



EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y

EVOLUCIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN AMÉRICA LATINA



W
O
R
K
S
H
O
P

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND EVOLUTION OF INFECTIOUS DISEASES IN LATIN AMERICA

LIBRO DE RESÚMENES ABSTRACTS

AUDITORIO ERNESTO "CHE" GUEVARA, PISO 13
25 - 27 DE ABRIL, 2012
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE MEDICINA
LA PAZ - BOLIVIA

Contenido/content

1. Presentación/presentation
2. Instituciones organizadoras y financiadoras/organizing and supporting organizations
3. Comité organizador/organizing committee
4. Horario general /general timetable
5. Programa général/general programme
6. Resúmenes/abstracts
7. Lista completa de participantes/complete list of participants

Instituciones organizadoras y financiadoras

Organizing and supporting organizations



Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD), Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés (UMSA)



**Ministerio de Asuntos extranjeros y Europeos
French Ministry of foreign and European affairs**

**Embajadas de Francia en Bolivia, Perú, Chile, México,
Venezuela y Brasil
French embassies in Bolivia, Chile, Mexico, Venezuela and Brazil**



**Institut de recherche
pour le développement**

Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

**Representaciones de Bolivia y Brasil
Representative offices in Bolivia and Brazil**

Los organizadores:

The organizers:

Dr. Eddy Martínez Avendaño

Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD)
Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés

Dra. Jenny Tellería

Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

Dr. Michel Tibayrenc

Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

Presentación

Las enfermedades infecciosas representan problemas similares en todos los países de América Latina, entre las cuales podemos mencionar infecciones parasitarias (enfermedad de Chagas, leishmaniasis, malaria, helmínticas), bacterianas (tuberculosis, salmonelosis), virales (fiebre amarilla, dengue, fiebres hemorrágicas, VIH/SIDA).

El Workshop está dirigido específicamente a enfermedades transmisibles de interés médico, veterinario y agronómico en América Latina.

Los objetivos principales son i) valorizar la investigación de científicos bolivianos en estas áreas, ii) fortalecer la cooperación IRD-UMSA, iii) establecer los contactos entre científicos latinoamericanos que trabajan en el área de enfermedades transmisibles, iv) iniciar una red colaborativa latinoamericana en el área de enfermedades transmisibles.

Presentation

Infectious diseases display similar problems in all Latin American countries, including parasitic diseases (Chagas disease, leishmaniasis, malaria, helminthiasis), bacterial diseases (tuberculosis, salmonellosis) and viral diseases (yellow fever, dengue hemorrhagic fevers, AIDS).

The workshop specifically focuses on transmissible diseases of medical, veterinary and agronomical relevance in Latin America.

The main objectives are: (i) to valorize the research of Bolivian scientists working on these topics; (ii) reinforce cooperation between IRD and UMSA; (iii) establish links among Latin American scientists working in the field of transmissible diseases; (iv) initiate a collaborative Latin American network in the field of transmissible diseases.

Los trabajos comunicados en el marco de este evento, podrán ser publicados en un número especial de la Revista

"Infection, Genetics and Evolution" (<http://www.elsevier.com/locate/meegid>), editor-in-chief: Michel Tibayrenc.

The Works communicated in the Framework of this event will be publishable in a special issue of the journal

"Infection, Genetics and Evolution" (<http://www.elsevier.com/locate/meegid>), editor-in-chief: Michel Tibayrenc.

Los organizadores les dan una cordial bienvenida

The organizers give you a warm welcome

Programa general/general programme

CM = conferencia magistral (plenary lecture)

Miercoles/Wednesday 25

08:00-09:00	Registro/registering
09:00-10:00	Bienvenida/welcome
10:00-10:30	CM 1
10:30-11:00	CM 2
11:00-11:30	Refrigerio/coffee break
11:30-12:00	CM 3
12:00-14:00	Almuerzo/lunch
14:00-14:30	CM 4
14:30-15:00	CM 5
15:00-15:30	Refrigerio/coffee break
15:30-16:00	CM 6
16:00-18:00	Simposios/Symposia 1 & 2
18:00-20:00	Vino de bienvenida/wine of honor

Jueves/Thursday 26

09:00-09:30	CM 7
09:30-10:00	CM 8
10:00-10:30	CM 9
10:30-11:00	CM 10
11:00-11:30	Refrigerio/coffee break
11:30-12:00	CM 11
12:00-14:00	Almuerzo/lunch
14:00-14:30	CM12
14:30-15:00	CM13
15:00-15:30	Refrigerio/coffee break
15:30-16:00	CM 14
16:00-18:00	Simposios/symposia 3 & 4

