

# Malaria recurrente: análisis biológico molecular de cuatro casos atendidos en el Hospital Escuela, Tegucigalpa, Honduras, periodo 2009 – 2010.

Jackeline Alger,<sup>1</sup> Jorge García.<sup>1,2</sup>

1 Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital Escuela/Unidad de Investigación Científica, Facultad de Ciencias Médicas, UNAH;  
2 Laboratorio de Parasitología Molecular/Proyecto Fondo Mundial Componente Malaria; Hospital Escuela, Tegucigalpa, Honduras.

## INTRODUCCIÓN

- **Malaria recurrente:** reinfección (nueva picadura infectante), recrudescencia (persistencia de estadios asexuales sanguíneos) o recaída (activación de hipnozoítos).
- **Diversidad genética de parásitos circulantes:** reinfección = diferente genotipo; recrudescencia o recaída = mismo genotipo.
- **Objetivo:** Determinar los genotipos de *Plasmodium* spp. presentes en casos recurrentes atendidos en el Hospital Escuela en el periodo 2009-2010.

## PACIENTES Y MÉTODOS

**Tipo de estudio.** Serie de cuatro casos recurrentes: ataque primario tres casos por *P. vivax* y un caso por *P. vivax* y *P. falciparum* (infección mixta); recurrencia por *P. vivax*.

**Muestras biológicas.** **Sangre:** diagnóstico microscópico (inicial y evaluaciones post-tratamiento) y análisis molecular (papel filtro).

**Diagnóstico y Evaluación Respuesta Terapéutica.** Gota Gruesa y Extendido Fino (Giemsa). Evaluaciones Día Cero (día de diagnóstico y/o inicio de tratamiento, D0) y días D2-3, 7, 14, 21 y 28 post-tratamiento. Buena respuesta: D2-3: <25% densidad parasitaria D0; D7-D28: negativo. **Falla terapéutica:** persistencia/reaparición de parásitos antes de D28.

Análisis Molecular.

Figura 1. Procedimiento de Extracción ADN. Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorios Clínicos, Hospital Escuela.



Figura 2.

Esquema de Marcadores Moleculares Polimórficos para *P. vivax*

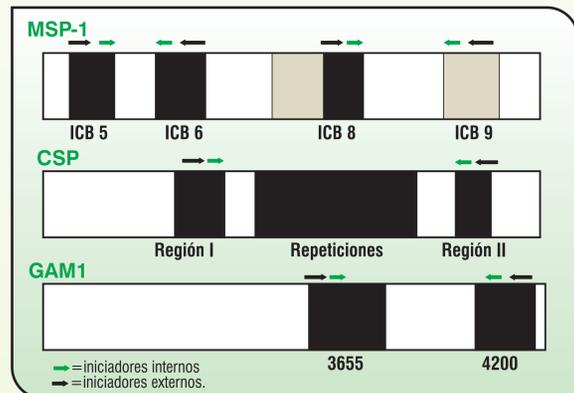


Figura 3.

Condiciones de amplificación aplicadas durante las reacciones de la Técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

Condiciones de Amplificación	Características de los ciclos					
	Ciclo Inicial	Desnatu-ralización	Unión de iniciadores	Extensión	Ciclo Final	
<b>Marcador MSP1 5/6 Interno</b>						
Temperatura (°C)	95	70	95	70	---	95 70
Tiempo (min:sec)	1:10	1:30	0:20	1:30	---	0:00 10:00
Número de ciclos	1		34			1
<b>Marcador GAM1 Interno</b>						
Temperatura (°C)	95	67	72	95	67	70 95 67 72
Tiempo (min:sec)	1:10	0:40	1:10	0:20	0:40	1:10 0:20 0:40 10:00
Número de ciclos	1		34			1
<b>Marcador CSP Interno</b>						
Temperatura (°C)	95	67	72	95	67	70 95 67 72
Tiempo (min:sec)	1:10	0:40	1:10	0:20	0:40	1:10 0:20 0:40 10:00
Número de ciclos	1		34			1

Los productos PCR analizados por electroforesis en gel de agarosa (2%), fueron coloreados con Bromuro de Etidio. Estimación de tamaño (pares de bases): mediante marcadores de peso molecular estándar.

**Tratamiento.** Con antimaláricos (Cloroquina y Primaquina), lineamientos Programa Nacional de Malaria, Secretaría de Salud.

Estudio financiado parcialmente por Proyecto Fondo Mundial Honduras componente Malaria; US Army Public Health Command Region - South, San Antonio, Texas, Estados Unidos de América.

## RESULTADOS

Descripción de los casos.

Cuadro 1. Características sociodemográficas y origen de la infección.

