

Artículos Originales

Infecciones maláricas en individuos asintomáticos en la población indígena Jivi, Amazonas, Venezuela

Irma Rodríguez^{1*}, Nancy De Abreu², Aníbal Carrasquel¹, José Bolívar², Margarita González¹, José Vicente Scorza³ & Hilda Pérez²

Se evaluó la presencia de infecciones maláricas en individuos asintomáticos en la población Jivi de Puente Parhueña. El estudio fue de tipo prospectivo en tres momentos. El diagnóstico parasitológico se realizó mediante el examen convencional de gota gruesa y extendido (GGE) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El diagnóstico por microscopía indicó 2% (5/261) de láminas positivas en Abril, 1% (3/274) en Septiembre y 4% (5/135) en Diciembre. La PCR para *Plasmodium* spp., fue 46% (26/57) en abril, 49% (28/57) en Septiembre y 35% (20/57) en Diciembre. En los tres momentos predominó la presencia de *P. vivax*. La prueba de ELISA demostró 72% (41/57) seroreactivos en Abril, 53% (30/57) en Septiembre y 60% (34/57) en Diciembre. En Puente Parhueña habitan individuos con infecciones maláricas asintomáticos, con persistencia de anticuerpos antimaláricos, que probablemente representan un reservorio de gametocitos dentro de la comunidad.

Palabras clave: Jivi, asintomáticos, *Plasmodium vivax*, PCR, ELISA, Amazonas.

INTRODUCCIÓN

Entre los 500 millones de casos clínicos anuales de malaria (Tangpukdee *et al.*, 2009), unos 80 millones se relacionan con *Plasmodium vivax* y es en América donde ocurre la mayoría de estos casos (Mendis *et al.*, 2001). El paludismo por *P. vivax* no suele ser fatal, pero los episodios recidivantes acentúan su morbilidad y han aumentado los reportes sobre casos de paludismo severo ocasionados por esa especie en varias regiones del mundo (Mendis *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 1997; 2003). En Venezuela, durante el

período 1998 - 2007, fueron diagnosticados 330.715 casos de malaria, atribuibles en un 83,7% a *P. vivax*. De los 41.570 casos registrados en el país durante el año 2007, Amazonas reportó 9.204 (22%) casos, de los cuales el 50% correspondieron al municipio Atures (Metzger *et al.*, 2009). Hacia el eje carretero norte de este municipio, está la comunidad de Puente Parhueña, habitada por población indígena Jivi (Guahibo), cuya incidencia de malaria IPA fue de 125 casos por 1000 habitantes en el 2007 (Sojo-Milano & Grande-Montalvo, 2009).

El diagnóstico de la malaria, se realiza por el examen microscópico convencional gota gruesa y extendido (GGE), siendo la técnica confiable, y además económica, que sólo requiere de un microscopista bien entrenado. Esta técnica mínimo detecta entre 50-100 parásitos/ul de sangre (Tangpukdee *et al.*, 2009). La técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), ofrece alta sensibilidad y especificidad a la

¹ Laboratorio de Malaria del Servicio Autónomo Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar", Puerto Ayacucho, Estado Amazonas, Ministerio del Poder Popular para la Salud.

² Laboratorio de Inmunoparasitología del Centro de Microbiología y Biología Celular del IVIC.

³ Centro de Investigaciones Parasitológicas JWT-NURR-ULA

*Autor de correspondencia: rodir@hotmail.com

detección del ADN genómico de las cuatro especies de *Plasmodium*, detecta de 1 a 5 parásito/ul de sangre ($\leq 0,0001\%$ de glóbulos rojos infectados) y es efectivo en la determinación de infecciones mixtas (Singh *et al.*, 1999). La PCR aún no ha sido incorporada a la rutina de diagnósticos en los países endémicos de malaria por motivos técnicos y presupuestarios. Por otro lado el papel de los anticuerpos humanos, adquiridos en forma natural, en la inmunidad contra los estadios asexuales sanguíneos de los *Plasmodium* ya ha sido demostrado desde los años 1960 y la captura de anticuerpos por la técnica de ELISA (Ferreira en Yadón, 2006), demuestran que los anticuerpos persisten entre 3 a 6 meses desde la infección inicial (Tangpukdee *et al.*, 2009).