Viernes/Friday 27

09:00-09:30	CM 15
09:30-10:00	CM 16
10:00-10:30	CM 17
10:30-11:00	CM 18
11:00-11:30	Refrigerio/coffee break
11:30-12:00	CM 19
12:00-14:00	Almuerzo/lunch
14:00-14:30	CM 20
14:30-15:00	CM 21
15:00-15:30	Refrigerio/coffee break
15:30-16:00	CM 22
16:00-18:00	Simposios/symposia 5 & 6
18:00-19:00	Ceremonia de clausura/closing ceremony

20:00-24:00 Entrega de certificados y recepción social /certificate delivery and social reception

Programa General / general programme

Conferencias Magistrales / Plenary conferences

Miércoles 25 / Wednesday 25

- CM 1** **Genética molecular y dinámica poblacional del *Triatoma infestans* en Chuquisaca, Bolivia**
Juan Carlos Pizarro Cortez (Bolivia)
- CM 2** **HIV-1 Genetic diversity and recombination in South America**
Paula Aulicino (Argentina)
- CM 3** **How “omics” can help the control of parasitic disease?**
Cristiana Brito (Brazil)
- CM 4** **Molecular epidemiology of *Plasmodium falciparum* malaria in Peru after the malaria eradication era**
Venkatachalam Udhayakumar (USA)
- CM 5** **Leishmaniasis en Bolivia: de la epidemiología de campo a la epidemiología molecular**
Eddy Martínez (Bolivia)
- CM 6** **Emerging role of inflammasome as a infection modulator complex**
Alessandra Pontillo (Brazil)

Jueves 26 / Tuesday 26

- CM 7** **Asymptomatic patients in American Tegumentary Leishmaniasis: immunological aspects**
Jorge Arevalo (Peru)
- CM 8** **Genetic diversity of Neotropical Malaria Vectors**
Marta Moreno (Peru)
- CM 9** **Análisis Epidemiológico y molecular del virus dengue en Bolivia desde 1998 a 2008**
Roberto Jimmy Revollo Guzmán (Bolivia)
- CM 10** **MBL2 polymorphisms and association studies with infectious diseases**
Sergio Crovella (Brazil)

- CM 11 Avances en el desarrollo de la vacuna contra el dengue de Sanofi Pasteur**
María Consuelo Miranda (Colombia)
- CM 12 Sylvatic dengue in the Americas? Comparisons to ecology and epidemiology of Yellow Fever virus**
Nikolaos Vasilakis (USA)
- CM 13 Studies on mosquitoes transmitting viruses in French Guiana**
Isabelle Dusfour (French Guiana)
- CM14-1 ViRUSES: a project dealing with emerging and re-emerging viruses in French Guiana**
Vincent Lacoste (French Guiana)
- CM14-2 STRonGer: a consortium of research and medical units in French Guiana (French Guiana)**
Vincent Lacoste

Viernes 27 / Friday 27

- CM 15 Infección por hantavirus y su diversidad genética en Bolivia 2005 – 2009**
Vivian Antezana Rodríguez (Bolivia)
- CM 16 Genetic Variability in *Trypanosoma cruzi* I**
Felipe Guhl (Colombia)
- CM 17 Diversidad genética y distribución regional de cepas de *Mycobacterium bovis* del ganado en Mexico**
Feliciano Milián Suazo (México)
- CM 18 Tipificación genética de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* circulantes en Bolivia, mediante la caracterización genética de MIRU-VNTRs**
Aneth Vasquez Michel (Bolivia)
- CM 19 Drug resistance in tuberculosis from México: From an evolutionary adaptation to a public health problem**
Roberto Zenteno Cuevas (México)
- CM 20 The telomeres of Kinetoplastida and their role in adaptative fitness for the parasites**
José Luis Ramírez (Venezuela)

CM 21 Marcadores de ADN ribosomal y mitocondrial: utilidad y dificultades en estudios sobre la evolución de parásitos y vectores

María Dolores Bargues (España)

CM 22 Expansión mundial de la fascioliasis: análisis molecular en los periodos pre- y postdomesticación

Santiago Mas-Coma (España)

Simposios / Simposiums

Miércoles 25 / Wednesday 25

Simposio 1/Symposium 1

Chagas I (sala/room 1)

- S.1-1 Evidence of gene flow between wild and domestic *Triatoma infestans* populations in the Andes**
Simone Frédérique Brenière (France)
- S.1-2 Fuentes alimenticias, evidencia de vínculo entre los ciclos doméstico y silvestres de *Trypanosoma cruzi***
Rosio Buitrago (Bolivia)
- S.1-3 Molecular epidemiology of *Trypanosoma cruzi* and vectors in Ecuador**
Jaime Costales (Ecuador)
- S.1-4 Genetic markers for *Trypanosoma cruzi* typing and the molecular epidemiology of Chagas disease in the Gran Chaco Americano**
Patricio Diosque (Argentina)