Casos Malaria	Sexo	Edad	Ataque Primario		Recurrencia	
			Lugar Visitado	Fecha de fiebre	Lugar Visitado	Fecha de fiebre
Caso 1	F	40 días	Puerto Lempira (congénito)	20/10/2009	Tegucigalpa (falta terapéutica)	03/12/2009
Caso 2	F	32 años	Wampusirpi (Diciembre 2009)	18/03/2010	Wampusirpi (Mayo-Julio 2010)	20/07/2010
Caso 3	M	26 años	Wampusirpi (Enero-Abril, 2010)	24/05/2010	Amarateca (Procedencia)	20/11/2010
Caso 4	F	22 años	Cocobila, Palacios (Junio 2010)	27/07/2010	Cocobila, Palacios (18 Sept.-08 Oct. 2010)	18/10/2010

F=Femenino; M=Masculino

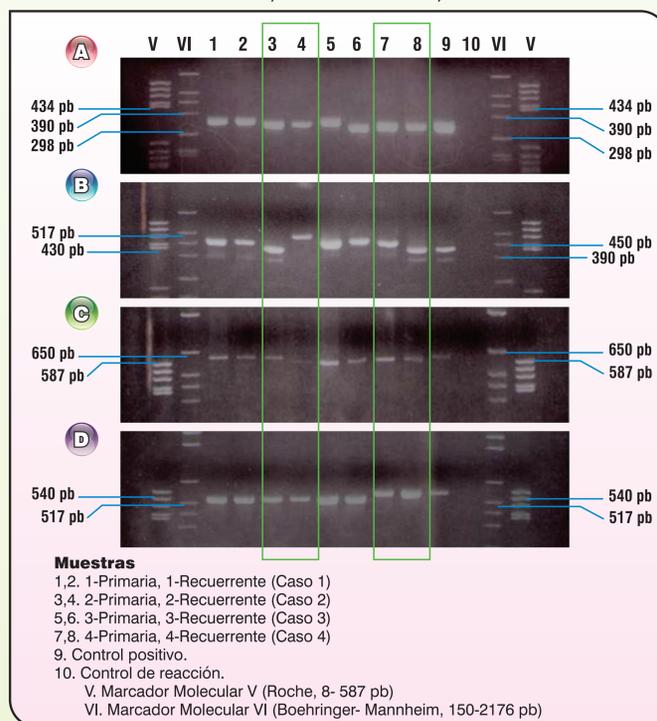
Cuadro 2. Respuesta parasitológica de Evaluación de la Respuesta Terapéutica.

Caso-Ataque	Resultado de Gota Gruesa Control							
	D0	D2	D3	D4	D7	D14	D21	D28
1-P	31 EAS + 9GAM / 109L	7 parásitos picnóticos / 504L	-	NSOP / 300 C	NSOP / 300 C	3 parásitos / 500 C	-	-
1-R	33 EAS + 14 GAM / 102L	8 parásitos picnóticos / 512L	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C
2-P	106 EAS + 66 GAM / 53 L	-	-	-	-	-	NSOP / 500 C	NSOP / 500 C
2-R	40 EAS / 506L	NSOP / 500C	-	-	-	-	-	NSOP / 500C
3-P	Pv: 22 EAS + 92GAM/116L Pf: 116 EAS + 14GAM/116L	-	-	Pf: 11 GAM / 104 L	-	-	-	-
3-R	41 EAS + 24GAM / 111L	-	NSOP/500C	-	-	-	-	-
4-P	118 EAS + 57 GAM / 105L	-	-	NSOP/500C	-	-	-	-
4-R	68 EAS + 32GAM / 107 L	-	-	NSOP/500C	-	-	-	-

D=Día; P=Ataque Primario; R=Ataque Recurrente; EAS=Estadios Asexuales Sanguíneos; GAM=Gametocitos; L=Leucocitos; NSOP=No se observa Plasmodium spp; C=Campos microscópicos; Pv=*P. vivax*; Pf=*P. falciparum*.

Análisis Molecular.

Figura 4. Fotografías de electroforesis en gel de agarosa coloreadas con bromuro de etidio. A) Análisis con marcador MSP1 5/6 B) Análisis con marcador MSP1 8/9 C) Marcador CSP D) Marcador GAM1.



## Conclusiones/recomendaciones.

1. Se analizaron cuatro casos de malaria recurrente, 3 mujeres, edad promedio 20.2 años (rango 40 días – 32 años). Las infecciones en el ataque primario se trazaron a la Mosquitia, un caso congénito. La infección recurrente se trazó a la Mosquitia (2 casos), Amarateca (1) y falla terapéutica (1). El tiempo promedio desde inicio de tratamiento hasta inicio de síntomas en recurrencia fue 3.12 meses (rango 17 días – 5.5 meses).
2. Según la evidencia, tres casos recurrentes fueron posiblemente reinfecciones (diferente genotipo de parásito y exposición en área endémica). El caso congénito fue posible recrudescencia debido a falla de la cloroquina (mismo genotipo).
3. El uso de cuatro marcadores moleculares permitió aumentar la capacidad de discriminar genotipos fundamentados en tamaño de producto de técnica de PCR.
4. Es necesario fortalecer la vigilancia de la malaria recurrente en Honduras, especialmente su detección diferenciada por el sistema de información y el análisis biológico molecular cuando se estime pertinente. En este caso, el análisis molecular reafirmó la evidencia clínica y epidemiológica para identificar un caso recrudesciente.

