

## Malaria

### BIOLOGÍA MOLECULAR

#### Análisis del polimorfismo genético de la proteína Pvs 48/45 de muestras colombianas de *Plasmodium vivax*

Alejandra Tobón, Diana Acero, Catherin Marín, Sócrates Herrera, Myriam Arévalo

Centro Internacional de Vacunas, Cali, Colombia

**Introducción.** La proteína Pfs48/45 de *Plasmodium falciparum* ha sido ampliamente estudiada como blanco de vacuna bloqueadora de la transmisión; es expresada en la superficie del microgametocito y está involucrada en el reconocimiento entre gametos y la formación del cigoto en el mosquito. Pocos estudios se han hecho con respecto a vacunas bloqueadoras de la transmisión en *Plasmodium vivax*.

Este estudio identificó el gen *Pvs48/45*, homólogo de *Pfs48/45*, y evaluó el polimorfismo del gen para determinar su variabilidad en diferentes aislamientos clínicos, procedentes de diferentes regiones geográficas de Colombia. El nivel de variabilidad y de polimorfismo de este gen determinará el potencial como blanco para vacuna bloqueadora de la transmisión.

**Materiales y métodos.** Se realizó la extracción de ADN de 21 aislamientos clínicos de pacientes con enfermedad aguda por *P. vivax*. Se diseñaron iniciadores específicos para la amplificación del gen *Pvs48/45* con base en la secuencia de la cepa de referencia para *P. vivax* Sal I. Los productos de 21 muestras clínicas procedentes de diferentes regiones geográficas, fueron purificados, clonados y secuenciados. Mediante el análisis del alineamiento de las secuencias se evaluó el nivel de conservación, polimorfismos y alelos presentes de este gen.

**Resultados.** El análisis del alineamiento mostró un alto nivel de conservación y alta similitud con la secuencia de *P. falciparum*. Se identificaron 15 variantes alélicas para este gen, dos de las cuales mostraron mayor frecuencia entre los clones analizados. Las sustituciones no sinónimas fueron más frecuentes que las sustituciones sinónimas. No se observó ninguna asociación con respecto a la región geográfica.

**Conclusiones.** El gen muestra un alto nivel de conservación entre los aislamientos analizados,

sin embargo, las posiciones polimorfas sugieren una presión evolutiva ejercida por el sistema inmune del huésped, confirmando así la capacidad inmunógena de este blanco y sustentando el uso de esta proteína como vacuna bloqueadora de la transmisión.

• • •

#### Pruebas inmunocromatográficas SD Bioline® en el diagnóstico de malaria en Venezuela

Carlos Correa-Martínez<sup>2</sup>, Joseph González<sup>2</sup>, Jacinta Capaldo<sup>3</sup>, Rosalba Pabón<sup>3</sup>, Óscar Noya<sup>1,3</sup>, Albina Wide<sup>1,2,3</sup>, Evelyn Zorrilla<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Parasitología, Escuela "Luis Razetti", Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Laboratorio de Biotecnología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Centro para Estudios sobre Malaria, Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Ministerio del Poder Popular para la Salud, Caracas, Venezuela

<sup>4</sup> Laboratorios Heiga, Caracas, Venezuela

**Introducción.** Los métodos inmunocromatográficos surgen con el propósito de corroborar en menor tiempo la infección palúdica y asumir una conducta terapéutica oportuna.

**Objetivo.** Evaluar el potencial de las pruebas SD Bioline® en la detección de infecciones por *Plasmodium* spp.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron muestras de sangre entera de personas procedentes de focos palúdicos de Venezuela: 120 sintomáticos y 133 asintomáticos. Se determinó la parasitemia y se realizaron tres modalidades de las pruebas inmunocromatográficas SD Bioline®: estuche A, detecta la HRP-II (*P. falciparum*) y pLDH común al género *Plasmodium*; estuche B, detecta pLDH (*P. falciparum* y común al género), y estuche C, detecta HRP-II y pLDH de *P. vivax*.

**Resultados.** En ambos grupos evaluados, las pruebas resultaron ser igualmente sensibles y específicas en la detección de infecciones por plasmodios y valores diagnósticos positivos ligeramente mayores con las pruebas A y B. Así como también, sensibilidad y especificidad (>90%) en la detección de *P. vivax*, pero con valores mayores en el grupo de los pacientes asintomáticos. Se detectaron bajas parasitemias por la prueba

C, con una mayor sensibilidad que las pruebas anteriores. El límite de detección de cada una, según la carga parasitaria en sangre, fueron: >500 parásitos/μl, >300 parásitos/μl y >100 parásitos/μl L para las pruebas A, B y C, respectivamente. Los índices kappa fueron: 0,89, 0,92 y 0,87 para cada una de ellas.

**Conclusiones.** Las pruebas rápidas son fáciles de realizar y de interpretar, y permiten emitir un resultado en corto tiempo, a diferencia de la gota gruesa o el extendido. Estas pruebas representan una alternativa en áreas remotas de alta transmisión palúdica donde no se dispone de microscopio. Además, son complemento valioso al diagnóstico parasitológico y en el tratamiento oportuno contribuyendo a la disminución de la morbilidad y mortalidad.



### Expresión de la proteína recombinante Pvs48/45 en células eucariontes HEK 293-Flp-In para el diseño de vacunas bloqueadoras de la transmisión contra la malaria

Catherin Marín<sup>1</sup>, Liliana Soto<sup>1</sup>, Mariana Santos<sup>1</sup>, Jenniffer Castellanos<sup>1</sup>, Myriam Arévalo-Herrera<sup>1,2,3</sup>, Sócrates Herrera<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Centro Internacional de vacunas, Cali, Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Inmunología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Centro Latino-Americano de Investigación en Malaria

**Introducción.** La malaria sigue siendo considerada como una enfermedad devastadora debido a su alta incidencia a nivel mundial. Aunque se han ideado diversas estrategias para su control, pocos estudios se han centrado en el diseño de herramientas que limiten la transmisión del mosquito. La Pvs48/45 es una proteína altamente conservada que se encuentra ubicada en la superficie de los gametocitos y está involucrada en la fertilización. El propósito de este trabajo fue producir esta proteína en sistemas eucariontes con una conformación similar a la nativa, con el fin de usarla como componente de una vacuna multiestadio, lo que no sólo generaría protección, sino que limitaría la transmisión de la enfermedad a la comunidad.

**Materiales y métodos.** La Pvs48/45 fue amplificada a partir de ADN genómico de la cepa salvador 1 de *P. vivax* y clonada en el vector pSecTag/TOPO (Invitrogen). El plásmido recombinante obtenido, junto con el plásmido de integración pGO44 (Invitrogen) fueron empleados para la transfección de las células HEK 293 por el método de la lipofectamina. La proteína obtenida en el

sobrenadante del medio de cultivo, fue purificada por cromatografía de afinidad utilizando una resina de Ni-NTA y, posteriormente, fue inoculada en dos ratones Balb/c para evaluar su capacidad antigénica, por IFA, ELISA y Western blot.