Simposio 2/Symposium 2

Enfermedades Transmisibles/Transmissible Diseases (sala/room 2)

- S.2-1 *Trypanosoma cruzi* I transmitido por *Rhodnius stali* en un foco emergente del trópico de La Paz**
Pamela Durán (Bolivia)
- S.2-2 Epidemiología molecular del virus de fiebre amarilla en Bolivia, 1999-2008**
Norma Janeth Velasquez Goitia (Bolivia)
- S.2-3 Descripción del brote de dengue en el Departamento de Cochabamba 2009**
Efraín Vallejo Castro (Bolivia)
- S.2-4 Prevalencia y caracterización genotípica del virus del papiloma humano en mujeres de áreas urbanas y rurales de Cochabamba**
Patricia Rodríguez (Bolivia)

- S.2-5 Estudio directo y molecular de la prevalencia actual de *Fasciola hepatica* y enteroparásitos en la población residente de El Alto, Huarina, Huatajata y Batallas 2011**
Edy Espinoza (Bolivia)

Jueves 26 / Tuesday 26

Simposio 3/Symposium 3

Chagas II (sala/room 1)

- S.3-1 Eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas en comunidades pobres de Bolivia**
Frédéric Lardeux (Francia)
- S.3-2 Tipificación molecular de DTU's de *Trypanosoma cruzi* causante del primer brote reportado de transmisión oral de la enfermedad de Chagas en la Amazonía Boliviana**
José Santalla Vargas (Bolivia)
- S.3-3 Análisis de cepas de *Trypanosoma cruzi* de Chile y tripanosomas circulando en murciélagos bolivianos mediante secuenciación del gen de citocromo b**
Aldo Solari (Chile)
- S.3-4 Expresión proteica de *Trypanosoma cruzi*: un camino hacia la comprensión del dialogo molecular**
Jenny Tellería (Francia-Bolivia)

Simposio 4/Symposium 4

Parasitología/Parasitology (sala/room 2)

- S.4-1 Marcadores moleculares de resistencia a los antimaláricos en cepas de *Plasmodium falciparum* importadas de África**
Pamela Durán (Bolivia)
- S.4-2 Identificación molecular del genero *Leishmania* en zonas endémicas de Bolivia**
Ana Lineth García (Bolivia)

- S.4-3 Patrones de transmisión de la leishmaniasis cutánea en el departamento de La Paz**
Viterman Ali (Bolivia)
- S.4-4 Efecto de las parasitosis intestinales sobre el metabolismo proteico en niños Bolivianos, residentes de gran altitud**
José Luis San Miguel (Bolivia)
- S.4-5 Manejo de casos de Malaria en zona recolectora de Castaña (2010-2011)**
Miguel López (Bolivia)

Viernes 27 / Friday 27

Simposio 5/Symposium 5

Epidemiología Molecular/Molecular Epidemiology (sala/room 1)

- S.5-1 Evaluación de los efectos leishmanicida e inductor de la capacidad fagocítica y toxicidad aguda del ácido úsnico**
Luis Fernando Sosa Tordoya (Bolivia)
- S.5-2 Validación de PCR en tiempo real multiplex con sondas TaqMan para detección de *Trypanosoma cruzi* en sangre periférica de pacientes con infección crónica**
Sandro Villarroel (Bolivia)
- S.5-3 Desarrollo de un servicio comercial de diagnóstico molecular de enfermedades en pollos de granja (*Gallus gallus*)**
Marisol Campero (Bolivia)
- S.5-4 Compared population genetics of pathogenic microorganisms (parasites, fungi, bacteria, viruses); epidemiological consequences**
Michel Tibayrenc (France)

Simposio 6/Symposium 6

Entomología/Entomology (sala/room 2)

- S.6-1 Bioecología y hábitat del *Aedes aegypti***
Richard Flores Montaña (Bolivia)

- S.6-2 Caracterización morfológica y genética del vector de dengue en poblaciones de Bolivia**
Norman Valdez Zamorano (Bolivia)
- S.6-3 Transmisión Transovárica del virus del dengue en el vector *Aedes aegypti***
Mirian Cruz Zambrana (Bolivia)
- S.6-4 Determinación de la diversidad del género *Culex* (Diptera, Culicidae) en Santa Cruz, Bolivia**
Giovani Mollos (Bolivia)
- S.6-5 Estrategias de vigilancia vectorial**
Román Callata Peñarrieta (Bolivia)

