATPasa) todos residentes del retículo endoplasmático; el primero, confinado a la región perinuclear del parásito y los otros dos, en asociación con estructuras tubulares del citoplasma del GRP. También se evidenciaron tres moléculas propias de la membrana de las caveolas, caveolina-2, caveolina-3 y flotilina-2, asociadas a estructuras vesiculares adyacentes a la membrana plasmática del GRP, donde co-localizaron caveolina-2 y flotilina-2. Ninguno de estos marcadores fue detectado en eritrocitos sanos y reticulocitos. La comparación de estos hallazgos con la organización de otros sistemas de transporte de eucariotas, indica que la red MTV establecida por *P. vivax* en el GRP, constituye un organelo complejo que conecta el parásito con el citoplasma del GRP y el entorno extracelular, con semejanzas bioquímicas al aparato de Golgi, el retículo endoplasmático y las caveolas. *Financiado por FONACIT (S1-2000000633 y F-2000001531) y FONACIT-ECOS-NORD (PI-2003000313/V04S02).*

### **Malaria parasite invasion of red blood cells**

*Anthony Holder*

Division of Parasitology, MRC National Institute for Medical Research. Mill Hill, London NW7 1AA, United Kingdom.

The malarial parasite develops in the blood and this causes the disease. The parasite must invade a red blood cell in order to replicate. The invasive form, the merozoite, is a polarized cell equipped with specialist apical organelles (for example the micronemes and the rhoptries) and a molecular motor to invade the host cell. The current model is that proteins on the parasite surface mediate the first interaction between merozoite and red cell. This interaction is augmented by proteins derived from the micronemes to form a tight junction between the two cells. The actomyosin motor lies under the surface of the merozoite and moves the tight junction towards the rear of the parasite, resulting in it moving into the vacuole that is formed by invagination of the red cell plasma membrane. Components of the rhoptries are transferred to this parasitophorous vacuole and therefore may function in vacuole development or other post-invasion processes. We have studied several parasite components to determine their role in the process of invasion. This work has identified potential vaccine components and targets for drug discovery to combat the disease.

### **Localización topográfica de antígenos de *Plasmodium* spp. en la membrana del eritrocito infectado y la proteína transportadora de aniones AE-1 o Banda 3**

*Zoraida Farías<sup>1</sup> y Gilberto Payares<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Escuela de Medicina José María Vargas.

<sup>2</sup>Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

En la infección por parásitos de la malaria, la invasión del glóbulo rojo y la reproducción asexual del parásito en el eritrocito, son responsables en gran medida de la patogenicidad de esta enfermedad. Estos eventos son acompañados de interacciones ligando-receptor, señalización, tráfico celular y diferenciación, que han sido investigados en las últimas décadas. Inmunofluorescencia y hemaglutinación con anticuerpos plasmodio-específicos, indican que anti-

genos del parásito se expresan en la superficie de los eritrocitos infectados. Igualmente, grados diversos de cambios ultra-estructurales que afectan la membrana del eritrocito infectado, han sido asociados con el desarrollo intracelular del parásito. El proceso de invasión se inicia con un reconocimiento y enlace a receptores del eritrocito, seguido por reorientación y unión del complejo apical. Un proceso de señalización conduce a la liberación de moléculas de organelos apicales que parecen mediar críticamente el movimiento e internalización del parásito en la vacuola del eritrocito. Varias macromoléculas de la membrana del eritrocito han sido propuestas como receptores de invasión de *Plasmodium* spp. El complejo sanguíneo Duffy, las glicoforinas y la Banda 3 (AE-1) son reconocidos por co-receptores de invasión en varias especies del género. La Banda 3 es la proteína integral más abundante en la membrana del eritrocito y ha sido señalada como uno de los más importantes mediadores en la invasión y colonización del glóbulo rojo por *P. falciparum*. En consecuencia, modificaciones de la banda 3 en eritrocitos infectados con este parásito, han sido reportadas. Entre otras, agregación y movilidad restringida en la membrana, reorganización y expresión de neo-antígenos. En este trabajo, hemos empleado el modelo malaria-ratón para investigar la ubicación topográfica de antígenos de *P. berghei* y *P. chabaudi*, en la membrana del eritrocito. Para ello, hemos utilizado tres métodos de radio-iodi-

nación de proteínas en la superficie de eritrocitos intactos infectados, seguido por inmunoprecipitación con anticuerpos específicos y análisis mediante SDS-PAGE y auto-radiografía. Igualmente, dos niveles de parasitemia fueron utilizados en los radio-marcajes; e.g. parasitemias altas (40-50% GR infectados) y parasitemias moderadamente bajas (15-20% GR infectados). La inmunoprecipitación de la banda 3 (proteína transportadora de aniones AE-1) en eritrocitos infectados y no infectados marcados con Bolton-Hunter y con lactoperoxidasa-glucosa oxidasa, requiere especial atención. Así, un cúmulo de evidencias han demostrado la participación de la banda 3 en la invasión del eritrocito por *P. falciparum*. Igualmente, liposomas con la banda 3 incorporada inhibieron *in vitro* la invasión de eritrocitos por *P. falciparum*. Estos resultados condujeron a los investigadores a sugerir que la banda 3 participa en el proceso de invasión en un paso que involucra una interacción específica de alta afinidad con algún componente del parásito. Mas recientemente, ha sido sugerida una interacción entre la proteína superficial del merozoíto (MSP-1) y la banda 3, como una de las vías de invasión del eritrocito. Finalmente, las modificaciones demostradas en la banda 3 como consecuencia del proceso de invasión y/o desarrollo del parásito, parecen estar involucradas en los fenómenos de cito adherencia y secuestro, de los GR infectados donde auto anticuerpos contra la banda 3, parecen jugar un papel preponderante.

## Sesión Drogas Antimaláricas

### Vigilancia molecular de la resistencia a los antimaláricos en Colombia

*Amanda Maestre*

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Cada año cerca de 200.000 nuevos casos de malaria son reportados en Colombia, de los

cuales alrededor del 23% corresponde a infección por *Plasmodium falciparum*. Para esta especie y durante los últimos 20 años, el esquema de tratamiento recomendado por el Ministerio de Salud ha sido la amodiaquina más sulfadoxina-pirimetamina. Durante los últimos cuatro años hemos evaluado la frecuencia de mutaciones en los genes *pfert* y *pfmdr-1*, relacionados con la resistencia de *P. falciparum* a diversos antimaláricos. El estudio se realizó en tres localidades del departamento de Antioquia (Turbo, El Bagre y Zaragoza) ubicado en el Nor-occidente

del país y el municipio de Tumaco, sobre la Costa Pacífica. Las mutaciones en los codones 72, 74, 75 y 76 de *pfert* y en los codones 86 y 1246 de *pfmdr-1* se estudiaron mediante PCR-RFLP. Un total de 269 muestras clínicas fueron analizadas. Los resultados confirman la fijación de la mutación en el codón 76 de *pfert* en todas las muestras estudiadas. Reportamos por primera vez en Colombia, la presencia de dos nuevos haplotipos de este gen: CMNET y SMNT. Con respecto al gen *pfmdr-1*, se detectó la presencia de alelos mutantes en un 3% de las muestras procedentes de Antioquia y este se observó en su forma silvestre en todas las muestras de Tumaco. El codón 1246 de *pfmdr-1* se encontró mutante en el 92.3% de las muestras de Antioquia y en el 22% de las de Nariño. Los resultados confirman la alta frecuencia de algunas mutaciones en los genes estudiados, lo que podría explicar la creciente falla al tratamiento antimalárico.