**Resultados.** Se logró obtener una proteína recombinante de 55 kDa, aproximadamente. La proteína presentó alta capacidad antigénica por ELISA con títulos de 1:100 y por Western blot de 1:50. Finalmente, los ensayos de IFA demostraron que los sueros de los ratones inoculados eran capaces de reconocer la proteína nativa.

**Conclusiones.** En este trabajo se presenta una metodología para la correcta expresión de la proteína Pvs48/45 en células eucariontes, con el propósito de evaluar el potencial de esta proteína como candidato a vacuna bloqueadora de la transmisión en *Plasmodium vivax*.



### Distribución de polimorfismos en el gen *pfmdr1* de *Plasmodium falciparum* en Colombia

Claribel Murillo, Erika J. Dorado  
Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médica, Cali, Colombia

**Introducción.** Los polimorfismos de nucleótido único (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) y el aumento del número de copias del gen *pfmdr1* de *Plasmodium falciparum* han sido descritos como potenciales marcadores moleculares de resistencia a la artemisinina, la mefloquina, la quinina, la halofantrina y la lumefantrina.

En este estudio se describe la distribución de estos polimorfismos en parásitos de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron, previo consentimiento informado, 205 muestras de sangre de pacientes infectados por *P. falciparum* de cinco regiones endémicas para malaria: Antioquia (19), Chocó (50), Nariño (93), Guaviare (16) y Amazonas (26). El número de copias se evaluó mediante PCR en tiempo real. Los SNP en las posiciones 86, 184, 1.034, 1.042 y 1.246 se amplificaron con PCR anidada y los productos se analizaron por secuenciación. Como controles de reacción se emplearon cepas de referencia.

**Resultados.** Las 95 de 95 muestras evaluadas hasta el momento, presentaron solo una copia del gen. Para la posición 86, todas las muestras fueron silvestres (N86). Por el contrario, para las posiciones 184 y 1042, todas fueron mutantes (184F y 1042D). La mutación 1034C solo se observó en Amazonas y Guaviare (100 % y 44 %

de las muestras, respectivamente). La mutación 1246Y estuvo presente en las cinco regiones.

**Conclusiones.** El incremento del número de copias, que se ha asociado a la pérdida de sensibilidad a diversos antipalúdicos, no se observó en este estudio. La alta frecuencia del alelo silvestre N86 es coherente con los reportes previos del país y de Suramérica. La mutación 1034C parece ser rara en la Costa Pacífica, en contraste con los hallazgos en Perú y Guyana.

Las diferencias en la distribución de los polimorfismos pueden significar diferencias en el riesgo de selección o presencia de parásitos resistentes en las distintas regiones colombianas. Este estudio fue financiado por Colciencias-Proyecto 222940820379



### Distribución intraparasitaria del antígeno Pf45 kDa de *Plasmodium falciparum* en diferentes estadios de diferenciación

G. T. Cortés<sup>1</sup>, C. J. Gómez<sup>2</sup>, M. Camacho<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Biología Celular, Departamento de Salud Pública y Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia; Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física, Bogotá, D.C., Colombia,

<sup>2</sup> Grupo Unimol, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia,

<sup>3</sup> Grupo de Biofísica, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El ciclo intraeritrocítico asexual de *Plasmodium* tiene cuatro estadios de maduración (anillos, trofozoítos, esquizontes y merozoítos), que invaden, modifican la célula huésped y salen como formas libres (merozoítos) listos para un nuevo ciclo infeccioso. La arquitectura y la organización subcelular de *Plasmodium falciparum* no está definida. La salida de merozoítos de su célula huésped deja estructuras de membrana, denominadas MEM.

Trabajos previos de nuestro grupo generaron anticuerpos monoclonales que reconocen diferentes antígenos de las MEM. El anticuerpo monoclonal 4F8 reconoce el antígeno Pf45 kDa, que hemos caracterizado de manera parcial.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la distribución intraparasitaria del antígeno Pf45 kDa de *P. falciparum* en distintos estadios del eritrocito infectado.

**Materiales y métodos.** Se utilizó microscopía de fluorescencia convencional y confocal, se buscó

la localización subcelular del antígeno Pf45 kDa en el eritrocito infectado. Se cultivaron diferentes estadios del eritrocito infectado con *P. falciparum* que fueron preparados en láminas y suspensión, fijados con acetona, glutaraldehído al 0,05 % y permeabilización con tritón al 1%. Como anticuerpos primarios se utilizaron el anticuerpo monoclonal 4F8, y como controles, los anticuerpos monoclonales 7 y 134, que reconocen otros antígenos (Pf68 kDa y Pf44/22 kDa, respectivamente). Todos los anticuerpos monoclonales se seleccionaron con las MEM. La detección de los respectivos anticuerpos secundarios se hizo con conjugados marcados con diferentes fluorocromos, Alexa 568 y Alexa 488, y se contrastó con marcación del ADN.

**Resultados.** Encontramos una distribución diferente de Pf45 kDa en los distintos estadios. En formas jóvenes, Pf45 kDa se localiza en una estructura tubo-vesicular. En esquizontes maduros se extiende por el citoplasma y delimita zonas por fuera de los merozoítos previo a su salida.

**Conclusión.** La distribución de Pf45 kDa es diferente en cada estadio de *P. falciparum*, presenta un patrón extendido por fuera de los merozoítos, en formas maduras, antes de su salida. Este antígeno podría estar implicado en el mecanismo de salida de los merozoítos.



### Estudio preliminar del polimorfismo de los genes *hrp2* y *hrp3* de *Plasmodium falciparum* en Colombia

Erika Dorado, Claribel Murillo  
Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, Cali, Colombia

**Introducción.** La proteína rica en histidina 2 (HRP2) es el principal blanco de detección de las pruebas de diagnóstico rápido para *Plasmodium falciparum* y se usa como indicador de inhibición y crecimiento en ensayos de sensibilidad *in vitro* a los antipalúdicos. Los parásitos con delección de los genes *hrp2* y *hrp3* han sido reportados en la amazonia peruana, así como variaciones en la estructura primaria de la proteína a nivel mundial. El objetivo de este estudio fue explorar la presencia en Colombia de parásitos con delección de los genes *hrp2* o *hrp3* y la variabilidad en la proteína.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron 85 muestras de sangre recolectadas en papel filtro de pacientes de Amazonas, Antioquia, Chocó, Guaviare y Nariño, entre el 2008 y el 2009, previo consentimiento informado. La presencia o ausencia de los genes *hrp2/hrp3* se determinó mediante PCR.