Posters

- Po.1 Análisis Conductual del uso adecuado de MTI, población zafretera Riberalta 2011**
Jhannet Abalos, Hebert Ortiz (Bolivia)
- Po.2 Características Bioecológicas de *Triatoma infestans***
M. Bustamante, J.Espinoza, O. Tenorio, H. Calle, L. García (Bolivia)
- Po.3 Estatus inmunológico en pacientes con leishmaniasis cutánea con falla terapéutica**
Amilcar Flores, Ernesto Rojas, Marisol Córdova, Mary Cruz Torrico, David Paz (Bolivia)
- Po.4 Primera evidencia de resistencia de *Plasmodium vivax* a la Cloroquina en la zona amazónica de Bolivia»**
Eddy Martinez, Armando Achocalla, Juan Carlos Avila, Abrahan Matías, René Mollinedo, José Pablo Escobar, Pamela Durán, Gladis Nakao, Francisco Ramos, Gloria Melgar, Norma Padilla (Bolivia, Guatemala)
- Po.5 Tipificación molecular y caracterización morfológica de especies de *Leishmania* circulantes en el departamento de La Paz 2009-2011**
José Santalla, Patricia Oporto, Edy Espinoza, Alberto Jimenez, Lineth García (Bolivia)

- Po.6 Manipulación genética de los mosquitos para el control de la malaria**
Andrzej Szwagrzak (Polonia)
- Po.7 The Predominant Native American Nature of Bolivians revealed by the analyse of the mtDNA Genome**
Patricia Taboada-Echalar, Alberto Gómez-Carballa, Vanesa Álvarez-Iglesias, Ana Pastoriza, Antonio Torres-Balanza, Omar Rocabado, Carlos Vullo, Antonio Salas (Spain, Bolivia, Argentina)
- Po.8 Descripción del brote de dengue en el Departamento de Cochabamba 2009**
Efraín Vallejo, Roberto Agudo, Arturo Quiñones, Alfredo Aramayo, Fernando Magalhaes (Bolivia)
- Po.9 *Dalbulus maidis* De Long & Wolcott (Homoptera: Cicadellidae) vector del virus del rayado fino del maíz**
Yuri Zurita (Bolivia)

Conferencias Magistrales

Resúmenes

Plenary Lectures

Abstracts

CM 1

Genética molecular y dinámica poblacional del *Triatoma infestans* en Chuquisaca, Bolivia

Juan Carlos Pizarro Cortez¹, Wilma Ribera Céspedes¹, Lori Stevens²

1. Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Bolivia;
2. Departamento de Biología, University of Vermont, USA

Se investigó la estructura genética de poblaciones del *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), el principal vector de la enfermedad de Chagas en Bolivia, mediante una estrategia de muestreo jerárquico. Insectos entre adultos y ninfas procedentes de diferentes localidades del departamento de Chuquisaca fueron analizados utilizando diez marcadores microsatélites. La estructura poblacional fue estimada mediante análisis de varianza molecular (AMOVA) utilizando los valores de FST y RST, los cuales mostraron estructura poblacional significativa entre las regiones occidental y oriental de Chuquisaca y entre los insectos recolectados en hábitats domésticos y peri-domésticos. La diferenciación genética en tres diferentes niveles geográficos jerárquicos fue significativa, incluso en el caso de los hábitats adyacentes dentro de una sola localidad (RST = 0,14, FST = 0,07). A una mayor escala geográfica, entre cinco comunidades separadas por distancias de hasta 100 km, se observaron valores de RST = 0,12 y FST = 0,06. El análisis de conglomerados en combinación con las pruebas de asignación identificó cinco grupos genéticamente relacionados dentro de las cinco comunidades.

Conclusiones: Algunas viviendas son colonizadas por insectos de varios grupos genéticos después de la fumigación, mientras que otras son colonizadas principalmente por insectos de un solo grupo. Se observó también una estructura de población significativa, lo cual apoya la hipótesis de la poca capacidad de dispersión y/o reducción de la migración de *T. infestans*.

El alto grado de estructura genética en una escala geográfica reducida, junto con las inferencias de análisis de conglomerados y las pruebas de asignación, y los datos demográficos sugieren que los vectores que re-infestan las viviendas después de la fumigación provienen de hábitats cercanos y de una recrudescencia.

CM 2

HIV-1 Genetic diversity and recombination in South America

Paula Aulicino

CONICET, Buenos Aires, Argentina

The HIV-1 molecular epidemiology in Latin America is both complex and intriguing, with a predominance of subtype B strains in most countries, and an increasing diversity of recombinant structures between HIV-1 subtypes B, C and F in countries of the Southern cone Argentina, Chile, Brazil, Paraguay, and Uruguay. From the total 49 different HIV-1 CRFs described worldwide, 16 (45%) were found in at least 3 independent isolations inside the Latin American continent. The most frequent combination of subtypes result in a wide variety of BF recombinant structures, some of which presumably share a common ancestry as inferred by coincident recombination breakpoints. The demographic history of BF recombinants indicates that these were rapidly generated after the introduction of subtype F1 into South America and have been circulating in the continent over the last 25 years, with an initial exponential growth compatible with a higher fitness and/or transmissibility than parental B and F HIV-1 subtypes. Tracing the origins and spread of distinct HIV-1 strains in South America is of paramount importance to understand the epidemic potential of HIV-1 variants in diagnosis, treatment, and vaccine development.