**Redescubriendo a las  
4-aminoquinolinas como potenciales  
agentes antimaláricos:  
Nuevas modificaciones**

*Simón López*

Departamento de Química, Universidad  
Simón Bolívar. Valle de Sartenejas,  
Caracas 1080A, Venezuela.

Debido al alarmante desarrollo de resistencia a las drogas antimaláricas tradicionales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha predicho que en ausencia de nuevas estrategias, el número de casos alrededor del mundo podría duplicarse para el año 2010.<sup>1</sup> Recientemente, se ha desarrollado un nuevo grupo de 4-aminoquinolinas efectivas derivadas de la amodiaquina, que carecen de la toxicidad de la misma y con una excelente actividad sobre cepas resistentes a la cloroquina, la más activa de ellas, Isoquina 1, actualmente se encuentra en estudios de Fase Clínica II.<sup>2</sup> En vista de la efectividad de esta última, nuestro laboratorio se encuentra desarrollando diversos derivados del tipo deoxo (incluyendo análogos fluorados) de Isoquina 2 como posibles nuevos agentes antimaláricos; la facili-

dad de su síntesis en apenas tres pasos de reacción desde materiales de partida disponibles comercialmente y en buenos rendimientos, los hace atractivos como nuevas drogas que contribuyan al establecimiento de una adecuada relación estructura química-actividad biológica en este tipo de compuestos. Se presentan también los resultados de actividad biológica preliminar de derivados del tipo 2 sobre ratones infectados con *P. yoelii*. *Agradecimiento: DID-USB (Caracas, Venezuela).*

**Desarrollo de componentes  
potenciales de candidatos a vacunas  
contra la malaria basados  
en pseudopéptidos de isómeros  
de enlaces peptídicos derivados  
de secuencias conservadas del  
*Plasmodium falciparum***

*José Manuel Lozano<sup>1,2</sup> y  
Manuel Elkin Patarroyo<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Fundación Instituto de Inmunología de  
Colombia-FIDC. Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Departamento de Farmacia y Facultad de  
Medicina, Universidad Nacional de  
Colombia. Bogotá, Colombia.

La malaria continúa siendo uno de los flagelos de la humanidad ocasionando altas tasas de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo. Como consecuencia de las nuevas condiciones climáticas ocasionadas por factores culturales y naturales la malaria en la actualidad presenta un perfil de expansión epidemiológica hacia regiones ubicadas en las zonas templadas del planeta. Hace algo más de veinte años nuestro grupo de investigación estableció una primera aproximación hacia el desarrollo de vacunas sintéticas contra la malaria. Esta condujo a la obtención de una proteína sintética híbrida denominada SPf-66, la cual tuvo una excelente eficacia protectora en el modelo animal del mono Aotus y una limitada eficacia en humanos en los diferentes estudios clínicos realizados. Posteriormente nuestros esfuerzos se han encaminado hacia la obtención de una nueva generación de vacunas contra la malaria basadas en la selección racional de péptidos no polimórficos de

alta capacidad de unión (HABPs) a sus células blanco. Una vez detectados, los residuos críticos para la unión de estos HABPs se sustituyen sistemáticamente por otros residuos seleccionados específicamente. Una estrategia alterna consiste en el desarrollo de potenciales componentes a vacuna basados en el cambio de la naturaleza de los enlaces peptídicos que unen estos residuos críticos. Este nuevo tipo de moléculas se establece como sondas estructurales particulares asociadas con actividades funcionales inmunológicamente contra la malaria, mostrando eficacias protectoras frente al reto experimental del modelo animal en ensayos in vivo postulándose como potenciales componentes de una segunda generación de vacunas multiestadio y multicomponente contra la malaria.

### **Compuestos semi-sintéticos con actividad biológica de interés obtenidos a partir de metabolitos secundarios encontrados en la naturaleza**

*Randolph Alonso y Nien Tzu Weing*

Laboratorio General de Investigación, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica (UCR). San Pedro de Oca, San José, Costa Rica.

La medicina folklórica actual en Sur-América posee información etnobotánica que se ori-

gina de la época Pre-colombina, esta información es rica en plantas medicinales y productos naturales que son capaces de tratar diversas enfermedades tropicales. Esta información etnobotánica disponible en la actualidad nos permitió identificar a la *Lasiantheae fruticosa* en Centro América y a la *Espeletia thumbnails* perteneciente a los climas de paramos de Sur-América como especies con características ideales para la obtención y extracción de kaurenos. La síntesis de productos naturales a partir de resinas de árboles tropicales es una estrategia utilizada desde hace mucho tiempo en la química de productos naturales. Nuestro interés son los novedosos compuestos semi-sintéticos obtenidos a partir de metabolitos secundarios encontrados en estas resinas. La utilización del manool, ácido grandiflorénico y el ácido podocárpico como esqueleto básico nos permitieron en el pasado obtener compuestos biológicamente activos utilizando esta estrategia. Los protozoarios pertenecientes al Phylum *Apicomplexa* han demostrado ser un verdadero reto en el desarrollo de novedosos fármacos especialmente los antimaláricos. Las nuevas dianas actualmente identificadas producto de la descodificación del ADN del *Plasmodium* han abierto una puerta a los terpenoides naturales. Nuestro objetivo fue aumentar la actividad biológica de estos diversos metabolitos secundarios encontrados en estas especies permitiendo obtener novedosos compuestos con actividad antimalárica, anticancerígena y antimicrobiana.

## **Sesión Epidemiología**

### **Uso de la tierra, diversidad de especies y transmisión de malaria en Venezuela**

*Yasmín Rubio-Palis*

Dirección de Salud Ambiental, Ministerio de Salud, BIOMED, Universidad de Carabobo. Maracay, Venezuela.