Dieciséis muestras positivas para *hrp2/hrp3* fueron secuenciadas para establecer la variación en la estructura primaria de las proteínas.

**Resultados.** El 17,64 % (15/85) de las muestras evaluadas fueron negativas para *hrp2*, todas en Amazonas. El 25,88 % (22/85) fueron negativas para *hrp3*, distribuidas así: 19/27 en Amazonas, 2/10 en Antioquia y 1/10 Chocó. Las muestras positivas para *hrp2* presentaron variación en el número, orden y tipo de repetición en la secuencia de la proteína, mientras que para *hrp3* se observó el mismo patrón de secuencia.

**Conclusiones.** Se demostró la presencia de parásitos con delección en los genes *hrp2* o *hrp3* en Colombia. Este estudio sugiere que no sería indicado implementar pruebas de diagnóstico rápido basadas en la detección de HRP2 en el Amazonas. El estudio de la prevalencia y distribución geográfica de los parásitos con estas características genéticas en Colombia contribuirá a la optimización de los sistemas de vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos y diagnóstico en el país.

Este proyecto fue financiado por Colciencias-Proyecto 222951928929.



### Comparación de la PCR anidada y la PCR convencional en el diagnóstico de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*

Fabián Galvis  
Laboratorio de Biología Molecular, Grupo de Investigación BIOGEN, Universidad de Santander, sede Cúcuta, Colombia

**Introducción.** La malaria es una enfermedad causada por *Plasmodium* spp. En Colombia anualmente se registran, aproximadamente, 160.000 casos; el 75% son producidos por *P. vivax* y 24% por *P. falciparum*. El diagnóstico molecular podría realizarse mediante la PCR anidada, que es una amplificación general seguida de una específica, utilizando dos pares de cebadores diferentes.

En este trabajo se comparó la sensibilidad y la especificidad de la PCR anidada con la PCR convencional para identificar *P. vivax* y *P. falciparum* en ADN de sangre de pacientes, utilizando tres protocolos para la obtención del ADN.

**Materiales y métodos.** El ADN de los parásitos se obtuvo utilizando tres metodologías: Heidari, Chelex100 y Promega. La PCR anidada se realizó como lo plantea Calderón. En la PCR convencional se emplearon cebadores específicos, según

Calderón; la mezcla de reacción, las temperaturas y los ciclos se estandarizaron en esta investigación.

**Resultados.** La PCR anidada mostró ampliificaciones de 1.057 pb para la general, y 115 pb (*P. vivax*) y 205 pb (*P. falciparum*) en la específica. En la PCR convencional, utilizando diversos volúmenes de ADN con cada uno de los protocolos de aislamiento, se observó el producto esperado, 115 pb (*P. vivax*) y 205 pb (*P. falciparum*). La obtención del ADN con Chelex100 es rápido y económico, generando un ADN de óptima calidad y concentración adecuada para la identificación molecular de *P. vivax* y *P. falciparum*.

**Conclusiones.** La PCR convencional permitió un diagnóstico sensible ya que se observó amplificación utilizando diferentes volúmenes de ADN, y específico porque logró la identificación de *P. vivax* y *P. falciparum* sin necesidad de realizar la PCR general, característica de la PCR anidada. Esto permite una reducción considerable del tiempo de diagnóstico, costos y riesgos de contaminación por manipulación del ADN.



### La tecnología de IgY en la evaluación de la comunidad antigénica de *Plasmodium* spp. y *Anopheles* spp.

Joseph González<sup>1</sup>, Carlos Ordaz<sup>1</sup>, Enefaily Rojas<sup>1</sup>, Jacinta Capaldo<sup>2</sup>, Noraida Zerpa<sup>3</sup>, Rosalba Pabón<sup>2</sup>, Porfirio Acevedo<sup>4</sup>, Óscar Noya<sup>2,5</sup>, Albina Wide<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biotecnología-IMT, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Centro para Estudios sobre Malaria, Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Ministerio del Poder Popular para la Salud, Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Centro de Inmunoproducción, Instituto de Altos Estudios Avanzados, Caracas, Venezuela

<sup>4</sup> Centro de Investigación de Campo Francesco Vitanza, Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Ministerio del Poder Popular para la Salud, Tumeremo, Estado Bolívar, Venezuela

<sup>5</sup> Cátedra de Parasitología, Escuela de Medicina "Luis Razetti", Caracas, Venezuela

**Introducción.** La inducción de anticuerpos anti-plasmodios y anti-vector en gallinas, puede garantizar la producción de reactivos útiles en el diagnóstico de la malaria y en el estudio de la biología de la interacción parásito-huésped.

**Objetivos.** Evaluar la capacidad inmunógena de moléculas de *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* y *Anopheles marajoara*.

**Materiales y métodos.** Se inmunizaron gallinas con extractos crudos de *P. vivax*, *P. falciparum* y *An. marajoara*. Se aislaron anticuerpos a partir de las yemas de los huevos. La capacidad inmunógena

de los extractos se evaluó mediante las técnicas de ELISA, MABA y Western blot.

**Resultados.** Los extractos demostraron tener capacidad inmunógena y la respuesta de anticuerpos fue variable dependiendo del extracto crudo y de la raza genética del ave. El pico máximo de producción de anticuerpos IgY anti *P. falciparum* fue a los 21, 35 y 49 días; para *P. vivax*, a los 35 días, y para *An. marajoara*, en los días 35, 49 y 70 después de las inmunizaciones. Con la técnica de MABA se encontró reacción cruzada de las IgY contra antígenos heterólogos, y mediante *immunoblotting* se observó que las IgY anti-*An. marajoara* reconocieron 5 polipéptidos del extracto de *P. vivax* y 6 de *P. falciparum*; las IgY anti-*P. vivax* reconocieron 4 polipéptidos del extracto de *P. falciparum* y 7 de *An. marajoara*, mientras que las IgY anti-*P. falciparum* reconocieron 4 polipéptidos del extracto de *An. marajoara*.

**Conclusiones.** La tecnología de IgY es una herramienta de desarrollo fácil, bajo costo, eficiente y de alta especificidad frente a antígenos homólogos, y permite analizar el reconocimiento de los componentes antigénicos comunes de *P. falciparum*, *P. vivax* y *An. marajoara*, lo cual conllevaría a la factibilidad como herramienta en el diagnóstico de malaria.