CM 3

How “omics” can help the control of parasitic disease?

Cristina Ferreira Alves de Brito

Laboratorio de Malaria, Centro de Pesquisas Rene Rachou–Fiocruz, Belo horizonte/MG,
Brazil

The development of large-scale approaches, called “omics”, has led to production of a massive amount of information. These approaches which include genomic, transcriptomic and proteomic have been used to identify new vaccine candidates, drug targets and molecular markers. Here the focus is in two important parasitic diseases: schistosomiasis and malaria. The searching for vaccine candidates in schistosomiasis has been based on: prevention of infection, reduction of parasite fecundity and reduction of disease pathology. In malaria the search for vaccine candidates has been concentrated in parasite proteins involved in host cell invasion, such as the *Plasmodium vivax* Duffy-binding protein. In both diseases, the search for new drug targets has been concentrated in the identification of unique parasitic proteins or metabolic pathways, as the apicoplast-specific proteins in malaria. On the other hand, an interesting approach is the search for parasite genes matching to human targets of known drugs, such as tubulin alpha chain gene of *Schistosoma mansoni* that is the target of vinblastine. The search for molecular markers in both diseases has concentrated in identification of microsatellites and SNPs to be used in molecular epidemiology and to study interesting phenotypes, such as drug resistance and relapses. Therefore, many groups have used the available data, however there are still many unexplored data to search for new products and to better understand the host/parasite interaction.

CM 5**Leishmaniasis en Bolivia: de la epidemiología de campo a la epidemiología molecular**

Eddy Martínez Avendaño

Unidad de Parasitología, Medicina Tropical y Medio Ambiente, Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD); Cátedra de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés. Eddy.Martinez.A@gmail.com

Escritos españoles evidencian la presencia de leishmaniasis cutánea y mucosa en Bolivia previas a la invasión española. El año 1946 se describió en La Paz el primer caso de leishmaniasis cutánea difusa (LCD) del mundo, con lujo de detalles descriptivos plenamente coincidentes con la especie denominada en 1979 *Leishmania amazonensis*. En 1984 se confirmó la presencia de *Leishmania braziliensis* y *Leishmania chagasi* en Bolivia y posteriormente se identificaron algunos de sus vectores. Más adelante se confirmó la presencia de *L. amazonensis* en Santa Cruz y más tarde se describieron otros 2 casos de LCD, en el tercero se confirmó *L. amazonensis* como agente en coinfección con *L. chagasi* en la misma lesión (único caso conocido). Se descubrió el foco de *L. amazonensis* a mayor altitud (1450 a 2100 m), el único de transmisión doméstica, con *Lu. nuneztovari anglesi* como vector; planteándose por primera vez la transmisión de diferentes especies de *Leishmania* por un mismo vector, en contraposición a paradigmas planteados por los expertos. Se detectó la primera infección en Bolivia por *Leishmania lainsoni*, así como nuevos casos esporádicos de leishmaniasis visceral. Se contribuyó así con importantes avances en el conocimiento de la epidemiología de las leishmaniasis en Bolivia, identificando nuevos focos de transmisión, nuevos vectores y patrones de transmisión; combinando, para la caracterización de los parásitos, diferentes herramientas fenotípicas (microscopía y morfología, desarrollo en cultivo, desarrollo y virulencia en animales de laboratorio, zimodemas), que más adelante fueron corroborados con herramientas moleculares, encontrándose plena correspondencia entre ellas.

CM 6

Emerging role of inflammasome as a infection modulator complex

Alessandra Pontillo

University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil

Inflammasomes are multi-protein complexes that sense microbial molecules (PAMPs) and endogenous danger signals (DAMPs) within the cytoplasm. Inflammasome assembly results in caspase-1 activation, and secretion of interleukin 1 β (IL-1 β).

Along the past decades various auto-inflammatory diseases were associated to inherited mutations in inflammasome genes, demonstrating the central role of this complex in the regulation immune response. The importance of inflammasome was nowadays recognized not only in the context of IL-1 β secretion and inflammation process, but also in activating full competent dendritic cells and driving the adaptive immune response. It is increasingly evident that dysregulation in inflammasome activation and IL-1 β secretion affect the organism in several tissues and different levels starting from PAMP or DAMP sensing, to inflammation entity and the consequent tissue damage, to the dendritic cells ability in activating T-lymphocytes.