La malaria es la enfermedad transmitida por vectores más importante en Venezuela, re-

sultando un problema de salud pública. Entre los años 2000 y 2006 se reportaron un total de 241.380 casos, 70% de los cuales ocurren en los estados Amazonas y Bolívar. Las áreas de riesgo se encuentran en eco-regiones caracterizadas como malaria costera (estado Sucre) donde el principal vector es *Anopheles aquasalis*, malaria de piedemonte (estados Barinas, Táchira, Trujillo) donde el vector principal es *An. nuneztovari* y malaria en bosques de tierras bajas (estados Amazonas y Bolívar), en donde el vector es *An. darlingi*. Cambios en el uso de la tierra como re-

sultado de actividades antrópicas han creado diferentes situaciones ecológicas y epidemiológicas. La malaria costera, debida principalmente a *Plasmodium vivax*, actualmente está confinada a los estados Sucre y Delta Amacuro, con esporádicos brotes en Nueva Esparta. Estos estados principalmente habitados por criollos, cuyas actividades económicas principales son la agricultura y la pesca, con migraciones frecuentes a las zonas mineras del estado Bolívar. Los principales criaderos de *An. aquasalis* son los extensos manglares, sin embargo en ríos y caños se ha encontrado a *An. aquasalis* asociados *An. pseudopunctipennis*, *An. oswaldoi*, *An. argyritarsis*, *An. triannulatus* y *An. marajoara*. Mientras que en capturas sobre cebos humanos sólo se captura *An. aquasalis*. La malaria de piedemonte, que abarca varios estados occidentales, fundamentalmente es causada por *P. vivax*, el vector principal es *An. nuneztovari* y pueden estar involucrados en la transmisión *An. marajoara* y *An. oswaldoi*. La actividad económica principal es la agricultura y ganadería, para lo cual se han talado extensas áreas de bosques creando las condiciones propicias para el establecimiento de una fauna de anofelinos muy diversa. Hasta el presente se han reportado 11 especies antropofílicas: *An. nuneztovari*, *An. triannulatus*, *An. marajoara*, *An. oswaldoi*, *An. strodei*, *An. rangeli*, *An. benarrochi*, *An. neomaculipalpus*, *An. calderoni*, *An. pseudopunctipennis* y *An. punctimacula*. La malaria de bosques de tierras bajas se ubica en los estado Bolívar y Amazonas, con circulación de las tres especies de parásitos: *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. malariae*, cambiando la formula parasitaria de un lugar a otro y de un año a otro. El área con mayor incidencia de malaria se ubica en el Alto Orinoco, habitado por aproximadamente 15.000 indígenas de la etnia Yanomami. Las prácticas agrícolas se basan en la tala y la quema. Los criaderos de anofelinos más comunes son lagunas y pozos, y el anofelino más frecuente es *An. oswaldoi*. Sin embargo, dentro de las viviendas o "shabonos", 99% de los mosquitos adultos capturados en altas densidades son *An. darlingi*. Una situación contrastante la encontramos en el estado Bolívar. En la cuenca del río Caura, habitada por indígenas de las etnias Ye'kwana y Sanema, las prácticas agrícolas de tala y quema han creado sabanas artificiales. Los criaderos principales son lagunas y has-

ta el presente se han colectado seis especies de anofelinos, siendo la más frecuente *An. oswaldoi*; mientras que en las colectas de hembras adultas con cebos humanos se han colectado cuatro especies, resultando *An. darlingi* la más abundante. En el extremo oriental del estado Bolívar, municipio Sifontes, encontramos cambios ambientales dramáticos que se han acentuado en los últimos 20 años, con deforestación masiva para minería, agricultura, explotación maderera y urbanización. Durante el año 2006, este municipio reportó una incidencia de malaria muy alta (160 casos × 1.000 habitantes) con predominio de *P. vivax*. En términos de abundancia y diversidad de especies de anofelinos, los criaderos del tipo hueco de mina, son los más productivos, colectándose 14 especies. Mientras que las colectas de hembras adultas han reportado seis especies; las más abundantes resultaron *An. darlingi*, *An. marajoara* y *An. neomaculipalpus*. Estas tres especies resultaron positivas a proteína circumsporozoitos de *P. vivax* (var. 210 y 247) y *P. falciparum* y por hende pueden estar involucradas en la transmisión. Como hemos visto, cambios antropogénicos en áreas boscosas introducen heterogeneidad ambiental, creando nuevos habitats para la oviposura de los anofelinos, resultando en un incremento de la diversidad de especies y la emergencia de vectores de los parásitos maláricos.

### **Ecoepidemiología o Paisaje de la Enfermedad: una disciplina emergente o re-emergente para el estudio de la Malaria en Venezuela**

*María Eugenia Grillet*

Laboratorio de Biología de Vectores,  
Instituto de Zoología Tropical,  
Facultad de Ciencias, Universidad Central  
de Venezuela. Caracas, Venezuela.

La ecoepidemiología ha surgido recientemente como una disciplina que brinda el marco conceptual para el estudio de los factores ecológicos y epidemiológicos, implícita y explícitamente espaciales, que determinan el riesgo o incidencia de la infección bajo la concepción de que las enfermedades ocurren en un paisaje determinado. Sin embargo, ya a principios del si-

glo pasado, el parasitólogo Pavlovsky había insinuado esta aproximación para el estudio de las enfermedades, en lo que el describió como la “epidemiología del paisaje”. Esta aproximación fue sustentada por Pavlovsky en base a 3 observaciones: 1) las enfermedades tienden a estar limitadas geográficamente; 2) esta variación espacial surge a su vez por la variación espacial en las condiciones físicas ó biológicas donde se desenvuelve la interacción patógeno-vector-hospedador; y 3) si podemos “mapear” esas condiciones bióticas y abióticas, entonces se puede predecir el riesgo presente y futuro de la infección. Como un ejemplo, la distribución espacial de la malaria está condicionada en una primera instancia por el rango de distribución geográfico y las preferencias de hábitat del vector *Anopheles*, el hospedador humano y la especie de *Plasmodium* involucrada. Varios procesos ecológicos pueden dar origen a estos patrones espaciales de riesgo o incidencia de infección (ej: dispersión localizada del patógeno, insecto y/o hospedador). En el presente trabajo, describiremos brevemente cómo la disciplina de la ecoepidemiología ha abordado el estudio de las causas y consecuencias de la heterogeneidad de la malaria. Adicionalmente, trataremos de entender cómo la dinámica espacial de esta infección y la estructura del paisaje influyen sobre la manifestación epidemiológica de la enfermedad.

### **Diseño de un sistema de vigilancia y control de la Malaria en el contexto de la descentralización de los servicios de salud. Municipio Cajigal, estado Sucre**

*Nereida Delgado*<sup>1</sup>, *María Eugenia Grillet*<sup>2</sup>, *Yadira Rangel*<sup>2</sup>, *Juan Carlos Navarro*<sup>2</sup>, *Jazmín Arrivilla*<sup>3</sup>, *Darjaniva Molina de Fernández*<sup>4</sup>, *Jesús Berti*<sup>4</sup>, *Yasmín Rubio*<sup>5</sup>, *José Luis Cáseres*<sup>5</sup> y *Frances Osborn*<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía, Apdo 4579, Universidad Central de Venezuela (UCV). Maracay 2101-A, Venezuela. <sup>2</sup>Instituto de Zoología, UCV. Caracas, Venezuela. <sup>3</sup>Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

<sup>4</sup>Institutos de Altos Estudios, Maracay,

Venezuela. <sup>5</sup>Ministerio del Poder Popular para la Salud, Maracay, Venezuela.