El estado Amazonas, contribuye con una gran parte de los casos de malaria registrados en Venezuela. Inclusive comunidades de las poblaciones Yanomami del Alto Orinoco son consideradas hiperendémicas de malaria (Torres *et al.*, 1988). En estudios mediante encuestas, estudios clínicos, diagnóstico microscópico y diagnóstico por PCR, se ha demostrado la presencia de individuos asintomáticos con bajas densidades parasitarias. En Coyowateri, Parima B y Cocholowateri se ha observado, alta frecuencia de infecciones por *P. vivax* en individuos asintomáticos mayores de 5 años y baja frecuencia de infecciones por *P. falciparum* en individuos sintomáticos de todas las edades (Laserson *et al.*, 1999). Marcano *et al.* (2004) observaron una condición similar en los Yanomami de Ocamo, Mavaca y Platanal, y baja frecuencia (9,2%) de casos de malaria severa en niños menores de 10 años. Metzger *et al.* (2008) en Ocamo y Mavaca observaron por microscopía 64% pacientes positivos a malaria con parasitemias < 100 parásitos/ microlitro de sangre. Rodulfo *et al.*, (2007) en poblaciones del Municipio Atabapo reportaron una frecuencia de infecciones asintomáticas de 34,8% para *P. vivax* y 15,2% para *P. falciparum*.

En el municipio Atures del estado Amazonas, la malaria siempre había estado focalizada en los ejes carreteros Norte y Sur donde se concentran varias comunidades de poblaciones indígenas principalmente de la etnia Jivi y Piaroa (Oficina de estadística poblacional- Amazonas, 2001). Estudios epidemiológicos realizados desde 1998 indicaron que la mayor incidencia de malaria ocurría en poblaciones criollas en Puerto Ayacucho (Rodríguez 2002, com. pers.), población que presenta menos riesgo de malaria que los indígenas de la etnia Guhibo (Jivi),

que viven en áreas alrededor de Puerto Ayacucho, (Metzger *et al.*, 2009), capital y núcleo urbano más importante del estado Amazonas, con una población en crecimiento acelerado, migraciones constantes y movimiento poblacional incontrolado producto de ofertas de servicio y bienes de consumo por el eje fluvial Samariapo-Atabapo, eje fluvial fronterizo Puerto Ayacucho-Cazuarito-Carreño (Colombia) y los ejes carreteros El Burro-Ayacucho-Samariapo. Para generar información básica sobre la transmisión de la malaria en los pueblos indígenas que habitan las cercanías de Puerto Ayacucho, se determinó mediante GGE, PCR y ELISA, la presencia de infecciones maláricas en individuos asintomáticos en la población Jivi de Puente Parhueña.

METODOLOGÍA

Área y población del estudio

El estudio se realizó en la población Jivi de Puente Parhueña ubicada en los paralelos $05^{\circ}53'14,5''$ N y los meridianos $67^{\circ}24'14,5''$ O, en el municipio Atures estado Amazonas. De acuerdo a los últimos resultados del XIII censo de población y vivienda, el estado Amazonas tiene 105.148 habitantes. La población indígena del estado Amazonas representa unos 35.270 habitantes, conformado por 19 grupos étnicos, de los cuales unos 10, entre estos los Jivi, agrupan a 96% de la población indígena (Oficina de estadística poblacional- Amazonas, 2001). De acuerdo al censo del año 2002 del Ambulatorio Rural Tipo II de Puente Parhueña, habían 320 habitantes pertenecientes al pueblo Jivi.

Tipo de estudio

Es un estudio prospectivo durante el año 2003 se evaluó la presencia de infecciones maláricas y sintomatología clínica de malaria, en tres momentos (Abril, Septiembre y Diciembre). Usualmente Abril y Diciembre son meses con alta transmisión y Septiembre de baja transmisión.

Selección de los participantes

Para el estudio fueron incluidos todos aquellos individuos asintomáticos a malaria (definidos como individuos con temperatura axilar $\leq 37^{\circ}\text{C}$, sin antecedente de fiebre y/o cefalea en los últimos tres días, ausencia de bazo palpable), presentes

en los tres momentos del estudio, así como el consentimiento informado del voluntario o su representante legal. Se excluyeron a todos aquellos individuos sintomáticos a malaria (definidos como individuos con temperaturas $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$, antecedentes de fiebre y/o cefalea las últimas 72 horas, bazo palpable), enfermedades concomitantes, como influenza, hepatitis, rubeola, dengue, leptospirosis, tuberculosis y cualquier enfermedad crónica intercurrente, SIDA, insuficiencia renal, hepática, cardíaca. También fueron excluidos del estudio aquellos individuos que no estuvieron presentes en los momentos de cada una de las evaluaciones tanto clínicas como parasitológicas. Se excluyeron visitantes y transeúntes, en general, personas con menos de un año de estadía.

Enrolamiento y seguimiento

En el mes de Abril se enrolaron a los participantes de este estudio. Para este paso todo voluntario fue evaluado clínicamente, excluyendo de esta manera a aquellos que no cumplían con los criterios de inclusión. Las muestras fueron tomadas por punción del lóbulo de la oreja de cada voluntario, se tomaron dos muestras de sangre capilar, una sirvió al propósito del diagnóstico microscópico por gota gruesa y extendido (GGE) y la otra se recogió sobre papel de filtro Whatman N°3, para estudios posteriores del diagnóstico molecular de malaria y la determinación de anticuerpos antimaláricos. Para cumplir con el seguimiento de los individuos enrolados en Abril, en los meses de Septiembre y Diciembre se realizó una reevaluación clínica para considerar si aún persistían los criterios de inclusión, dicha reevaluación fue hecha de la misma manera con diagnóstico microscópico y toma de muestra para el diagnóstico molecular de malaria y determinación de anticuerpos antimaláricos.