NOD-like receptors (NLRs) and inflammasomes play an important role in the immune response during bacterial and viral infections improving our understanding of host defence mechanisms against pathogens and providing new avenues for interfering in the pathogenesis of infectious diseases.

More recently several polymorphisms were described in inflammasome genes as associated to auto-inflammatory disorders and autoimmune diseases (celiac disease, type I diabetes, vitiligo), neurodegenerative pathologies (Alzheimer Disease), infectious diseases (HIV-1, *Candida albicans*, *Mycobacterium leprae*), cancer development and progression, response to drugs. These variations probably affect the balance between a pro- and anti-inflammatory microenvironment and their investigation opens new horizons in the understanding of multifactorial disease pathogenesis and in the disclosure of novel target for treatment.

CM 8**Genetic diversity of Neotropical Malaria Vectors**

Marta Moreno

University of California, San Diego-Iquitos, Perú

Malaria is a parasitic disease with tropical and subtropical distribution transmitted by anopheline mosquitoes. This disease is transmitted only by mosquitoes from subgenus *Anopheles*, and 60 out of 400 species have been incriminated as malaria vectors. Furthermore, it is estimated that more than a half the world's malaria vectors comprise isomorphic species complexes, which are sibling species equal morphologically. This is vital because effective malaria control depends on the correct delineation of component taxa, since not all the species in the complex are competent vectors. The primary goal of genetic diversity studies in anopheline mosquitoes is to identify population demes, lineages or molecular forms that may exhibit differential involvement in malaria transmission. An understanding of the demographic history of *Anopheles* mosquitoes can provide insights into responses to past geological and climatic changes and colonization events that led to current geographic distributions. Restricted gene flow due to isolation by distance and physical barriers to dispersal may explain the spatial pattern of current genetic diversity in some *Anopheles* species. In addition, studies on the genetic composition of malaria vectors are important to determine the extent of genetic exchange among populations and to predict the spread of genes involved in parasite refractoriness and/or conferring resistance, which is one of the main threads to every malaria vector program.

CM 9

Análisis Epidemiológico y molecular del virus dengue en Bolivia desde 1998 a 2008

Yelin Roca¹, Cecile Baronti², Roberto Jimmy Revollo¹, Shelley Cook³, Roxana Loayza¹, Laetitia Ninove², Roberto Torrez Fernandez ⁴, Jorge Vargas Flores¹, Jean-Pierre Herve⁵ y Xavier de Lamballerie ²

1. Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa-Cruz, Bolivia; 2. Unidad de Virus=UMR190, Universidad del Mediterráneo e Instituto de Investigación para el Desarrollo, Marsella, Francia; 3. Museo de Historia Natural, Londres, Reino Unido; 4. Servicio Departamental de Salud, Santa-Cruz, Bolivia; 5. UR014, Instituto de Investigación para el Desarrollo, Montpellier, Francia.

La fiebre del dengue se reconoció por primera vez en Bolivia en 1931. Sin embargo, muy poca información está disponible hasta la fecha con respecto a la caracterización genética y epidemiología de las cepas del virus del dengue en este país.

Se realizó caracterización genética del gen de la envoltura de 64 cepas bolivianas del virus dengue aisladas desde 1998 a 2008. Se investigó su origen y evolución para determinar si las cepas circularon de forma simultánea o alternativamente, y si ocurrió o no la introducción de distintas variantes virales durante el período estudiado. Identificamos que, durante la última década, virus estrechamente relacionados han circulado durante varios años consecutivos (5, 6, y 6 años para DENV-1, DENV-2, y DENV-3, respectivamente) y se observó la circulación conjunta de dos o incluso tres serotipos. La aparición de nuevas variantes (distintos de los definidos en los episodios anteriores) fue identificada en el caso de DENV-1 (brote 2007) y DENV-2 (brote 2001). En todos los casos, es probable que los virus se hayan originado en los países vecinos.

CM 10**MBL2 polymorphisms and association studies with infectious diseases**

Sergio Crovella

Department of Genetics, Federal University of Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE - CEP: 50670-901
e-mail: crovelser@gmail.com

We evaluated the frequency of the polymorphisms in the first exon of the *MBL2* gene in an HIV-1-infected pediatric Brazilian cohort from Recife (Brazil). We found an association between the presence of the mutated *MBL2* allele (allele 0) and the risk for HIV-1 infection through vertical transmission. In a previous study on Italian perinatally infected HIV-1 positive children the presence of the 0 allele has been associated with a rapid progression to AIDS.

MBL2 0 allele was also significantly more frequent in the HCV positive patients from Recife (Brazil) than healthy controls, from the same geographical area, associating with an increased risk for HCV infection.