<sup>6</sup>Universidad de Oriente, Sucre, Venezuela.

La descentralización del Programa de Control de la Malaria en el contexto de la descentralización de los servicios de salud, implica contar con personal capacitado en los municipios maláricos, además de un programa de actividades de control, adaptado a las circunstancias humanas y ambientales de los focos. Debido a la estructura actual de los municipios, éstos no están en capacidad, al menos por los momentos, de desarrollar la investigación operativa conducente al control de la malaria en su territorio, lo cual hace necesario que las instituciones de investigación y control del país desarrollen protocolos ajustados a las condiciones ecológicas, sociológicas y económicas de los focos maláricos. El presente proyecto plantea el desarrollo de un protocolo de vigilancia y control de malaria aplicado para el municipio Cajigal, estado Sucre, calificado como el principal foco malárico del Oriente del país. Dicho protocolo está siendo desarrollado en forma conjunta por los organismos responsables del control de la malaria e instituciones de investigación. El protocolo de control se sustenta en los siguientes componentes de investigación operativa: 1. Estudio eco-epidemiológico retrospectivo (histórico), prospectivo (longitudinal), transversal (prevalencia) y de estratificación de la malaria. 2. Estudio de las variables relacionadas con los patrones de transmisión: humanas, parasitológicas, entomológicas, ecológicas y geográficas. Estos estudios comprenden no sólo aspectos descriptivos cuantitativos, sino también la puesta a prueba de hipótesis derivadas de estudios previos sobre el proceso de transmisión de la malaria y su control. 3. Evaluación de la efectividad de los controles actualmente utilizados y la exploración de metodologías alternativas de control de la malaria. 4. Integración de los estudios antes indicados en un Sistema de Información Geográfica que proporcione nueva información, análisis espaciales y mapas temáticos. El protocolo de control de la malaria, elaborado con la participación de todo el equipo, será implementado durante el tercer y cuarto año por las autoridades locales de salud, buscando establecer un Sistema de Vigilancia Epidemiológico y de Control

adaptado a la localidad, que sea efectivo y sostenido en el tiempo. El impacto de las medidas de control se evaluará simultáneamente durante el tercer y cuarto año mediante indicadores epidemiológicos, estudios de prevalencia con búsqueda activa de casos y mediante parámetros entomológicos que expresen la circulación del parásito en la población de vectores. El proyecto se sustenta en la experticia de los distintos laboratorios participantes, en la interconexión de los mismos para desarrollar la investigación y en el interés expresado por las autoridades del estado

Sucre, FundaSalud y la Alcaldía de Cajigal. Los laboratorios participantes pertenecen a las siguientes instituciones: Instituto de Altos Estudios en Salud Dr. Arnoldo Gabaldón (Ministerio de Salud), Instituto de Zoología Agrícola (Facultad de Agronomía-UCV), Instituto de Zoología Tropical (Facultad de Ciencias-UCV), Unidad de Biología Evolutiva de la Universidad Simón Bolívar, Departamento de Salud Pública de la Universidad de Carabobo, e Instituto de Biomedicina de la Universidad de Oriente. *Subvención Fonacit G- 2000001541.*

## Sesión Vectores

### Conflicts in Anophelinae Taxonomy

*Maria Anice Sahum*

Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo, Brasil.

The subgenus *Nyssorhynchus* comprises 33 species that are largely known to be problematic for identification using only female morphological characters, mainly due to their intraspecific variation and interspecific similarity. Some *Nyssorhynchus* mosquitoes belong to species sibling species complexes. Distinct species of a complex may have distinct feeding behaviors, and thus may play a distinct role in *Plasmodium vivax* and *P. falciparum* transmission. Consequently, the proper identification of malaria vectors is of fundamental importance for the design of an adequate malaria control program. The Brazilian National Program for Malaria Prevention and Control is divided into nine components. One of the components is the selective control of vectors. Thus, any measures adopted should be dependent on which mosquitoes species are important in malaria transmission in a given locality. Consequently, entomological studies are necessary for both knowing the species composition in a certain location and for understanding ecological and biological aspects of those species that have vector poten-

tial. Species identification either needs to be based on invariant characters, or the variability of the characters determined among the individuals of the species. Larger samples composed of several specimens from each locality, and from distinct localities covering the known geographic distribution of the species, should be analyzed. We advocate the use of associate adults male and female and immature stages for *Anopheles* species.

### Impacto de la Filogenética en Anopheles y Malaria

*Juan Carlos Navarro*

Laboratorio de Biología de Vectores,  
Instituto de Zoología Tropical,  
Facultad de Ciencias, Universidad Central  
de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Durante el siglo XX, luego del descubrimiento de la transmisión de la malaria por mosquitos del género *Anopheles* se inició el estudio de sus especies desde un enfoque alfa-taxonómico (descripciones, identificaciones y clasificaciones). Más recientemente, el enfoque ha sido dirigido hacia los estudios sistemáticos con el apoyo y uso de métodos cladísticos y el desarrollo de las técnicas de PCR y secuenciación de

ADN. De esta manera, el uso de caracteres morfológicos y moleculares se han orientado a responder preguntas y resolver aspectos no aclarados en la clasificación natural de los grupos de anofelinos, las delimitaciones entre taxa, así como también proponer hipótesis de filogenia y de estructura poblacional no solo con fines taxonómicos y sistemáticos, sino también para encontrar respuestas sobre mecanismos de especiación, competencia vectorial, diferenciación eco-geográfica, biogeografía e identificación de genes y sistemas reguladores. Estudios en diferentes grupos de Anofelinos se llevan a cabo con la orientación antes descrita. Esta charla enfocará el impacto obtenido por métodos filogenéticos en *Anopheles* con énfasis en el Neotrópico.

### **Importance of Population Genetics and Phylogeography to Malaria Epidemiological Studies**

*Jan Conn*

Research Scientist Griffin Laboratory,  
Wadsworth Center. 5668 State Farm Road,  
Slingerlands NY, USA

Population genetics and phylogeography of individual malaria vectors can provide estimates of effective population size ( $N_e$ ) before and after insecticide or other control methods have been applied as a way to monitor the effectiveness of these methods. Threshold levels have to be established for each species first. The estimates of levels of gene flow among populations of each species are useful in predicting how quickly insecticide resistance can spread. Gene flow estimates can also provide information about proposed highway building projects, or logging operations, if it is demonstrated that the construction or logging operations increase vector abundance (by augmenting breeding habitats or creating additional resting sites for adults) and malaria transmission. The estimates of the number of populations that exist within a species (*i.e.*, the population boundaries) are valuable in understanding whether the same control methods will work for distinctive populations. In some cases, distinctive populations are actually incipient species, which may or may not be effective

malaria vectors. Phylogeographic studies can provide information on the timing of population expansions and bottlenecks. Such information can be used to predict the potential spread of malaria transmission foci. The identification of parallel influences, such as expansions, and hot-spots of high divergence or speciation, on different vector species provides additional information that can also be used predictably in understanding species migration patterns.