### Evaluación del proceso de salida del parásito *Plasmodium falciparum* de su célula huésped

Lina García<sup>1</sup>, Gladys Cortés<sup>2</sup>, Marcela Camacho<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo Biofísica y Biología de Membranas, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Centro Internacional de Física, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** *Plasmodium falciparum* es un parásito eucarionte de eritrocitos y células hepáticas de humanos. El ciclo intraeritrocítico dura 48 horas, tras las cuales el parásito sale para reinfectar, por lo cual este proceso es fundamental para la supervivencia del mismo. Existen varios mecanismos propuestos para la salida del parásito, que se pueden resumir como la fusión de la vacuola parasitófora y la membrana plasmática del eritrocito y, por otro lado, ruptura de ambas membranas. El objetivo del trabajo fue determinar el mecanismo de salida del parásito y las características de este proceso.

**Materiales y métodos.** Se realizaron mediciones de deshidrogenasa láctica (LDH), calceína-AM en sobrenadantes de cultivos y se realizaron mediciones de fluorescencia. Los núcleos se marcaron con Hoechst 33342. Se exploró la expresión de genes SNARE del parásito para determinar los estadios del ciclo en los que se expresan y las diferencias entre ellos, ya que estas moléculas se asocian con fusión de membranas.

**Resultados.** Las mediciones de LDH muestran que la cantidad de citoplasma liberado es menor a la esperada en condiciones de ruptura. Las mediciones de calceína permiten hacer estimaciones del volumen de citoplasma liberado respecto al total, ya que las imágenes de fluorescencia muestran que esta sonda ingresa a la vacuola parasitófora y al interior del parásito, por lo que se puede determinar la cantidad de citoplasma liberado en la salida. Dado que la actividad de calceína depende de la viabilidad celular (por la actividad esterasa de las mismas) es posible no sólo realizar mediciones de la salida de citoplasma sino también hacer ensayos de la viabilidad del parásito. PfSNAP23 (v SNARE en humanos y otros mamíferos que interactúa con SNAP25 y sinaptobrevina) y PfYkt6.2 (v SNARE en levadura) son expresadas por *Plasmodium*.

**Conclusiones.** Los resultados encontrados sugieren que el proceso de salida de *Plasmodium* podría estar acompañado de la fusión de membranas.



### Estudio de la nicotinamida mononucleótido adenilil transferasa de *Plasmodium falciparum*, enzima clave en la biosíntesis del NAD<sup>+</sup>

Lina M. Sánchez, María Helena Ramírez-Hernández  
Laboratorio de Investigaciones Básicas Bioquímica,  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.,  
Colombia

**Introducción.** La nicotinamida mononucleótido adenilil transferasa (NMNAT; EC 2.7.7.1) se ha identificado como la enzima central en la biosíntesis del dinucleótido de adenina y nicotinamida (NAD<sup>+</sup>), molécula vital para la supervivencia de todos los organismos. En un estudio previo se identificó, clonó y expresó en exceso la NMNAT de *Plasmodium falciparum*, parásito causante de la malaria. Este primer acercamiento, además de ser necesario para entender el metabolismo del NAD<sup>+</sup> en parásitos intracelulares, puede contribuir a la identificación de nuevos blancos antipalúdicos. El objetivo del estudio fue optimizar la expresión y purificación de la PfNMNAT, y estandarizar un

ensayo directo de actividad enzimática, el cual permitiría determinar los parámetros cinéticos de la proteína y confirmar su identidad funcional.

**Materiales y métodos.** Se realizó la expresión de la proteína recombinante 6His-PfNMNAT en la cepa BL21-CodonPlus, y su purificación mediante cromatografía de afinidad empleando una resina Ni-NTA. Se determinó la actividad enzimática de la proteína purificada mediante ensayos enzimáticos directos, en los que a partir de ATP y NMN, se obtiene  $\text{NAD}^+$  el cual fue cuantificado mediante RP-HPLC. Mediante este ensayo se evaluaron rangos de pH (5 a 9), de temperatura (20 a 40 °C) y el efecto de diferentes cationes divalentes.

**Resultados.** Se determinaron las condiciones óptimas de actividad enzimática de la proteína recombinante, pH de 7,5, temperatura de 37 °C, y presencia de cationes divalentes como  $\text{Mg}^{2+}$ . A partir de estas condiciones se determinaron las constantes cinéticas de la proteína con respecto a cada sustrato, NMN y ATP:  $K_m$  de 0,75 y 0,53 mM y  $V_{m\text{áx}}$  de 0,126 y 0,325 U/mg, respectivamente.

**Conclusiones.** Al caracterizar la actividad enzimática de la proteína NMNAT de *P. falciparum*, se confirmó su identidad como enzima encargada de la síntesis del  $\text{NAD}^+$  en este parásito.

• • •

### Genetic polymorphism of *FCGRII* and *FCGIII* in *Plasmodium vivax* malaria

Rosa N. García<sup>1</sup>, Violeta Ogando<sup>1</sup>, Jaime Torres<sup>2</sup>, Mercedes Fernández-Mestre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental "Miguel Layrisse", Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

**Introduction.** Human malaria is an infectious disease caused by four species of parasitic protozoa of the genus *Plasmodium*. The acquisition of immunity to blood-stage malaria parasites depends on both antibody- and cell-mediated mechanisms. Fc receptors (FcRs) are glycoproteins expressed on the surface of all types of cells of the immune system. Interaction between antibodies of a given class and the corresponding FcR elicits a variety of cellular responses, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, generation of superoxide radicals and release of pro-inflammatory cytokines. Three classes of  $\text{Fc}\gamma\text{R}$  are found on effector cells regulating their activation:  $\text{Fc}\gamma\text{RII}$  (CD32),  $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$  (CD16) and  $\text{Fc}\gamma\text{RI}$  (CD64). The *FCGR1IA* gene (CD32) displays a functional G→A single nucleotide polymorphism in the region encoding its ligand-

binding domain, which defines two allotypes which differ in their avidity for complexed human  $\text{IgG}_2$  and  $\text{IgG}_3$ . In addition to the functional significance of the  $\text{Fc}\gamma\text{RIIIb}$ , immunologic studies have shown that the *FCGR1IB* gene (CD16) is polymorphic, bearing the important neutrophil-specific NA1 and NA2 alloantigens. The aim of the present study was to analyze the association between *FCGR1IA* and *FCGR1IB* polymorphisms and susceptibility to malaria caused by *Plasmodium vivax*.

**Materials and methods.** Whole blood was collected from 147 ethnically mixed Venezuelan subjects, classified in: patients with malaria (n=93) and healthy individuals (n=54). A PCR with sequence-specific primers was applied to establish *FCGR* polymorphism. Frequencies were determined by direct counting and Fisher's exact test was applied to determine frequency differences between groups.

**Results.** No difference in the distribution of the frequencies of H/R131 *FCGR1IA* and NA1/NA2 *FCGR1IB* variants among control and patients was found.