We then studied the association between high-risk human papillomavirus (HPV) infection and *MBL2* polymorphisms in a group of 180 high-risk HPV-infected women and 180 healthy control subjects. When considering *MBL2* combined genotypes grouped according to MBL production we detected a significant difference between healthy controls and high-risk HPV-positive patients, the latter group showing increased frequencies of deficient-producer genotypes.

We also describe an association of *MBL2* polymorphisms, leading to low circulating MBL levels, and the protection against development of thrombocytopenia associated with severe dengue phenotype. We found significant correlations between wild-type A/A *MBL2* genotype and age as associated risk factors for development of dengue-related thrombocytopenia. The presence of high serum MBL levels can be also associated with pathological conditions, evidencing the "double face" of the MBL able to both protect from infection but also capable of commencing an excessive immunological response.

CM 11

Avances en el desarrollo de la vacuna contra el dengue de Sanofi Pasteur

Maria Consuelo Miranda

R&D LATAM Sanofi Pasteur, Bogotá Colombia

Desde hace aproximadamente 15 años Sanofi Pasteur (SP) está desarrollando una vacuna contra el dengue. La candidata a vacuna de SP está compuesta de 4 vacunas atenuadas vivas recombinantes, basadas en el mecanismo reproductivo de la cepa vacunal de la fiebre amarilla 17D (YFD 17 D) pero substituyendo los genes de pre-membrana y envoltura por los mismos genes de los virus de dengue, expresando los antígenos estructurales que determinan los cuatro serotipos de virus de dengue (1).

Los estudios preclínicos han demostrado que esta vacuna es genéticamente y fenotípicamente estable, no-hepatotrópica, menos neurovirulenta que el YFV 17 D y no infecta a los mosquitos por vía oral (1). El programa de desarrollo clínico incluye estudios clínicos fase I y fase II desarrollados en poblaciones endémicas y no endémicas, en adultos y niños en Australia, Asia y en las Américas. Actualmente se están desarrollando ensayos clínicos Fase III, de eficacia y de co-administración con otras vacunas, en Asia y Latinoamérica (2). La vacuna ha demostrado un perfil de seguridad satisfactorio con una baja viremia y reactogenicidad comparable a vacunas registradas en los grupos control. El perfil inmunológico es también satisfactorio con respuestas humorales y celulares inducidas contra los cuatro serotipos. Una vacuna efectiva contra el dengue es requerida urgentemente (3). Los resultados obtenidos son promisorios y garantizan el desarrollo de esta vacuna como una herramienta potencial en la lucha contra esta enfermedad.

1. Guy B, Guirakhoo F, Barbana V, Higgs S, Monath T, Lang J. Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine* 28: 632–649. 2010.

2. Guy B, Barrere B, Malinowski C, Saville M, Teyssou R, Lang J. From research to fase III: preclinical, industrial and clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalente dengue vaccine. *Vaccine* 29, 7229-7241. 2011.

3. WHO alarmed about the spread of dengue, http://www.wpro.who.int/media_centre/press_releases/pr_23072007.htm

CM 12

Sylvatic dengue in the Americas? Comparisons to ecology and epidemiology of Yellow Fever virus

Nikos Vasilakis

University of Texas Medical Branch, Galveston, TX, USA

Four dengue virus (DENV) serotypes currently circulate among humans. These serotypes have emerged independently from ancestral sylvatic progenitors present in non-human primates, following the establishment of human populations large and dense enough to support continuous inter-human transmission by mosquitoes. This ancestral sylvatic cycle is still extant, maintained in non-human primates and *Aedes* mosquitoes in the forests of Southeast Asia and West Africa. The discovery of a sylvatic cycle of yellow fever virus (YFV) in the Americas, a virus originated in Africa and was probably introduced into the New World during the slave trade, begs the question of whether sylvatic DENV might have also been introduced in this manner. Here we provide an overview and comparison of the ecology, epidemiology, and potential for adaptation of sylvatic DENV to human transmission in a manner analogous to YFV.

CM 13

Studies on mosquitoes transmitting viruses in French Guiana

Isabelle Dusfour, Romain Girod

Institut Pasteur de la Guyane, Unité d'entomologie Médicale, 23 avenue Pasteur, BP6010, Cayenne cedex, 97306, French Guiana. idusfour@pasteur-cayenne.fr