Diagnóstico parasitológico por GGE

Se fija el extendido por 3 minutos con metanol, luego ambas, “gota gruesa” y “extendido”, se colorean con dilución de 20% del colorante de Giemsa por 5 minutos. Las preparaciones se observan bajo microscopio 1000X. Para considerar una muestra negativa, en la gota gruesa se examinan 200 campos y para descartar una infección mixta (dos especies de *Plasmodium*) se examina en el extendido 100 campos.

Ensayo de la PCR

La extracción de ADN del *Plasmodium* sp. a partir de muestras de sangre recogidas sobre papel de filtro se hizo con el reactivo InstaGene™ (BioRad) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se utilizó el ensayo de PCR en estado descrito por Snounou *et al.*, (1993) para amplificar secuencias específicas de género y especie presentes en los genes ribosomales (SSUrRNA) de los parásitos *Plasmodium*, con la modificación de Singh *et al.* (1999) para las muestras de sangre recogidas sobre papel de filtro. Para este último se utilizaron los cebadores rPlu1/rPlu5; rPlu3/rPlu4 para la amplificación género específica y los cebadores rViV1/rViV2 para *P. vivax*; rFal1/rFal2 para *P. falciparum* y rMal1/rMal2 para *P. malariae*. Los productos amplificados se tiñeron con bromuro de etidio y separados según su tamaño mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en paralelo con el marcador de peso molecular adecuado a la separación de 20 fragmentos con incrementos de 100 pares de base y observados bajo iluminación con luz UV.

Preparación del extracto antigénico de Plasmodium spp.

El antígeno se obtuvo a partir de glóbulos rojos de ratón (NMRI/IVIC) infectados con *Plasmodium yoelii*. Se utilizó la cepa *P. yoelii* 17XL donada al laboratorio de Inmunoparasitología del IVIC por el Dr. Mark Wiser de la Universidad de Tulane, Louisiana, E.U.A. La separación de los glóbulos rojos parasitados (GRP) fue según el protocolo de Ihalamulla & Mendis (1987). Se obtuvo una suspensión con 95% de parasitemia. y fue ajustada a 1×10^8 células/mL. La aplicación de antígenos de *P. yoelii* para la pesquisa de anticuerpos a *Plasmodium* spp., en sueros humanos se basa en estudios que han comprobado la existencia de antígenos compartidos entre *P. vivax* y *P. yoelii* (Bracho *et al.* 1995; 1996) y entre *P. yoelii* y *P. falciparum* (Ekala *et al.* 2002, Rajeshwari *et al.* 2004).

Ensayo de ELISA

La preparación del extracto antigénico de *P. yoelii* para el ensayo de ELISA siguió el protocolo descrito por Ekala *et al.* (2002) con algunas modificaciones. Las placas fueron tapizadas con el extracto antigénico 1×10^8 células/mL. Los anticuerpos fueron levigados del papel de filtro de acuerdo al procedimiento descrito por Pérez & Bolívar

(1989), diluidos 1:90. Los Igs totales (GAM), fueron anticuerpos producidos en cabra y conjugados a peroxidasa (Amersham), diluidas 1:1000; el sustrato cromogénico soluble de la peroxidasa 2,2'-azino-di (3-etil bentiazolina sulfonato (ABTS, Amersham), diluido 0,55 mg/mL en solución tampón de citrato pH 5,0 con 0,004% de H₂O₂. Se determinó la absorbancia a 405 nm pertinente a cada pozuelo con un lector de ELISA TiterTek MultiSkan™ MCC/340. Con relación a los controles: el valor negativo de referencia (X + 2 DE) se determinó a partir de los resultados proporcionados por los 30 levigados de muestras de donantes de sangre de Puerto Ayacucho sin antecedentes de paludismo y los controles positivos con títulos de anticuerpos antimaláricos en ensayos de IFI <1/600.

Análisis de datos

El estadístico para la correlación de variables es el coeficiente de Pearson y para la significancia de prevalencia se usó la prueba de Chi cuadrado, para un nivel de confianza del 95%.

Consideraciones Éticas

El protocolo de estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Bioética del "Centro de Investigaciones José Witremundo Torrealba" - Núcleo Universitario Rafael Rangel de la Universidad de los Andes y el Comité de Ética del CAICET. Para la toma de muestra se obtuvo el consentimiento informado, así como la participación voluntaria de cada jefe de familia, previo a la exposición y discusión de los motivos y propósitos del estudio.