### **¿Por qué un enfoque genético?**

*Yadira Rangel*

Laboratorio de Biología de Vectores,  
Instituto de Zoología Tropical,  
Facultad de Ciencias, Universidad Central  
de Venezuela. Caracas, Venezuela.

El estudio de la estructura genética poblacional de vectores de malaria cohesiona la comprensión de las diferencias y similitudes en poblaciones naturales a variables biológicas, físicas, geológicas e histórico-demográficas. Los vectores importantes en la transmisión de malaria en Centro y Sur-América forman parte del Subgénero neotropical *Nyssorhynchus* que incluye a *Anopheles darlingi*, *An. albimanus*, *An. nuneztovari*, *An. aquasalis*, de importancia regional. La complejidad estructural en el sub-género se ha manifestado en la gran heterogeneidad fenotípica (morfológica, comportamiento, capacidad vectorial) de las especies en su amplia distribución geográfica y en la alta varianza genética intra-poblacional que inter-poblacional, produciendo dificultades para aplicar modelos genético-poblacionales e inferir procesos evolutivos involucrados en la historia demográfica de las poblaciones. La presencia de complejos de especies crípticas o de especies altamente polimórficas plantea la importancia del estudio de la heterogeneidad genética inter-poblacional causada por diferencias de flujo génico, deriva génica, o por fenómenos de diversificación o expansión poblacional reciente que pueden ser moduladas por presiones selectivas que operan a distintas escalas espacio-temporales. Igualmente, estudios ecológicos sobre dispersión, dinámica poblacional, comportamiento de apareamiento

to y adaptaciones fenotípicas a varias condiciones son la clave para detectar y entender los procesos funcionales que conforman la estructu-

ra poblacional. De esta manera, un enfoque eco-genético es el método más razonable para el estudio de las especies neo-tropicales.

---

---

# Ponencias Libres

## Investigadores

### **Malaria inducida en el estado Aragua, Venezuela**

*José-Luis Cáceres, Olga Serrano,  
Fredy Peña  
y Florencio Mendoza*

Universidad de Carabobo, Maracay,  
Venezuela.

Las infecciones de malaria inducida son transmitidas por transfusión de sangre o productos sanguíneos, trasplante de órganos y agujas o equipos de inyección contaminados. La investigación epidemiológica incluyó cotejar las historias clínicas de los sospechosos con los casos de malaria registrados en cada establecimiento, entrevistas al personal médico y de enfermería de las áreas de hospitalización y examen de gota gruesa a pacientes, familiares, vecinos, además de capturas e identificación entomológica de vectores en las comunidades y áreas adyacentes de los hospitales involucrados, comprobando durante el período Junio 2005 a Abril 2006, el diagnóstico de tres casos de malaria inducida en instituciones públicas y privadas del estado Aragua, donde se juntaron el retardo en el diagnóstico y la mala praxis de técnicas de enfermería. La evidencia de estos accidentes debe conducir a la Corporación de Salud regional, a revisar las normas y técnicas de perfusión endovenosa intrahospitalaria, a la actualización científica del personal de salud en el diagnóstico, tratamiento y manejo de pacientes con enfermedades transmisibles y mantener la correspondiente supervisión sobre el funcionamiento y atención hospitalaria.

### **Malaria recurrente a *Plasmodium vivax*. Municipio Cajigal, estado Sucre, Venezuela. 2004-2005**

*Mayira Sojo-Milano<sup>1</sup>, Andrea Maldonado<sup>2</sup>,  
Néstor Rubio Pulgar<sup>2</sup>, Evangelina Campos<sup>1</sup>,  
Evencia Terán<sup>1</sup>, José Luis Cáceres<sup>3</sup>,  
Nunzio Pizzo<sup>1</sup>, Janeth Rojas<sup>3</sup> y A. Pérez<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud. Coordinación de Malaria. Maracay, Venezuela.

<sup>2</sup>Dirección del Hospital de Yaguaraparo, Corpasalud-estado Sucre. <sup>3</sup>Departamento de Salud Pública, Núcleo La Morita, Universidad de Carabobo. <sup>4</sup>Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Ciudad Habana, Cuba.

La persistencia de recaídas por malaria (definidas como actividad parasitaria diagnosticada por clínica, microscopía o ambas, en los 45 días siguientes al inicio del tratamiento), representa un evento que modifica la epidemiología de esta metaxénica en el Municipio Cajigal, área endémica del estado Sucre, foco oriental de Venezuela. Entre septiembre y diciembre de 2004, fueron reclutadas 53 personas con malaria no complicada a *Plasmodium vivax*, quienes consultaron al servicio de salud local. Bajo su consentimiento, recibieron tratamiento supervisado con Cloroquina (25 mg/Kg dosis) y Primaquina (0,25 mg/Kg/día durante 14 días) Se realizó el seguimiento de la cohorte, con la finalidad de observar la epidemiología clínica local y un probable patrón de recurrencia. Se tomaron láminas de gota gruesa y extendido de sangre capilar el día de reclutamiento, y sucesivamente los días 7, 14, 28, 42, 56,

70, 84, 112, 140 y 168. En cada encuentro, se registraron aspectos demográficos, clínicos y terapéuticos. 88,7% completó el seguimiento entre 28 y 168 días. 27,7% (13/47) presentó recurrencias parasitarias (76,9% presentó una, 7,7% dos y 15,4% hasta tres). La mayor proporción de primeros episodios, 84,6% (11/13), se presentó entre los días 54 y 80, ocurriendo 36,4% (4/11) entre los días 54 y 56 y 63,6% (7/11) entre los días 70 y 80. Los resultados destacan la importancia del seguimiento de casos de malaria a *P. vivax* durante al menos seis meses y el patrón registrado sugiere la necesidad de aumentar la evidencia que avale ensayar la modificación del esquema terapéutico estándar.

### **Does infectivity with *Plasmodium* conclusively incriminate *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albimanus* and *An. (Kerteszia) neivai* as malaria vectors in the Pacific Region of Colombia?**

Lina Gutiérrez<sup>1</sup>, Liliana Córdoba L.,  
Marina Jaramillo<sup>1</sup>, Giovan Gómez<sup>1</sup>,  
Shirley Luckhart<sup>2</sup>, Jan Conn<sup>3</sup> y  
Margarita Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Colombia. <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology and Immunology, University of California at Davis. USA. <sup>3</sup>Griffin Laboratory, Wadsworth Center, New York State Department of Health. Albany, NY, USA.