**Conclusion.** These preliminary results suggest that *FCGR* polymorphisms are not associated with the development of malaria and further studies are needed to determine the role of genetic factors in this disease.

• • •

### Estudio fase 1 de vacunación con péptidos sintéticos largos derivados de la proteína CS de *Plasmodium vivax*, formulados en adjuvantes Montanide ISA 720 o Montanide ISA 51

Sócrates Herrera, Olga Lucía Fernández, Omaira Vera, William Cárdenas, Óscar Ramírez, Ricardo Palacios, Mario Chen-Mok, Giampietro Corradin, Diana Rodríguez, Myriam Arévalo-Herrera  
Instituto de Inmunología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia  
Centro Internacional de Vacunas, Cali, Colombia;  
Centro Médico Imbanaco, Cali, Colombia  
Instituto de Investigaciones, Fundación Clínica Valle del Lili, Cali, Colombia  
Disciplina de Infectologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil  
Family Health International, Durham, North Carolina;  
Biochemistry Institute, University of Lausanne, Epalinges, Suiza

**Introducción.** La proteína del circumesporozoíto de *Plasmodium vivax* es expresada en abundancia en la superficie del esporozoíto; múltiples estudios preclínicos indican que se encuentra involucrada

en la invasión del parásito al hepatocito y que su bloqueo inmunológico inhibe el desarrollo de la infección.

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la seguridad e capacidad inmunógena de la mezcla de tres péptidos sintéticos largos derivados de la proteína del circumesporozoíto de *P. vivax*, formulados en adyuvantes Montanide ISA 720 o en Montanide ISA 51.

**Materiales y métodos.** Cuarenta voluntarios sanos, sin exposición previa a malaria, fueron divididos en cinco grupos experimentales (A-E) de 8 individuos cada uno. Cuatro grupos (A-D) fueron inmunizados intramuscularmente con 50 y 100 µg/dosis de una mezcla de péptidos N, R y C formulados en uno de los dos adyuvantes a los 0, 2 y 4 meses; el grupo E sirvió como grupo control recibiendo placebo

en el mismo esquema estipulado para los grupos inmunizados.

**Resultados.** Los esquemas de vacunación mostraron ser inmunógenos, seguros y bien tolerados. Ningún efecto adverso relacionado con la investigación se reportó durante el estudio. Se evidenció seroconversión en más del 90 % de los vacunados y se presentó mayor actividad de anticuerpos y producción de IFN- $\gamma$ ; en los individuos vacunados con Montanide ISA 51.

**Conclusiones.** Este estudio confirma que la inmunización con péptidos sintéticos largos de la proteína del circumesporozoíto de *P. vivax* es segura e inmunógena, confirmando así su gran potencial como vacuna antipalúdica.

• • •

## Malaria

### ENTOMOLOGÍA

#### Primer reporte de infección natural por *Plasmodium* spp. en *Anopheles triannulatus* s.l. del departamento del Amazonas, Colombia

Doris Rosero<sup>1</sup>, Carolina Torres<sup>2</sup>, Nelson Naranjo<sup>1</sup>, Giovan Gómez<sup>1</sup>, Mauricio Barbosa<sup>3</sup>, Shirley Luckhart<sup>4</sup>, Jan Conn<sup>5,6</sup>, Margarita Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Línea de Entomología Médica, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Entomología, Laboratorio de Salud Pública, Amazonas, Colombia

<sup>4</sup> Department of Medical Microbiology and Immunology, University of California, Davis, CA, USA

<sup>5</sup> Griffin Laboratory, Wadsworth Center, New York State Department of Health, Albany, NY, USA

<sup>6</sup> Department of Biomedical Sciences, School of Public Health, State University of New York, Albany, NY, USA

**Introducción.** *Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus* es un complejo de, al menos, tres especies hermanas, las cuales difieren en su participación en la transmisión del parásito y rango de distribución. Se han encontrado infectados especímenes *An. triannulatus* s.l. con *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en países vecinos como Brasil, Perú y Venezuela.

En Colombia, se desconoce su papel en la transmisión de la malaria, por lo tanto, en el presente trabajo se investigó la infección natural con *Plasmodium* spp. en especímenes *An. triannulatus* s.l. recolectados en tres localidades del departamento del Amazonas.

**Materiales y métodos.** Se analizaron mosquitos recolectados en Leticia, Puerto Nariño y Tarapacá (Amazonas), entre octubre de 2009 y octubre de 2010. Los especímenes se identificaron por morfología como *An. triannulatus* s.l. Posteriormente, fueron confirmados mediante una PCR-RFLP-ITS2 y se obtuvo la secuencia de un fragmento del gen *COI*. Se determinó la infección natural por *P. falciparum* y *P. vivax* utilizando una prueba de ELISA y PCR anidada.

**Resultados y conclusiones.** Los resultados de la PCR-RFLP-ITS2 en 353 especímenes y el análisis de 131 secuencias *COI* permitieron la confirmación

molecular como *An. triannulatus* s.l. De los 353 *An. triannulatus* s.l. evaluados, se encontraron seis especímenes infectados con una tasa de infección de 1,70. Un espécimen de Leticia, dos de Puerto Nariño y uno de Tarapacá fueron positivos para *P. vivax* con una tasa de infección de 1,14, 2,33 y 0,56, respectivamente. Fueron positivos para *P. falciparum*, uno de Puerto Nariño con una tasa de infección de 1,16 y otro de Tarapacá con 0,56.

Este es el primer reporte de *An. triannulatus* s.l. infectado con *Plasmodium* spp. en el departamento del Amazonas, lo que sugiere que *An. triannulatus* s.l. es un vector de importancia local.

• • •

#### Sitios de cría y estacionalidad de las especies de *Anopheles* en el municipio de Puerto Carreño, Vichada, Colombia

Juan Sebastián Durán<sup>1</sup>, Jan Evelyn Conn<sup>2</sup>, Helena Luisa Brochero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia

<sup>2</sup> Griffith Laboratory, Wadsworth Center, Albany, NY, United States

**Introducción.** El departamento de Vichada se ubica en la región oriental de Colombia; la malaria es la enfermedad de transmisión vectorial más prevalente en él, con zonas de alta endemia y transmisión estacional, que se alternan cíclicamente en las épocas del año de inicio de temporada de lluvias y fin de la misma.

El objetivo de el estudio fue determinar aspectos de la biología de las formas inmaduras de *Anopheles* spp. de Puerto Carreño, Vichada.

**Materiales y métodos.** Durante nueve meses del año 2009 se recolectaron formas inmaduras en los criaderos hallados en la zona urbana y periurbana de Puerto Carreño (Vichada, Colombia) para obtener series entomológicas, determinar taxonómicamente las especies, estimar la riqueza y abundancia de especies, realizar una caracterización de los sitios de cría y relacionar estas características con las especies halladas.