RESULTADOS

Evaluación microscópica

De 350 habitantes de Puente Parhueña, se evaluaron por microscopía a través de la GGE a 261 (75%) individuos en Abril, 274 (78%) en Septiembre y 135 (39%) en Diciembre. La proporción de la población con *Plasmodium* spp. fue de 2% (5/261) en Abril, 1% (3/274) en Septiembre, 3,7% (5/135) en Diciembre. *Plasmodium falciparum* predominó en Abril (60% = 3/5) y *P. vivax* en Septiembre y Diciembre, 67% (2/3) y 60% (3/5) respectivamente. No se observaron gametocitos en los casos de *P. falciparum*, en los casos de *P. vivax* las formas sexuales estuvieron presentes en todos los casos, condición que

favorece la transmisión de *P. vivax*. Todas las personas con diagnóstico microscópico de malaria recibieron tratamiento antipalúdico impartido por el visitador rural de acuerdo a las pautas del Programa de Control para el estado Amazonas.

Estudio de seguimiento

De 261 individuos encuestados en Abril, solo 228 individuos fueron enrolados, puesto que 6 individuos refirieron fiebre (5 *Plasmodium* spp. por GGE) y 27 presentaron influenza. En Septiembre, 192 individuos continuaron en el seguimiento, debido a que 3 individuos manifestaron cefalea, 4 refirieron fiebre (1 *Plasmodium* spp. por GGE); 10 presentaron influenza; 11 individuos de una familia andaban pescando fuera de la comunidad y 8 se habían trasladado a trabajar a otros lugares. En Diciembre fueron muy pocos los voluntarios que accedieron a la toma de muestras, imposibilitando su seguimiento, solo 61 individuos accedieron, de los cuales 4 presentaron fiebre y 2 tenían *P. vivax* por GGE. Por lo tanto, únicamente fueron incluidos en el análisis de éste estudio 57 individuos asintomáticos a malaria, con examen GGE y con muestras de sangre sobre papel de filtro tanto en Abril, Septiembre como en Diciembre.

Evaluación por PCR

Los resultados indican que una alta proporción de la población Jivi de Puente Parhueña es portadora de infecciones asintomáticas., la frecuencia de infecciones por PCR fue 46% (26/57) en Abril, 49% (28/57) en Septiembre y 35% (20/57) en Diciembre. La comparación estadística indicó que la proporción de infecciones observadas en los tres momentos no son diferentes, para un $\chi^2 = 2,47$ ($P > 0.05$). *Plasmodium vivax* predominó en los tres momentos en la proporción de 92% (24/26), 85% (24/28) y 95% (19/20) respectivamente. Las infecciones mixtas por *P. vivax* más *P. falciparum* correspondieron a 8% (2/26) en Abril, 11% (3/28) en Septiembre y 5% (1/20) en Diciembre. Ninguna infección incluyó a *P. malarie* (Tabla I).

Los resultados por PCR muestran que 81% (46/57) de la población se encontró infectada en alguno de los tres momentos, mientras que 19% estuvo consistentemente asintomático y sin evidencia de infección. De los 46 sujetos con infección malárica: 26 se encontraban infectados en Abril, de los cuales 13 continuaban infectados en Septiembre y 10 en

Tabla I. Infecciones maláricas* en un grupo Jivi de Puente Parhueña con seguimiento en tres momentos del año 2003.

meses	N	Neg**	Pf	Pv	Pv + Pf	Prevalencia
Abril	57	31	0	24	2	26 (46%)
Septiembre	57	29	0	25	3	28 (49%)
Diciembre	57	37	0	19	1	20 (35%)

*Individuos asintomáticos con un frotis de sangre negativo en la gota gruesa y positivo en el ensayo de PCR; ** Individuos asintomáticos con un frotis de sangre negativo en la gota gruesa y negativos en el ensayo de PCR; Pf= número de infecciones por *Plasmodium falciparum*; Pv= número de infecciones por *Plasmodium vivax*; Pv + Pf= número de infecciones por *P. vivax* más *P. falciparum*.

Diciembre; los otros 13 individuos, positivos en Abril, estaban libres de infecciones maláricas en los siguientes dos momentos. En Septiembre se sumaron otros nuevos 15 individuos infectados por malaria, de los cuales 5 continuaron infectados y 10 no tenían la infección en Diciembre. En el último momento 5 nuevos individuos estaban infectados en diciembre.

Evaluación por ELISA

Entre los 57 individuos incluidos en el estudio de seguimiento, la prevalencia de anticuerpos en Abril, Septiembre y Diciembre de 2003 fue 72% (41), 53% (30) y 60% (34) respectivamente, la tendencia a una mayor prevalencia coincidió con la época de mayor transmisión, con una declinación en el mes de Septiembre con significación estadística para un χ^2 3,94 ($P < 0,05$). En el mes de Diciembre hay tendencia al incremento de individuos seroreactivos con respecto al mes de Septiembre, sin significancia estadística para χ^2 1,14 ($P > 0,05$). En el grupo mayor de 20 años se observó un incremento de la prevalencia de anticuerpos antimaláricos en Diciembre (74%) respecto al corte de Abril (58%), sin significación estadística con un χ^2 de 0,93 ($P > 0,05$). Por el contrario en el grupo menor de 20 años la prevalencia de anticuerpos antimaláricos fue menor en el corte de Diciembre, respecto al del mes de Abril.