The Pacific Coast is the only region in Colombia where *Plasmodium falciparum* cases outnumber those of *P. vivax*. Of the 43 species of *Anopheles* reported for Colombia, only 3: *An. albimanus*, *An. darlingi*, *An. nuneztovari* are considered primary vectors. There is also evidence of differential susceptibility to parasite infection by different *Anopheles* species. Several studies have demonstrated the importance of *An. albimanus* as a vector in the Pacific Coast of Colombia where it is the predominant species; however, re-

cent studies by our group detected it with only low levels of parasite infection. Therefore, in our study we explored the potential participation of species coexisting with *An. albimanus* in malaria transmission in 4 localities of the Colombian Pacific Coast. From 6,355 anophelines collected, 80% were *An. albimanus*, 8.5% were *An. aquasalis*, six other species were present at %, and the rest too damaged to identify. The study of infectivity analyzing 5,259 specimens detected one *An. albimanus* infected with *P. vivax* VK247, confirmed by ELISA-PCR, and two *An. neivai* infected with *P. falciparum*, not confirmed by PCR. Overall, *An. albimanus* was both most abundant and infected with *P. vivax*; however, *An. neivai* which was present at 1%, had a proportionately higher infection rate, with *P. falciparum*. Our results suggest the importance of reevaluating the epidemiological importance of anopheline species in the Pacific coast of Colombia for the development of targeted control strategies.

### **Orientaciones para el fortalecimiento del programa de malaria en zonas remotas con población indígena del estado Bolívar, Venezuela\***

Mariapia Bevilacqua<sup>1</sup>, Lya Cárdenas<sup>1</sup>,  
Domingo Medina<sup>1</sup>, Yasmín Rubio-Palis<sup>2</sup>,  
Jorge Moreno<sup>3</sup>, Ángela Martínez<sup>4</sup> y  
Enfermeros indígenas comunitarios de la  
cuenca del río Caura<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Asociación Venezolana para la Conservación de Áreas Naturales (ACOANA), Apartado 51532, Caracas 1050-A, Venezuela. <sup>2</sup>Dirección de Salud Ambiental, Ministerio de Salud, BIOMED, Universidad de Carabobo. Maracay, Venezuela. <sup>3</sup>Centro de Investigaciones de Campo Dr. Francesco Vitanza, Tumeremo, Venezuela. <sup>4</sup>Instituto de Salud Pública (ISP), estado Bolívar, <sup>5</sup>Organización Indígena del Caura KUYUJANI, estado Bolívar.

La historia malárica de las últimas tres décadas en Venezuela revela grandes incrementos

\* Corresponde a una parte de los resultados y hallazgos obtenidos hasta la fecha, en el Proyecto Wesoichay.

en el número de casos, especialmente al sur del país donde a pesar de los esfuerzos de investigación, prevención y control, la malaria persiste como uno de los problemas críticos en salud pública. En el 2006, el estado Bolívar representó el 73,51% de los 36.595 casos de malaria diagnosticados en el país, con una Incidencia Parasitaria Anual de 17,7 casos por cada 1.000 habitantes. Para las comunidades indígenas en zonas remotas del municipio Sucre, estado Bolívar (cuenca del río Caura), la malaria representa uno de los problemas más importantes de salud y perciben la enfermedad como “últimamente incontrolable”, generando costos socioeconómicos e impactando sus esfuerzos de desarrollo y protección de territorios tradicionales. Iniciamos en el 2005 el *Proyecto Wesoichay* (*Wesoichay* significa Malaria en la lengua Caribe Ye'kwana) dirigido a formular las bases de un modelo de gestión pública para controlar la malaria en zonas remotas con población indígena en la cuenca del Caura y, fortalecer las capacidades del gobierno y comunidades para instrumentarlo. Los principales hallazgos del proyecto evidencian vacíos de información para la planificación y evaluación de la malaria; capacidad limitada de atención sanitaria y de investigación orientada al control de la enfermedad; aumento de las oportunidades de contacto hombre-vector promovido por la transformación de los ecosistemas alrededor de las comunidades y patrones de movilización de la población, dentro y fuera de su territorio tradicional y, baja participación comunitaria para identificar y adecuar respuestas a la prevención y el combate de la malaria.

### **Representación social, estilos de vida y factores de riesgo: Algunas variables para el estudio de la Malaria en Venezuela**

*Luis Alarcón<sup>1</sup> e Irey Gómez<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Escuela de Ciencias Sociales, Universidad de Oriente. <sup>2</sup>Planificación del Desarrollo Regional del estado Sucre.

Existen muchos estudios acerca de la malaria en Venezuela; pero muy pocas investigaciones

de tipo cualitativas desarrolladas con respecto a esta endemia en el país. El Grupo de Investigaciones e Innovaciones Sociales Sophis de la Universidad de Oriente, desarrolló un estudio tomando en cuenta algunas variables vinculadas al problema de la emergencia y reemergencia de la malaria en el oriente del país, específicamente nos referimos al municipio Cajigal y Mariño del estado Sucre. Nuestro objetivo fue aproximarnos al problema de la malaria desde las representaciones sociales de los pacientes y prestadores del servicio, tomando en cuenta el estilo de vida, los factores de riesgo y la movilidad demográfica. Se trabajó aproximadamente con una muestra estructural de 60 personas, entre pacientes y no pacientes, médicos y enfermeras. Metodológicamente trabajamos con el método etnográfico y hermenéutico. Fundamentamos nuestro estudio en los aportes teóricos de Moscovici (Teoría de las Representaciones Sociales) y Alarcón (Sociología de la Alteridad). Concluimos que la reemergencia de la malaria no solo se debe a razones de tipo biológico, sino también social, ambiental y político, y que mientras las políticas sanitarias obvian estas variables será muy poco lo que se pueda hacer por el control de esta endemia.

### **Estrategias de promoción de la salud ambiental para malaria en comunidades indígenas warao, 2008**

*Mayasita Josefina Castillo Almeida*

Ministerio del Poder Popular para la Salud,  
Dirección General de Salud Ambiental,  
Coordinación Nacional de Promoción  
para la Salud Ambiental.

La población indígena Warao presenta los peores indicadores de salud del país, además de los cada vez más numerosos casos de Malaria, que aumentan en proporción al deterioro de la salud ambiental de su entorno natural, ya que éste facilita las condiciones para la aparición de vectores transmisores de la Malaria. La escasa información que se dispensa a la población Warao sobre la necesidad y el sentido de algunos tratamientos médicos, así como de las estrategias de prevención de Malaria terminan por distanciar a los prestadores de salud y la comuni-

dad, quienes manifiestan concepciones y prácticas culturales y sociales que se contraponen entre sí y no poseen puntos de contacto intercultural. Ante esta realidad, se propone el diseño de una Estrategia con Pertenencia Cultural de Promoción de la Salud Ambiental con énfasis en Malaria en las comunidades Indígenas Warao de Pedernales y San José de Buja de los Estados Delta Amacuro y Monagas en 2008, que permita mejorar las condiciones de vida de más de 100 familias de la etnia, con el fin de articular los lineamientos institucionales del Estado con el empoderamiento de los grupos Warao en la búsqueda de soluciones para su problemática, basando sus acciones en la realidad social, económica y cultural. La metodología a emplear será la investigación-acción-participativa con actividades que involucren a todos los actores sociales locales. La propuesta incluye el desarrollo de material educativo bilingüe como cartillas, afiches, pendones y vídeos, así como el desarrollo de actividades artesanales, pictóricas, entre otros.