**Resultados.** Se inspeccionaron 21 sitios de cría para mosquitos *Anopheles*: excavaciones, 57 % (n=12); lagunas, 14,3 % (n=3); caños, 14,3% (n=3); potreros inundados, 9,5 % (n=2), y morichales, 4,8 % (n=1). Se registró *An. marajoara* s.l. en diversos

tipos de criaderos naturales y artificiales y *An. albitarsis* F restringido a uno artificial, las dos se asociaron a la época de lluvia. *Anopheles darlingi* se asoció fuertemente a criaderos naturales y presentó mayor abundancia en época de sequía. *Anopheles braziliensis* se halló en criaderos naturales y asociado a excavaciones, con un pico de abundancia en las dos épocas. Restringidas a criaderos naturales, se hallaron *An. oswaldoi* s.l. solamente registrada en época seca y *An. argyritarsis* en las dos épocas.

**Conclusiones.** En Puerto Carreño existe una acentuada estacionalidad de las distintas especies de *Anopheles* en sus sitios de cría y poseen diferentes niveles de asociación y preferencia por los distintos criaderos disponibles, siendo esto relevante para la optimización de estrategias de control de vectores de malaria en esta localidad.



### Identificación molecular de miembros del complejo *Anopheles albitarsis* en El Bagre, Antioquia

Giovan Gómez<sup>1</sup>, Yadira Galeano<sup>1</sup>, Luz Jaramillo<sup>1</sup>, Juan Marín<sup>1</sup>, Shirley Luckhart<sup>2</sup>, Jan Conn<sup>3</sup>, Margarita Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Department of Medical Microbiology and Immunology, University of California at Davis, California, USA

<sup>3</sup> Griffin Laboratory, Wadsworth Center, New York State Department of Health, New York, USA; Department of Biomedical Sciences, School of Public Health, State University of New York, Albany, NY, USA

**Introducción.** El complejo *Albitarsis* del género *Anopheles* comprende seis especies difíciles de identificar por morfología. Por ello, se ha recurrido a estrategias moleculares que permitan la identificación precisa de sus miembros, información básica para la definición de su bionomía e importancia como vectores de malaria.

El presente trabajo tuvo como objetivo esclarecer el estatus taxonómico de especímenes del complejo recolectados en El Bagre, Antioquia, y realizar una aproximación a su papel como vectores de malaria.

**Materiales y métodos.** Los especímenes se recolectaron durante cinco meses del año 2009 y se identificaron morfológicamente como miembros del complejo *Albitarsis*. Todos los individuos (n=81) se evaluaron mediante una estrategia de PCR múltiple basada en la región del espaciador interno transcrito 2 (ITS2), y 31 individuos se seleccionaron para el análisis filogenético de la secuencia de un fragmento del gen de citocromo oxidasa subunidad

I (COI). Se determinó la presencia de la proteína del circumesporozoíto, específica para *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* VK210 y *P. vivax* VK247 por ELISA y se confirmó por PCR anidada.

**Resultados.** El análisis de ITS2 reveló un patrón común a las especies *Anopheles marajoara* y *Anopheles janconnae*. A partir del análisis de COI se determinó que los especímenes pertenecen al mismo linaje descrito en la Región Caribe de Colombia, nombrado originalmente como un nuevo linaje cercano a *An. janconnae*; sin embargo, los nuevos análisis, producto del empleo de las nuevas secuencias reportadas, revelaron que este linaje se encuentra filogenéticamente más cercano a *An. albitarsis* F. No se detectó infección natural por *Plasmodium* spp. en los 81 especímenes evaluados.

**Conclusiones.** El hallazgo de este linaje en otras áreas de Colombia plantea la necesidad de profundizar en el conocimiento de su bionomía, aporta al inventario de la fauna anofelina y parece no tener importancia como vector de malaria en esta localidad.



### Abundancia y actividad de picadura de *Anopheles (Kerteszia) neivai* Howard, Dyar & Knab, asociadas con las actividades de pescadores en un área endémica de malaria en la Costa Pacífica colombiana

Jesús E. Escovar<sup>1</sup>, Ranulfo González<sup>2</sup>, Martha L. Quiñones<sup>3</sup>, Rick Wilkerson<sup>4</sup>, Bruce Harrison<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional y Universidad de La Salle, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Universidad Nacional, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Walter Reed Biosystematic Unit, Smithsonian Institution, Washington, D.C., USA

<sup>5</sup> North Carolina Department of Environmental and Natural Resources, Raleigh, NC, USA

**Introducción.** *Anopheles (Kerteszia) neivai* es un vector de malaria, cuyo contacto con los humanos es, principalmente, fuera de las viviendas. En el municipio de Iscuandé del departamento de Nariño se realizó un estudio para determinar la participación de *An. neivai* en la transmisión de malaria, asociado a la actividad de los pescadores, y en los domicilios cercanos a los sitios de pesca.

**Materiales y métodos.** Se realizaron 5 muestreos de 24 horas y 10 muestreos adicionales en las horas de mayor actividad de picadura. Los especímenes fueron recolectados cuando picaban en humanos,

y capturados en manglares, esteros, en canoas de pesca y en el intradomicilio y peridomicilio.

**Resultados.** Se capturaron 4.745 mosquitos hembra. *Anopheles neivai* representó el 78,4 % (3,721) y *An. albimanus* el 21,6 % (1.024). *Anopheles neivai* fue el más abundante en los manglares y en las canoas de pesca (90,8 %), mientras que *An. albimanus* representó el 82 % en el intradomicilio y el 73 % en el peridomicilio de las viviendas. *Anopheles neivai* mostró actividad de picadura durante todo el día en manglares, esteros y canoas, con un pico de actividad entre las 18:00 y las 19:00 (52,7 mosquito/hombre/hora), y dos picos menores, uno entre las 21:00 y las 23:00 (13,1 mosquito/hombre/hora), y otro entre las 05:00 y las 06:00 (4,9 mosquito/hombre/hora). Se estableció que en las zonas de muestreo se realizaban diariamente variadas actividades de pesca artesanal, que coincidían con la actividad de picadura de *An. neivai*.

**Conclusiones.** El comportamiento de picadura de *An. neivai* y su asociación con las actividades de los pescadores de esta región en manglares y esteros, pone a los pescadores en riesgo de adquirir malaria asociada con su actividad laboral. Se recomienda implementar las medidas de control vectorial alternativas a las medidas rutinarias de control de malaria, como la aplicación de repelentes o el uso de ropa impregnada con insecticidas.