Relación entre la presencia de anticuerpos y las infecciones submicroscópicas en una cohorte de Amerindios Jivi de Puente Parhueña, evaluados en tres momentos efectuados en Abril, Septiembre y Diciembre del 2003

La posible relación entre la presencia de infecciones submicroscópicas y el perfil de anticuerpos antimaláricos fue evaluado en los 57 individuos del grupo de seguimiento, quienes resultaron negativos en la GGE. Durante la época de mayor transmisión que es el mes de Abril, la prevalencia de anticuerpos antimaláricos

fue 69% (18) en los 26 individuos con presencia de infecciones submicroscópicas y 74% (23) en los 31 individuos sin infecciones submicroscópicas. Durante el corte efectuado en coincidencia con la estación seca del mes de Septiembre, la prevalencia de anticuerpos antimaláricos fue 46% (13) en los 28 individuos con infecciones submicroscópicas, y 57% (17) en los 29 individuos sin infecciones submicroscópicas. Llegado el mes de diciembre, época cuando se activa el segundo pico de transmisión, la situación de la prevalencia de anticuerpos fue similar entre los 20 individuos con infecciones submicroscópicas y los 37 individuos sin infecciones submicroscópicas, 60% (12) y 59% (22) respectivamente.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se detectaron infecciones por PCR a *Plasmodium* spp. en un 81% (46/57) en individuos asintomáticos, infecciones que no han sido consideradas en las medidas del Control aplicadas por el Programa de Malaria, puesto que las medidas de control van dirigidas a pacientes sintomáticos y el método de diagnóstico de rutina es la Gota Gruesa. Este tipo de infecciones ocultas pudieran ser responsables en alguna medida de la transmisión de malaria en Puente Parhueña y posibles gametocitos reservorios de la morbilidad registrada. Al respecto Alves *et al.* (2002); Tada *et al.* (2007) y Katsuragawa *et al.* (2010), señalan para la región amazónica del Brasil que individuos portadores de malaria asintomática son fuente de infección de malaria. Alves (2006) señala para la región amazónica del Brasil que individuos asintomáticos pueden infectar a *Anopheles darlingi*, que las personas asintomáticas permanecen infectivas más tiempo que los pacientes sintomáticos que son tratados y que la prevalencia de las infecciones asintomáticas es más alta que la de las infecciones sintomáticas. Estas son consecuencias del Programa de Control de malaria del Brasil, que focaliza sus acciones principalmente en el tratamiento de pacientes sintomáticos.

En África se ha señalado que los asintomáticos portadores de *Plasmodium falciparum*, tienen riesgo de ataques de malaria y son reservorios infectantes de los transmisores. Por lo tanto, se ha planteado mantener una vigilancia de diagnóstico temprano de los asintomáticos, para la aplicación sistemática del tratamiento preventivo intermitente con terapia combinada basada en artemisina como artemether-lumefantrine; aplicación de medidas de protección personal con el uso de mosquiteros impregnados con insecticida y aplicación de rociamiento residual (Le Port *et al.*, 2008; Ogotu *et al.*, 2010; Lawpoosri *et al.*, 2010).

Es poco frecuente encontrar poblaciones expuestas a una sola especie de parásitos de malaria y en muchas áreas endémicas, coexisten hasta tres especies de *Plasmodium* y en áreas endémicas de malaria la población adquiere la infección por *P. vivax* y luego adquieren una segunda infección por *P. falciparum* (Snounou & White, 2004). En éste estudio se evidencia, a través de la PCR la coexistencia de dos especies de *Plasmodium* (*vivax* y *falciparum*), sin embargo, en el Programa de Control de Malaria en Puente Parhueña no hay registros de infecciones mixtas. Un diagnóstico microscópico limitado, afecta la efectividad de los Programas de Control, la selección del tratamiento de malaria depende de la especie de *Plasmodium* infectante, un diagnóstico retardado y mixto a malaria a *P. falciparum* implica el riesgo de malaria complicada que puede ser fatal, especialmente en individuos no inmunes, en el caso de malaria a *P. vivax*, constituye un desafío al tratamiento adecuado y oportuno, puesto que los gametocitos favorecen la transmisión y dispersión de la enfermedad. Bruce-Chwatt (1986) señala que la gametogénesis en *P. vivax* ocurre con las primeras parasitemias asexuales, y para *P. falciparum* la gametogénesis ocurre 10 a 12 días después de la primera onda eritocítica. En el estado Amazonas el tratamiento para malaria a *P. falciparum* es artesunato + mefloquina y para los efectos curativos radicales de *P. vivax* es cloroquina + primaquina; esta última droga con acción terapéutica sobre los hipnozoitos de *P. vivax* y sobre los gametocitos de todas las especies de *Plasmodium* en humanos; además el tratamiento de la malaria es gratuito, administrado y supervisado por el personal de salud del Programa de Control; aunque a veces la continuidad del tratamiento se ve afectada por la condición socio cultural de los jivi, o a la falla en la logística del personal del Programa de Control.