### **Talleres para multiplicadores de la salud dirigidos al control y prevención de la malaria**

*Lalena Malavé*

Ministerio del Poder Popular para la Salud,  
Dirección General de Salud Ambiental,  
Coordinación Nacional de Promoción para  
la Salud Ambiental

La prevención de la malaria constituye una importante actividad de promoción de la salud

en Venezuela. Considerando esto, el Proyecto de Control de la Malaria en las Zonas Fronterizas de la Región Andina (PAMAFRO) y la Dirección General de Salud Ambiental (DGSA) han realizado una serie de talleres de formación de multiplicadores durante los años 2006 y 2007 denominados "Reactivándonos para el control y prevención de la malaria" dirigidos a personal de salud y a las comunidades indígenas jivi, piaroa, piapoco, curripaco y sáliva cuyo objetivo fue formar multiplicadores para la construcción del conocimiento sobre la malaria. Para ello, se empleó la metodología de la investigación-acción-participativa con práctica de campo comunitaria que permitió identificar factores de riesgo asociados a la malaria involucrando a las comunidades. Dicha metodología no incluyó la participación de traductores, lo que constituyó una importante barrera de comunicación en el proceso de enseñanza-aprendizaje. El encuentro permitió observar la dificultad de muchos indígenas sobre el dominio del castellano, salvo el caso de escasos grupos indígenas que llevaron sus propios traductores. Se obtuvieron 272 personas formadas, incluyendo indígenas y criollos, así como trabajadores de la salud y comunidad. Para garantizar mejores resultados a futuro en la realización de talleres de prevención de la malaria en dicho estado, se considera necesario contemplar el acompañamiento de intérpretes de las distintas etnias por parte del Proyecto PAMAFRO y la DGSA.

## Estudiantes

### **An anti-idiotypic chicken poly-clonal antibody recognized by a mouse monoclonal antibody directed against the MSP-1<sub>19</sub> recombinant protein of *Plasmodium yoelii***

Irene Justiniano<sup>1,2</sup>, Noraida Zerpa<sup>2</sup> y Lilian Spencer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Simón Bolívar, Cell Biology. Caracas, Venezuela. <sup>2</sup>Fundación Instituto de Estudios Avanzados, Bioscience. Caracas, Venezuela.

One of the most important and well studied parasite surface proteins at the stage of the life cycle is merozoite surface protein-1 (MSP1). *Plasmodium* MSP1 undergoes proteolytic processing into several fragments, of which only the C-terminal 19 kDa fragment (MSP-1<sub>19</sub>) remains on the merozoite surface during invasion of a new erythrocyte. We have produced an anti-idiotypic antibody in chicken (IgY), that is capable of recognizing a monoclonal antibody (Mab) B6 (IgG2a) raised against the recombinant protein MSP-1<sub>19</sub> of *Plasmodium yoelii*. The Mab B6 was inoculated in ISA Brown chickens and isolated from egg yolk by Polyethylene glycol precipitation. The IgY obtained was recognized by MabB6 in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). However, no recognition was obtained by Western blots from SDS-PAGE prepared under reducing or non-reducing conditions. These results suggest that the epitope recognized by this Mab requires a specific conformational structure for the interaction between Mab and IgY. Also, hyper-immune sera from mice infected with *Plasmodium yoelii* (7 and 60% of parasitaemia) were used in ELISA tests using post-immune IgY as antigen, showing differential recognition in comparison to pre-immune IgY. Using this antibody, we have been able to obtain a mimicked antigen-like

MSP-1 response. The results of this study show that IgY anti-MabB6 mimics the epitope of MSP-1 recognized by MabB6 and hyper-immune sera of infected mice demonstrating that this IgY could be used as an antigen for diagnosis of malaria.

### **Variabilidad del gen PVS28 de *Plasmodium vivax*. Un estudio comparado con genes de primates**

Ricardo A. Chaurio González<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sección de Ecología y Evolución, Departamento de Estudios Ambientales, Universidad Simón Bolívar. <sup>2</sup>Laboratorio de Ecología y Genética de Poblaciones, Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

El polimorfismo del genoma de *Plasmodium* representa uno de los principales obstáculos en el control de la malaria. Para evaluar el polimorfismo del gen P28, que codifica una proteína de membrana de 28 kD expresada en el ciclo sexual del parásito, (a) se estudiaron las relaciones filogenéticas de especies de *Plasmodium* en primates, *P. coatneyi*, *P. cynomolgy*, *P. fieldi*, *P. fragile*, *P. inui*, *P. simiovale* y *P. vivax* y (b) se utilizaron pruebas de neutralidad con el fin de identificar los mecanismos evolutivos que determinan este polimorfismo. Los resultados de este estudio sugieren que el polimorfismo de este gen puede explicarse con el modelo neutral de evolución. Su variabilidad, aun siendo limitada, no fue igual para todas las especies estudiadas. En efecto, *P. vivax* presentó un polimorfismo menor que *P. cynomolgy* y *P. inui*. Este resultado puede ser explicado por un menor tamaño poblacional efectivo para *P. vivax*, así como por un posible cuello de botella ocurrido en *P. vivax* en tiempos pasados, al cambiar de hospedero, de macacos a humanos. Por otra parte, en

regiones de Asia con tasas altas de transmisión, el polimorfismo encontrado en el gen fue mayor que el observado en América, continente en el que existen tasas de transmisión menores. El polimorfismo bajo encontrado en *P. vivax* en localidades de Asia y América, aunado a la actividad inmunogénica reportada en epítopes de la proteína, sugieren su uso en el diseño de vacunas bloqueadoras de la transmisión de malaria.

### **Vigilancia molecular de la resistencia de *Plasmodium falciparum*: análisis y aplicación de los marcadores genéticos de resistencia a los antimaláricos en especial a artemisinina y sus derivados**

Eliana Restrepo Pineda<sup>1</sup>, Amanda Maestre<sup>1</sup>, Virgilio do Rosario<sup>2</sup> y Pedro Cravo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Sede de Investigación Universitaria. Medellín, Colombia. <sup>2</sup>Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais/IHMT/UEI Biología Molecular/UEI Malária. Lisbon, Portugal.

