

Resultados. Se incluyeron 200 pacientes, de los cuales 36 % (72/200) presentaron cloroquina en orina. No hubo asociación significativa entre ninguna de las variables observadas y el resultado positivo del método de Saker-Solomons. De 30 mujeres embarazadas, 43 % (13/30) tenían cloroquina en orina; el 71,5 % (143/200) de los pacientes consultaron dentro de los tres primeros días después de la aparición de los síntomas. De los pacientes tamizados, cuatro tenían malaria y, de estos, uno estaba infectado con *Plasmodium falciparum* y había consumido cloroquina previamente.

Conclusiones. Se observó una alta prevalencia de pacientes con cloroquina en orina, lo cual puede estar favoreciendo la selección de parásitos resistentes a este medicamento en la zona.

• • •

SYBR-green como alternativa a ELISA-HRP2 para determinar la sensibilidad a los antipalúdicos en aislamientos de *Plasmodium falciparum* adaptados a cultivo en Colombia

Madeline Montenegro, Claribel Murillo
Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, Cali, Colombia

Introducción. Actualmente, el ELISA-HRP2 es el método de evaluación de sensibilidad *in vitro* para *Plasmodium falciparum* más ampliamente usado en el mundo. Sin embargo, la reciente descripción de aislamientos con ausencia de esta proteína conduce a la búsqueda de métodos alternativos para esta población de parásitos. Recientemente, el método de detección de ácidos nucleicos basado en SYBR-green I, se ha presentado como una alternativa con menor costo y tiempo de ejecución.

El objetivo de este trabajo fue explorar el desempeño del método basado en SYBR-green I comparado con el ELISA-HRP2, en aislamientos de *P. falciparum* adaptados a cultivo en Colombia.

Materiales y métodos. Tres cepas de referencia y seis aislamientos adaptados a cultivo se evaluaron por triplicado para determinar su sensibilidad a seis antipalúdicos: cloroquina, amodiaquina, monodesetilamodiaquina, mefloquina, dihidroartemisinina y lumefantrina. Las condiciones de cultivo, la determinación de la producción de la proteína HRP2 y la evaluación basada en SYBR-green I, se hicieron siguiendo protocolos descritos previamente. La correlación entre los métodos se evaluó determinando coeficientes

de correlación no paramétricos de los resultados de concentración inhibitoria 50 (IC50) usando el programa **GraphPad-Prism 5**.

Resultados. El coeficiente de correlación de Spearman de los IC₅₀ entre el ELISA-HRP2 y SYBR-green I fue de 0,89 (p<0,0001). Este coeficiente presentó variación dependiendo del antipalúdico evaluado (0,35 a 0,89).

Conclusiones. SYBR-green I puede ser usado como una prueba alterna al ELISA-HRP2 para determinar la sensibilidad *in vitro* a los antipalúdicos de *P. falciparum* adaptado a cultivo. Sin embargo, la correlación puede estar influenciada por el mecanismo de acción del medicamento y por el blanco de detección de cada metodología.

• • •

Evaluación de los criterios para el diagnóstico microscópico de la malaria

María Isabel Arroyo, Gloria Patricia Morales, Paula Andrea Sosa, Jaiberth Antonio Cardona, Olga María Agudelo, Adriana María Correa, Jaime Carmona-Fonseca
Grupo de Investigación Salud y Comunidad,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Introducción. El diagnóstico microscópico de la malaria puede hacerse a partir del extendido y la gota gruesa. La gota gruesa es la prueba estándar para el diagnóstico de la malaria. Tiene sensibilidad de 90 % y especificidad de 100 %, es de bajo costo y se puede practicar en condiciones de campo en zonas palúdicas.

No hay acuerdo general sobre el mejor procedimiento para la elaboración, lectura y conteo de parásitos en la gota gruesa. Además de establecer el diagnóstico de especie, es útil conocer la densidad de la parasitemia, porque sirve como guía para estimar la gravedad de la infección y la posible evolución, así como para hacer el seguimiento a la respuesta terapéutica.

Materiales y métodos. Se hará lectura de 50 placas de gota gruesa: 40 positivas y 10 negativas, seleccionadas por un investigador del grupo que no hará parte de quienes realizarán la lectura. Cada placa será leída por al menos dos personas en forma independiente y sin conocer previamente si es positiva o negativa.