De los 46 individuos con infecciones por PCR a *P. vivax*, 50% (23) desaparecieron la infección, aún sin recibir tratamiento por parte del Programa de Control. Esta situación también ha sido observada en la amazonia Brasileira (Alves *et al.*, 2002). Es posible que la eliminación de la infección esté relacionada a la inmunidad de estos individuos: puesto que más del 50% de los voluntarios en seguimiento mostraron presencia de anticuerpos anti-maláricos. Al respecto Pérez *et al.* (1998) indican en estudios sobre malaria en el estado Amazonas, que las comunidades Jivi del Municipio Atures, presentan alta frecuencia de seroreactivos para *P. vivax* y anticuerpos específicos a péptidos sintéticos derivados de la PvMSP-1. Por otro lado durante la encuesta efectuada a la población jivi de Puente Parhueña, algunos individuos refirieron el consumo de raíces, hojas y tallo de plantas como medicina alternativa para mejorar los malestares provocados por la malaria. Es posible que en alguna medida estas plantas participen en la eliminación de los parásitos. Vale la pena destacar que Carballo *et al.* (2004) identificaron a 18 especies de plantas de 13 familias usadas en el tratamiento de la malaria en el estado Bolívar, las cuales tienen compuestos con actividad antimalárica.

La caracterización epidemiológica de la malaria depende de muchas variables: Desde el punto de vista entomológico, uno de los parámetro que permite estimar la intensidad de la transmisión de malaria es la tasa de esporozoitos, esto es, la proporción de mosquitos en una población con esporozoitos en las glándulas salivales (Rubio-Palis, 2009). Desde el punto de vista clínico-inmunológico se caracteriza un área hiperendémica de malárica, por la presencia de splenomegalia malarica hiperreactiva (HMS), esto es, individuos con bazo recrecido, presencia de altos niveles de IgM en suero, altos niveles de anticuerpos antimaláricos, linfocitosis sinusoidal hepáticos y regresión del tamaño del bazo después de terapia antimalárica continua (Torres *et al.*, 1988). Es importante destacar que en Puente Parhueña entre los individuos evaluados clínicamente, ninguno resultó con bazo palpable. Desde el punto de vista de la parasitemia se han caracterizado áreas endémicas de malaria, en relación a como fluctúan las parasitemias en las personas asintomáticas: áreas de alta endémicidad como Tanzania se observan parasitemias de 400 a 500 parásitos por microlitro de sangre; en áreas de mediana endémicidad como Gambia las parasitemias están por debajo de 500 parásitos por microlitro de sangre y áreas de baja

endemidad, existe un alto porcentaje de infecciones sub-microscópicas como al Oeste de Sudán (Staalsoe & Hviid, 1998) y en Amazonas-Brasil (Alves *et al.*, 2002). Puente Parhueña podría ser considerada un área de baja endemicidad de malaria, puesto que hay individuos asintomáticos, con una alta prevalencia de infecciones sub-microscópicas a *P. vivax*.

En Puente Parhueña habitan individuos asintomáticos con infecciones malaricas submicroscópicas, con persistencia de anticuerpos y pasan desapercibidos por el Programa de Control de Malaria. Si estos individuos realmente son reservorios de la enfermedad, consecuentemente son un foco de infección de personas no inmunes en Puerto Ayacucho por el movimiento poblaciones hacia esta capital. Se sugiere en épocas de menor transmisión el uso de mosquiteros tratados con insecticida a toda la población en riesgo, el rociamiento de interiores con insecticida de acción residual, tratamiento con larvicida en los humedales. Sería interesante diagnosticar a la población de Puente Parhueña por GGE y PCR en Julio- Agosto, mes de máxima precipitación donde hay una baja densidad de *Anopheles* spp., administrar tratamiento antimalárico a los positivos, con el fin de cortar un posible segundo pico malarico y prevenir sintomatología grave. Sería recomendable además hacer estudios de infección experimental en *Anopheles*, utilizando muestras de sangre de individuos con infecciones submicroscópicas a *Plasmodium* ssp, para conocer si éstos individuos representan un reservorio de gametocitos dentro de la comunidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico recibido de los proyectos IVIC 103 y FONACIT (G-2001000999), la cooperación de la población Jivi de Puente Parhueña y del personal del Ambulatorio Rural tipo II de la parroquia Parhueña, la colaboración en campo de María Gámez y de Sonia Carrasquel por revisión del summary.