• • •

### Estado de la sensibilidad a insecticidas de *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi*, *Anopheles (N.) nuneztovari* y *Anopheles (N.) albimanus* en ocho localidades de los departamentos de Antioquia, Cauca, Chocó, Córdoba y Valle del Cauca en el 2010

Lorena I. Orjuela<sup>1</sup>, Gabriela Rey<sup>2,3</sup>, Adriana Olaya<sup>2</sup>, Paulo C. Robledo<sup>1</sup>, John J. González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fundación Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Secretaria de Salud del Cauca, Popayán, Colombia

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** En Colombia, el control vectorial de malaria se basa en la aplicación de insecticidas de efecto residual y en la distribución de toldillos con impregnados con insecticidas de larga duración, estrategia, esta última, que está siendo implementada por el Proyecto Malaria Colombia. La utilización masiva de insecticidas genera presión de selección sobre la población de

mosquitos vectores, que podría causar resistencia a los ingredientes activos de uso en salud pública y, en consecuencia, amenazar la efectividad y el impacto de los programas de control de malaria.

**Objetivo.** Evaluar el estado de sensibilidad de las poblaciones naturales de *Anopheles darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. albimanus*, a insecticidas piretroides y organofosforados en los departamentos ámbito del Proyecto Malaria Colombia

**Metodología.** Se evaluaron poblaciones naturales de vectores primarios de malaria provenientes de ocho localidades: los municipios de Cáceres y Turbo (Antioquia), Guapi (Cauca), San José del Palmar y Beté (Chocó), Puerto Libertador y Valencia (Córdoba) y Buenaventura (Valle del Cauca), utilizando la metodología de botellas impregnadas, propuesta por los CDC. Los insecticidas evaluados fueron: deltametrina, 12,5 µg/ml; permetrina, 12,5 µg/ml; lambdacialotrina, 12,5 µg/ml; alfacipermetrina, 12,5 µg/ml; fenitrotión, 50 µg/ml, y diclorodifeniltricloroetano (DDT), 100 µg/ml. Los sitios de estudio fueron seleccionados teniendo en cuenta la carga de malaria, la presencia de vectores y la presión de selección con insecticidas.

**Resultados y conclusión.** Las poblaciones de *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. albimanus* de las ocho localidades son sensibles a los insecticidas evaluados. Se considera importante continuar la vigilancia de la resistencia a insecticidas en estas poblaciones dada la presión de selección que será ejercida en ellas luego de la intervención con toldillos con impregnados con insecticidas de larga duración PERMANET 2.0<sup>®</sup>, cuyo ingrediente activo es la deltametrina, que será implementada con coberturas superiores al 95 % en las localidades seleccionadas por el Proyecto Malaria Colombia. Además, este estudio ofrece información útil desde el punto de vista operativo al programa de prevención y control de la malaria en estos departamentos.

• • •

### Aspectos ecológicos de *Anopheles* en Montecristo, Bolívar

Luis Cortés

Unidad de Entomología de Bolívar, Laboratorio de Salud Pública, Cartagena, Colombia

**Introducción.** El municipio de Montecristo presenta la mayor incidencia de malaria, aporta el 43 % de los casos de malaria registrada en el departamento de Bolívar.

**Objetivo.** Analizar los aspectos ecológicos relacionados con la densidad de adultos y formas

inmaduras de mosquitos *Anopheles* en el área de estudio que permitan implementar una estrategia de prevención y control de malaria.

**Materiales y métodos.** El muestreo se realizó 3 días al mes durante un año en la mina El Dorado, donde se capturaron *Anopheles* en trampas Shannon desde las 17:00 a las 20:00 horas en el extradomicilio, y de las 18:00 a las 01:00 horas en cebo humano protegido en el intradomicilio y peridomicilio y se recolectaron formas inmaduras en los posibles diferentes criaderos. Se usó la matriz de correlación de Pearson para conocer el grado de asociación entre las variables independientes (temperatura, velocidad del viento, humedad relativa y precipitación) y el número de insectos adultos y formas inmaduras recolectados, utilizando Statistic® 6.0

**Resultados.** Se encontró que la especie más abundante fue *Anopheles darlingi*, seguida de *An. nuneztovari*, y *An. neomaculipalpus*. Las especies presentaron actividad constante entre las 17:00 y las 21:00 horas en el intradomicilio; se demostró que la precipitación y la humedad relativa eran las variables que presentaban mejor asociación, repercutiendo en forma determinante en las fluctuaciones estacionales de la densidad de adultos y larvas de *An. nuneztovari*, y *An. darlingi*.

**Conclusiones.** Se estableció que la mayor cantidad de encuentros hombre sensible-vector se produce en los meses cuando la velocidad del viento es relativamente más lenta y la precipitación es menor, y es en estos meses cuando se deben intensificar los métodos de prevención con toldillos y control de criaderos.

• • •

## Estudio del papel de *Anopheles nuneztovari* s.l. (Diptera: Culicidae) como vector de malaria en Montelíbano y Puerto Libertador (Córdoba) y en Buenaventura (Valle), Colombia

Margarita Peñaloza<sup>1</sup>, Manuela Herrera<sup>1</sup>, Patricia Gutiérrez<sup>2</sup>, John González<sup>3</sup>, Viviana Cerón<sup>4</sup>, Martha Ahumada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Enfermedades Transmitidas por Vectores, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Salud Pública Departamental, Secretaría de Desarrollo de Córdoba, Montería, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Vigilancia y Factores de Riesgo Ambiental, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Dentro de la caracterización entomológica de las áreas de estudio del proyecto "Piloto nacional de adaptación al cambio climático" se estableció que *Anopheles nuneztovari* s.l. es la especie más abundante en Montelíbano, Puerto Libertador y Buenaventura. Esta especie es considerada vector de malaria en Colombia. Se ha establecido la importancia de realizar estudios regionales de ecología de vectores de malaria para confirmar las especies involucradas en la transmisión y así contribuir al conocimiento de la dinámica de transmisión local.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el papel de *A. nuneztovari* s.l. como vector de malaria en Montelíbano, Puerto Libertador y Buenaventura.

**Materiales y métodos.** Entre 2009 y 2010 se realizaron capturas con atrayente humano protegido en el intradomicilio y peridomicilio entre las 18:00 y las 06:00 horas durante 3-4 días. La identificación y confirmación de *An. nuneztovari* s.l. se realizó por caracteres morfológicos y la técnica PCR-RFLP del marcador molecular ITS2, utilizando la enzima de restricción Taal. Para la detección de infección natural por *Plasmodium* spp. se utilizó la técnica de ELISA.