Se harán dos lecturas (continua y discontinua) a cada placa. En cada lectura, se leerán 100 y 200 campos, sin tener en cuenta el número de leucocitos por campo. Se contará el número de parásitos y leucocitos presentes en cada uno de los campos hasta que el número de leucocitos contados sea

100 y 200, luego se contará solamente el número de parásitos por campo hasta leer 200 campos.

Resultados y conclusiones. Se han leído 30 placas. Se está comparando la variación de: a) la parasitemia obtenida en función de la lectura de campos continuos Vs. discontinuos, b) la lectura de 100 Vs.200 campos; c) la lectura sobre 100 Vs.200 leucocitos. Se aplicará la prueba de U-Mann-Whitney para muestras independientes. Hasta el momento no se han encontrado diferencias significativas en las lecturas.

• • •

Análise serológica e imunoquímica de potenciais antigénios para a pesquisa de anticorpos anti *Plasmodium falciparum* em pacientes com malária importada

Rita Medina Costa¹, Fátima Nogueira², Karina Pires de Sousa¹, Marcelo Sousa Silva¹

¹ Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical, Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

² Parasitologia Médica, Centro de Malária e Outras Doenças Tropicais, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

Introdução. Malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário parasita do género *Plasmodium* e é transmitida pela fêmea do mosquito do género *Anopheles*. A mais importante das cinco espécies de *Plasmodium*, responsáveis pela malária humana, é o *Plasmodium falciparum*. Cerca de 300 milhões de casos clínicos ocorrem todos os anos, resultando em aproximadamente dois milhões de mortes, na sua maioria na África subsariana. Cerca de 40% da população mundial está em risco.

Assim sendo, o principal objectivo do presente estudo é avaliar a reactividade serológica de amostras de soros de indivíduos potencialmente expostos a *P. falciparum* oriundos de países africanos, frente a antigénios nativos do parasita e posterior identificação das principais proteínas imunogénicas.

Material e métodos. As proteínas nativas do parasita foram produzidas num sistema de cultura *in vitro* de RBCs, e quantificadas pelo método de Bradford. Analisaram-se 422 soros de pacientes potencialmente expostos a *P. falciparum*, provenientes de países africanos. Através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) distinguiu-se a população negativa da positiva, frente a um grupo controlo

(soros de pacientes (n=23) que nunca estiveram em zonas endémicas). Utilizou-se 100 ng/poço de proteínas nativas do parasita para cobrir as placas. Foi testada a presença de IgG totais (1:40.000) e de IgM (1:4.000). Os soros que apresentaram maior reactividade por ELISA, foram analisados por Western blot.

Resultados. Dos 422 soros analisados por ELISA, resultaram 124 positivos para IgG totais e 117 para IgM. A análise dos perfis de Western blot demonstrou um padrão consistente no que diz respeito à imunoreactividade de antigénios com massas moleculares na faixa 30 a 60 kDa.

Conclusões. A imunoreactividade dos soros dos pacientes potencialmente expostos a *P. falciparum* corresponde à imunogenicidade de alguns antigénios predominantes em extractos de proteínas totais dos parasitas.

• • •

Desarrollo, optimización y evaluación de la técnica ELISA como método inmunológico para la detección de anticuerpos específicos contra *Plasmodium falciparum*

Sandra Barrera¹, Adriana Cepeda¹, Hernando Curtidor², Yolanda Silva²

¹ Grupo de Bioquímica y Biología Celular, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Fundación Instituto de Inmunología de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La malaria continúa siendo una de las enfermedades que causa mayor morbimortalidad a nivel mundial, debido a esto es la importancia de emplear estrategias de control e implementar herramientas diagnósticas eficaces que faciliten su estudio.

La malaria induce una respuesta inmunitaria compleja e insuficientemente comprendida, con aumento en la producción de IgE e IgG. Nuestra estandarización del ensayo inmunoenzimático estaba encaminada a confirmar la presencia de anticuerpos específicos contra *Plasmodium falciparum*, que reconozcan un extracto proteico del parásito y un péptido sintético derivado de una proteína de superficie del mismo denominada (*glurp*), permitiendo realizar un diagnóstico más certero de malaria.

Nuestro objetivo fue estandarizar la técnica ELISA, para determinar la respuesta inmunitaria humoral mediante la detección de IgG específica contra *Plasmodium* spp. en pacientes con diagnóstico de malaria no complicada por *P. falciparum*.