Asymptomatic malaria infection in the indigenous Jivi population, Amazonas state, Venezuela

SUMMARY

The study was carried out to determine the present malaria infection in the asymptomatic Jivi people of Puente Parhueña. The study was prospective

over three periods of time. The parasitological diagnoses were from thick and thin blood smears (GGE) and polymerase chain reaction (PCR). The antibody search was performed by ELISA. Microscopy of the slides detected the following positive results: 2% (2/261) April, 1% (3/274) September and 4% (5/135) December. Detection of *Plasmodium* by PCR was 46% (26/57) in April, 49% (28/57) in September and 35% (20/57) in December. *Plasmodium vivax* infected individuals predominated during these 3 times. Positives for ELISA were 72% (41/57) in April, 53% (30/57) September and 60% (34/57) December. The study demonstrated that people living in Puente Parhueña presented asymptomatic malaria infection with malaria antibodies persistence which likely represents a gametocyte potential reservoir for infection among the population.

Key words: Jivi, asymptomatic, *Plasmodium vivax*, PCR, ELISA, Amazonas

REFERENCIAS

- Alves F. P. (2006). *Portadores asintomáticos de Plasmodium spp. como fuente de infección para mosquitos vectores de malaria en la región amazónica de Brasil*. pp 95-103. Programa de pequeños subsidios en enfermedades Tropicales. Informe finales 1994-2004. Eds. Yadon Z., Zicker F., Salomón O. D. 1ra ed. TDR/OPS/OMS. Buenos Aires, Argentina.
- Alves F., Durlacher R., Menezes M. J., Krieger H., Pereira da Silva L., Camargo E. P. (2002). High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 641-648.
- Bracho C., De la Rosa M., Romano M.; Pérez H.A. (1995). *Un anticuerpo monoclonal a Plasmodium vivax inhibe la parasitemia de Plasmodium yoelii*. LV Convención Anual de ASOVAC, Caracas, Venezuela.
- Bracho C., De la Rosa M., Romano M.; Pérez H.A. (1996). *Identidad antigénica de PVI48, un antígeno eritrocítico de Plasmodium vivax, con Plasmodium yoelii y Plasmodium berghei*. XV Jornada Anual "José Witremundo Torrealba", Caracas, Venezuela.

- Bruce-Chwatt L. J. (1986). *Essential Malariology*. William Heinema Medical Books. Londres UK.
- Caraballo A., Caraballo B., Rodríguez Acosta A. (2004). Preliminary assessment of medicinal plants used as antimalarials in the southeastern Venezuelan Amazon. *Rev. Soc. Brasileira Med. Trop.* **37**: 186-188.
- Ekala M.T., Jouin H., Lekouou F., Issifou S., Puijalón O.M., Ntoumi F. (2002). *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 (MSP1): genotyping and humoral responses to allele-specific variants. *Acta Trop.* **81**: 33-46.
- Ferreira Marcelo U. (2006). *Distribución de la subclase IgG en anticuerpos adquiridos en forma natural contra Plasmodium falciparum, en relación a la exposición y a la severidad de malaria*. pp. 117-128. Programa de pequeños subsidios en enfermedades Tropicales. Informe finales 1994-2004. Eds. Yadon Z., Zicker F., Salomón O.D. 1ra ed. TDR/OPS/OMS. Buenos Aires, Argentina.
- Ihalmulla L. & Mendis K. (1987) *Plasmodium vivax*: isolation of mature asexual stages and gametocytes from infected human blood by colloidal silica (Percoll) gradient centrifugation. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **81**: 25-28.
- Katsuragawa T., Soares L., Tada M., Silva A., Neves J., Araújo M., Escobar A. *et al.* (2010). *The dynamics of transmission and spatial distribution of malaria in Riverside Areas of Porto Velho, Rondônia, in the Amazon Region of Brazil*. Documento en línea: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0009245> (Consultado: 2010, Agosto 04).
- Laserson K. F., Petralanda I., Almera R., Barker R. H. Jr., Spielman A., Maguire J. H. *et al.* (1999). Genetic characterization of an epidemic of *Plasmodium falciparum* malaria among Yanomami Amerindians. *J. Infect. Dis.* **180**: 2081-2085.
- Lawpoolsri S., Chavéz I. F., Yimsamran S., Puangsart S., Thanyavanich N., Maneeboonyang W. *et al.* (2010). *The impact of human reservoir of malaria at a community-level on individual malaria occurrence in a low malaria transmission setting along the Thai-Myanmar border*. Documento en línea: <http://www.malariajournal.com/content/9/1/143> (Consultado: 2010, Agosto 04).
- Le Port A., Cot M., Etard J., Gaye O., Migot-Nabias F. & Garcia A. (2008). *Relation between Plasmodium falciparum asymptomatic infection and malaria attacks in a cohort of Senegalese children*. Documento en línea: <http://www.malariajournal.com/content/7/1/93> (Consultado: 2010, Agosto 04).
- Marcano T. J., Morgado A. & Tosta C. E. (2004). Cross-sectional study defines difference in malaria morbidity in two Yanomami communities on Amazonian boundary between Brazil and Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **99**: 369-376.
- Mendis K., Sina B.J., Marchesini P., Carter R. (2001). The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **64**: 97-106.
- Metzger W. G., Girón A., Vivas-Martínez S., González J., Charrasco A.J., Mordmüller B. G. & Magris M. (2009). *A rapid malaria appraisal in the Venezuelan Amazon*. Documento en línea: <http://www.malariajournal.com/content/8/1/291> (Consultado: 2010, Agosto 02).
- Metzger W. G., Vivas-Martínez S., Rodríguez I., Gonçalves J., Bongard E., Fanello C. I., Vivas L. & Magris M. (2008). Malaria diagnosis under field conditions in the Venezuelan Amazon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **102**: 20-24.
- Ogutu B., Tiana A. B., Makanga M., Preemji Z., Gbadoé A. D. *et al.* (2010). *Treatment of asymptomatic carriers with artemether-lumefantrine: an opportunity to reduce the burden of malaria?* Documento en línea: <http://www.malariajournal.com/content/9/1/30> (Consultado: 2010, Agosto 04).
- Pérez H. A., De la Rosa M., Navarro M., Bracho C., Campos M. & Bolívar J. (1998). Epitopos B de *Plasmodium vivax*: un estudio de pacientes infectados en el área endémica venezolana. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **38**: 101-107.
- Pérez H. A. & Bolívar J. (1989). The feasibility of the filter paper collected blood for serodiagnosis of malaria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **84**: 587-588.