**Resultados.** Se identificaron 2.475 especímenes de *An. nuneztovari* s.l. Se estableció en las localidades de estudio que esta especie está presente durante todo el año y fue la más abundante durante los meses de observación. Está presente durante toda la noche con dos máximos de actividad entre las 20:00 y las 22:00 y las 02:00 y las 04:00 horas, con un comportamiento endofágico y exofágico. Se encontró infectada con *Plasmodium falciparum* y *P. vivax* VK 210 y *P. vivax* VK247.

Con respecto al grado de exposición de la población se observó que 5/7 mosquitos infectados con *Plasmodium* spp. fueron capturados entre las 19:00 y las 22:00 y 5/7 correspondieron al intradomicilio y 2/7 al peridomicilio, lo que indica que la población está expuesta a las picaduras infecciosas dentro del domicilio y fuera de él en el periodo con mayor actividad por parte de las personas.

• • •

## Parámetros entomológicos en *Anopheles* spp. de tres localidades del Pacífico colombiano

Nelson J. Naranjo<sup>1</sup>, Mariano Altamiranda<sup>1</sup>, Jennifer Sánchez<sup>1</sup>, Vanessa Cienfuegos<sup>1</sup>, Shirley Luckhart<sup>2</sup>, Jan E. Conn<sup>3,4</sup>, Margarita M. Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Department of Medical Microbiology and Immunology, University of California, Davis, CA, USA

<sup>3</sup> Griffin Laboratory, Wadsworth Center, New York State Department of Health, Slingerlands, NY, USA

<sup>4</sup> Department of Biomedical Sciences, School of Public Health, State University of New York, Albany, NY, USA

**Introducción.** El conocimiento de los parámetros entomológicos ayuda a una mejor comprensión de la dinámica de transmisión de la malaria y control del vector. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar parámetros entomológicos, como abundancia, actividad de picadura, tasa de picadura al humano, tasa de infección y tasa de inoculación entomológica, en especies anofelinas de tres localidades endémicas para malaria en el Pacífico colombiano.

**Materiales y métodos.** La captura de mosquitos se realizó en San Antonio de Padua (Antioquia), Zacarías (Valle del Cauca) y Pindales (Nariño), de febrero de 2009 a junio de 2010. En cada localidad se realizaron cuatro recolecciones, cada una de cinco noches, de las 18:00 a las 24:00, y una noche adicional, de las 18:00 a las 06:00.

**Resultados.** Se identificaron 4.009 anofelinos pertenecientes a seis especies. Las especies predominantes fueron *Anopheles darlingi* en San Antonio de Padua (98,45 %), *An. nuneztovari* s.l. en Zacarías (97,83 %) y *An. calderoni* en Pindales (73,99 %); otras especies recolectadas fueron: *An. albimanus*, *An. neivai* y *An. punctimacula*. El número total de mosquitos no presentó una distribución normal (Kolmogorov-Smirnov,  $Z=8,4$ ,  $P<0,001$ ).

En general, estas especies tuvieron picos de picadura entre las 20:00 y las 23:00. Sólo *An. nuneztovari* s.l. exhibió una preferencia endofágica en la localidad de Zacarías ( $t=3,95$ ,  $P<0,05$ ,  $n=23$ ). Todas las especies se encontraron infectadas con *Plasmodium falciparum* o *P. vivax*, excepto *An. albimanus*. A pesar de que *An. punctimacula* mostró la mayor tasa de infección (14,29 %), *An. nuneztovari* s.l. y *An. darlingi* presentaron mayor riesgo de transmisión con una tasa de picadura al humano de 39,7 y 5,04, y una tasa de inoculación entomológica de 18,5 y 10,58, respectivamente.

**Conclusión.** Este es el primer reporte de *An. calderoni* que lo incrimina como vector en Colombia. Los resultados de incriminación vectorial son importantes para el control selectivo de vectores en estas localidades del Pacífico colombiano.



## ***Anopheles* (Diptera: Culicidae) vectores de malaria en el municipio de Puerto Carreño, Vichada**

Pilar Jiménez<sup>1</sup>, Jan E. Conn<sup>2,3</sup>, R. A. Wirtz<sup>4</sup>, Helena Brochero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Griffin Laboratory, Wadsworth Center, New York State Department of Health, Slingerlands, NY, USA

<sup>3</sup> Department of Biomedical Sciences, School of Public Health, State University of New York, Albany, NY, USA

<sup>4</sup> Centers for Disease Control and Prevention, Entomology Branch, Atlanta, GA, USA

**Introducción.** Se realizó un estudio de los aspectos de la biología de los mosquitos *Anopheles* spp., para fortalecer la vigilancia entomológica en el área urbana de Puerto Carreño.

**Objetivo.** Determinar aspectos de la biología y el comportamiento de las especies adultas del género *Anopheles* presentes en el área urbana de Puerto Carreño.

**Materiales y métodos.** Se realizaron capturas de *Anopheles* spp., silvestres, en humanos en el intradomicilio y peridomicilio de viviendas ubicadas en el área urbana del municipio de Puerto Carreño, Vichada, entre las 18:00 y las 06:00 horas por dos noches consecutivas por mes durante 8 meses. Se determinó la actividad de picadura para cada especie, la infección natural por *Plasmodium falciparum* y *P. vivax* VK247 y VK210 mediante la técnica ELISA y se determinó la tasa de inoculación entomológica. Los individuos pertenecientes al complejo *Albitarsis* se determinaron mediante amplificación en cadena de la polimerasa del fragmento del gen *white*.

**Resultados.** En orden de abundancia, se encontró a *Anopheles darlingi* ( $n=1.166$ ), *An. marajoara sensu stricto* ( $n=152$ ), *An. braziliensis* ( $n=59$ ), *An. albitarsis* F ( $n=25$ ), *An. albitarsis sensu lato* ( $n=16$ ), *An. argyritarsis* ( $n=3$ ) y *An. oswaldoi sensu lato* ( $n=2$ ). *Anopheles darlingi* registró dos picos de actividad picadura entre las 21:00 y las 22:00 y entre las 05:00 y las 06:00 horas en el peridomicilio y entre las 21:00 y las 22:00 y entre las 04:00 y las 05:00 horas en el intradomicilio. Esta especie se encontró naturalmente infectada con *Plasmodium vivax* VK210 y registró una tasa de inoculación entomológica de 2 para el año. *Anopheles marajoara ss* se encontró naturalmente infectado con *Plasmodium falciparum* con una tasa de inoculación entomológica de 5 para el año, con un máximo de actividad de picadura entre las 18:00 y las 19:00 tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio.

**Conclusión.** Puede existir transmisión de malaria en el área urbana de Puerto Carreño, Vichada, y *An. darlingi* y *An. marajoara* ss son las especies incriminadas.

Los autores manifestamos que este trabajo fue presentado en American Mosquito Control Association 77th Annual Meeting, realizado del 20 al 24 de marzo de 2011 en Estados Unidos.