La frecuencia de mutaciones en los genes *pfert* y *pfmdr1* de *Plasmodium falciparum* fue estudiada en tres regiones Colombianas endémicas para malaria. También se estudió la asociación de estas mutaciones con el número de copias del gen *Pfmdr1* y con el análisis *in vitro*. Se estudió además el polimorfismo de una región del gen ubiquitina como un posible candidato involucrado en el desarrollo de la resistencia. El análisis de los SNPs en los genes *Pfert* y *Pfmdr1* se realizó mediante PCR-RFLP. La respuesta *in vitro* a los antimaláricos CQ, QN, MFQ, AQ, DAQ, AS y DHA se realizó en 23 muestras provenientes de Neocóli. Estos resultados se relacionaron con el número de copias del gen *Pfmdr1*, el cual fue obtenido mediante Real Time PCR. Los resultados obtenidos permiten confirmar alta resistencia *in vitro* a la CQ (74%), MFQ (30%) y DAQ (30%). Encontramos una correlación positiva entre el IC50 de algunas drogas. El alelo 86N del gen *pfmdr1* se encontró en el 100% de las muestras y el alelo 1246Y del mismo gen en el 93%. Ambos alelos se presentan in-

dependientemente de la respuesta a las drogas obtenidas para los aislados. La presencia de las mutaciones T76 y E75 en el gen *pfert* fue confirmada en el 100% de las muestras. El análisis del número de copias fue independiente de los resultados del IC50. La correlación positiva entre los IC50 de algunas de las drogas analizadas en los aislados de *P. falciparum*, sugiere resistencia cruzada *in vitro*. La alta frecuencia de los alelos analizados en los genes *pfert* y *pfmdr1* indican selección de estos polimorfismos por los antimaláricos usados. En conclusión los resultados sugieren la necesidad de implementar esta medida de análisis a gran escala para un efectivo control del problema.

### **Variabilidad temporal-espacial de las formas adultas de *Anopheles pseudopunctipennis* en Las Yungas, Argentina**

Dantur Juri<sup>1</sup>, A.M. Zaidenberg<sup>2</sup>, G.I. Claps<sup>1</sup>, M. Santana<sup>3</sup> y W.R. Almirón<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Superior de Entomología "Dr. Abraham Willink", Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. <sup>2</sup>Coordinación Nacional de Control de Vectores, Ministerio de Salud de la Nación. Salta, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. <sup>4</sup>Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba, Facultad de Ciencias Físicas, Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Los patrones de abundancia temporal y espacial de *Anopheles pseudopunctipennis* así como sus relaciones con las variables climáticas fueron estudiadas en el noroeste de Argentina, en donde la especie es el principal vector inculminado en la transmisión de la malaria. Las formas adultas fueron colectadas mensualmente en un período de 4 años en 6 localidades ubicadas en dos parches de la selva de Las Yungas. Se colectó un total de 5006 ejemplares, de los cuáles la mayoría correspondió al parche norte (98,26%) y en menor escala al parche meridio-

nal (1,74%). Se observó una fluctuación característica con picos de mayor abundancia para la primavera tanto en el parche norte como en el parche meridional. En cuanto a las variables climáticas más relacionadas con la fluctuación de la especie, se encontró que para el parche norte, la temperatura máxima y mínima media, la humedad mínima media y la precipitación acumulada resultaron significativas. Para el parche sur, únicamente la precipitación acumulada resultó ser altamente significativa. Por último se observó como la ubicación geográfica de las localidades tiene su efecto sobre la densidad de la especie solamente para el parche norte de Las Yungas, llegando a disminuir en un 80% la densidad de mosquitos a medida que aumenta la latitud. Esto último sumado a la relación con las variables climáticas, serviría para comprender el ciclo de la especie en la naturaleza, y por ende para planificar futuras estrategias de control.

### **Identificación molecular de especies pertenecientes al Grupo Oswaldoi de la Costa Pacífica de Colombia**

Astrid Cienfuegos<sup>1</sup>, Liliana Córdoba<sup>1</sup>, Giovan Gómez<sup>1</sup>, Shirley Luckhart<sup>2</sup>, Jan Conn<sup>3</sup> y Margarita Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Colombia. <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology and Immunology, University of California at Davis. USA. <sup>3</sup>Griffin Laboratory, Wadsworth Center. New York State, USA.

La identificación correcta de anofelinos es esencial para la incriminación de especies vectoras. Se ha reportado que especies pertenecientes al Grupo Oswaldoi, como: *An. rangeli*, *An. nunestovari*, *An. oswaldoi* y *An. strodei*, pueden ser confundidos al utilizar las claves disponibles, debido a la similitud interespecífica y variación intraespecífica. Nuestro trabajo pretende diseñar herramientas moleculares que permitan la discriminación de especies que presentan solapamiento morfológico. Previamente, se desarrolló en nuestro laboratorio una PCR-RFLP (*AfuI*) basada en la región ITS2 del rDNA, que

permite identificar entre otras, tres especies del Grupo Oswaldoi. En el presente estudio se aplicó esta metodología en especímenes colectados en la Costa Pacífica de Colombia, para conocer su aplicabilidad a otras localidades. El patrón PCR-RFLP obtenido, mostró que especímenes identificados por morfología como *An. rangeli* eran *An. nunestovari* (n=5) y algunos especímenes *An. nunestovari* tenían un patrón compatible con *An. oswaldoi* (n=21). Adicionalmente, para discriminar un mayor número de especies en este grupo, se utilizó análisis bioinformático y molecular de la región ITS2. El análisis bioinformático mostró una alta similitud de las secuencias entre las especies; por ello, para la discriminación por PCR-RFLP-ITS2 de seis especies en este grupo, es necesario utilizar dos enzimas de restricción, *FspI* y *Cac8I*. Esta nueva metodología permitirá la discriminación rápida y confiable de un gran número de mosquitos, siendo de utilidad para el desarrollo de estudios complementarios que permitan un mayor acercamiento al entendimiento de la dinámica de transmisión de malaria en Colombia.

### **Análisis espacio-temporal de la persistencia de malaria mediante modelos digitales de terreno en un área endémica**

Juan Martínez y María E. Grillet

Laboratorio de Biología de Vectores, Instituto de Zoología Tropical, Universidad Central de Venezuela.

El análisis de variables continuas mediante modelos digitales de terreno (MDT) basado en métodos de interpolación geoestadística permite la descripción de la variación temporal de fenómenos en función de su distribución espacial. Mediante la elaboración de modelos digitales de terreno utilizando herramientas de análisis geoestadístico (Geostatistical Analyst de ArcGIS), se efectuó una interpolación de datos referentes a la persistencia mensual de malaria a nivel local durante el periodo 2001-2003 dentro del Municipio Cajigal (Estado Sucre), una de las tres áreas endémicas de malaria en Venezuela, logrando la descripción de la distribución para

los 36 meses bajo estudio, así como la determinación de la dinámica espacial de la enfermedad a nivel subregional. De igual manera se determinaron focos calientes (*hot spot*) a partir de los MDT apoyándose en el análisis temporal de la distribución espacial de persistencia de la enfermedad. El análisis para la determinación de patrones de distribución espacial a partir de la

agrupación de datos mediante operadores de vecindad extendida (*cluster*) permitió la identificación de aquellas localidades con alta y persistente transmisión consideradas focos calientes y como estas determinan la persistencia en aquellas localidades con moderada o baja transmisión consideradas como focos fríos (*cool spot*).