- Rajeshwari K., Patel K., Nambeesan S., Mehta M., Sehgal A., Chakraborty T., *et al.* (2004). The P domain of the P0 protein of *Plasmodium falciparum* protects against challenge with malaria parasites. *Infect. Immun.* **72**: 5515-5521.
- Rodulfo H., De Donato M., Quijada I., Peña A. (2007). High prevalence of malaria infection in Amazonas state, Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* **49**: 79-85.
- Rubio-Palis Y. (2009). Prevalencia de *Plasmodium* ssp. enanofelinos de Venezuela. *Talleres ULA, Trujillo. Publ.* **12**: 79-84.
- Singh B., Bobogare A., Cox-Singh J., Snounou G., Abdullah M. S. & Rahman H. A. (1999). A genus- and species-specific nested polymerase chain reaction malaria detection assay for epidemiologic studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 687-692.
- Snounou G. & White N. (2004). The co-existence of *Plasmodium*: sidelights from falciparum and vivax malaria in Thailand. *Trends Parasitol.* **20**: 333-339.
- Snounou G., Viriyakosol S., Zhu XP Jarra W., Pinheiro L., do Rosario V.E., Thaithong S., *et al.* (1993). High sensitivity of detection of human malaria by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol. Biochem. Parasitol.* **61**: 315-320.
- Sojo-Milano M. & Grande-Montalvo T. (2009). Epidemiología de casos repetidores de malaria en Amazonas, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* **49**: 73-89.
- Staalsoe T. & Hviid L. (1998). The role of variant-specific Immunity in asymptomatic malaria infections: maintaining a fine balance. *Parasitol. Today.* **14**: 177-178.
- Tada M., Marques R., Mesquita E., Dalla R., Rodríguez J., Neves J., Rocha R., *et al.* (2007). *Urban malaria in the Brazilian Western Amazon Region I. High prevalence of asymptomatic carriers in an urban riverside district is associated with a high level of clinical malaria.* Documento en línea. www.scielo.br/pdf/mioc/nahead/5680.pdf (Consultado: 2010, Agosto 04).
- Tangpukdee N., Duangdeev C., Wilaratana P., Krudsood S. (2009). Malaria Diagnosis: A brief review. *Korean J. Parasitol.* **47**: 93-102.
- Torres J., Noya O., Mondolfi A., Peceño C. & Botto C. (1988). Hyperreactive malarial splenomegaly in Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **39**: 11-4.
- Torres J. R., Pérez H. A., Postigo M. M. & Silva J. R. (1997). Acute non-cardiogenic lung injury in benign tertian malaria. *Lancet.* **350**: 31-32.
- Torres J. R., Villegas L., Pérez H. A., Suárez L., Torres V. M. A. & Campos M. (2003). Low-grade parasitaemias and cold agglutinins in patients with hyper-reactive malarious splenomegaly and acute haemolysis. *Annals Trop. Med. Parasitol.* **97**: 125-130.

Recibido el 18/05/2010
Aceptado el 01/11/2010