French Guiana is an outermost territory of France in South America where, among other diseases, arbovirosis are of medical importance. While Yellow fever is under control, dengue fever still occurs under an endemo-epidemic pattern. *Aedes aegypti*, the sole vector, is then the target of intensive vector control programs. In addition, vigilance is required to prevent the introduction of viruses (i.e. Chikungunya) or vectors (*Ae. albopictus*). French Guiana is also territory of disease emergence due to an important urbanization bringing into contact human, mosquito and animal populations and increasing the risks of mosquito borne anthroponosis. The Medical Entomology Unit at Institute Pasteur in French Guiana is interested in different aspects of research on mosquitoes transmitting viruses. First, vector competence of *Aedes aegypti* to different virus such as Chikungunya and Dengue virus strains is evaluated. This work has already demonstrated the high competence of local mosquito populations to CHIKV and tended to show that these populations are more competent to DENV-4 than DENV-1. Secondly, the unit has been involved in the study of selvatic cycle of arboviruses. This work is part of the ViRUSES project. A total of 28,360 adult mosquitoes were collected and about 60% identified to species. Further identification and virus search are ongoing. Thirdly, the team is also interested in the dynamics of insecticide resistance of *Ae. aegypti* and its metabolic and target-site mechanisms. High levels of resistance to pyrethroids in coastal populations were observed. *Kdr* mutation and metabolic resistance have been detected. Finally, the unit leads a program on the optimization of entomological indices for the surveillance of *Aedes aegypti* and dengue outbreaks.

CM14-1**ViRUSES: a project dealing with emerging and re-emerging viruses in French Guiana**

Vincent Lacoste, Benoît de Thoisy, Séverine Matheus & Anne Lavergne

Laboratoire des Interactions Virus - Hôtes, Institut Pasteur de la Guyane, 23 avenue Pasteur, BP6010, 97306 Cayenne cedex, French Guiana

ViRUSES stands for *Virus – Reservoir – Urbanization: monitoring the emergence in South America*. This research project aims at identifying different emerging viruses and their animal reservoirs in French Guiana. Our purpose is to contribute to a better understanding of emergence phenomena due to increased interactions between wildlife and expanding human populations. We focused our attention on three viral families responsible for distinct diseases: rabies, hemorrhagic fever caused by arenaviruses and Hantavirus cardio-pulmonary syndrome (HPS). This choice took into consideration emergence factors observed in French Guiana: increased contacts with forest habitats and vectors of viruses (rabies), unplanned urbanization (rabies, hantavirus), and forest conversion in urban and agricultural areas (arenavirus and hantavirus).

Since 2005, trapping sessions conducted in different sites have allowed to trap and sample about 1,200 terrestrial mammals and more than 1,000 bats. Viral screening has been performed by serology and/or molecular biology. Among the main results obtained so far, we have:

1. identified the three first human cases of HPS in French Guiana. We have generated the complete genome sequence of the virus, named *Maripa virus*. This virus corresponds to a new variant of Rio Mamoré virus. Among the 256 rodents tested, we have identified by direct molecular approaches 3 positive animals: two *Zygodontomys brevicauda* and one *Oligoryzomys fulvescens*. These two species have previously been described as Hantavirus competent reservoirs in other countries. We have also identified key ecological factors explaining species' occurrence.
2. determined, by serological screening, the prevalence of rabies in different bat's communities. On 571 animals tested, belonging to 10 species, rabies antibodies prevalence was 7.88% (45/571). Seroprevalence varied between species ranging from 0% in *Artibeus lituratus* to 14.3% for *Sturnira tildae*, with a large number of positive species. Direct search of rabies virus was conducted on 751 individuals belonging to 24 species. One vampire only, *D. rotundus*, was found positive.
3. identified a new arenavirus from two rodents belonging to the *Oecomys* genus (*O. auyantepui* and *O. rutilus*) and captured in the same area. Amplification products were obtained for two segments (S and L) of the viral genome. A

preliminary phylogenetic analysis performed on one of the two S sequences showed that this new arenavirus is related to the Alpahuayo group.

These results suggest an active circulation of these viruses in the wild fauna. Due to increased human pressures, the risk of contracting these infectious agents in French Guiana is real. Public health policies, medical diagnosis, control measures and educational programs should now take into account these infectious risks.

CM14-2**STRonGer: a consortium of research and medical units in French Guiana**

Vincent Lacoste

Laboratoire des Interactions Virus - Hôtes, Institut Pasteur de la Guyane, 23 avenue Pasteur, BP6010, 97306 Cayenne cedex, French Guiana

STRonGer for “*Strengthening Transdisciplinary Research on Infectious and Emerging Diseases in French Guiana: linking fieldwork, benchside and bedside*” is a scientific program, which objective is to significantly reinforce, over a short period of time, the existing medical research capacities in French Guiana - both in terms of human resources and infrastructures - to better meet infectious health risks for the population.

Population booming in French Guiana is regularly confronted to infectious outbreaks or epidemics of various origins (viral: dengue, rabies, hantavirus, ..., parasitic: malaria, Chagas, ... or bacterial: Q fever ...). The emergence of these infectious agents is mainly the result of socio-economical, environmental and ecological constraints related to human activities. The infectious cycle of pathogens, vectors and/or animal reservoirs can be indeed affected by pressures on natural environments (deforestation, impacts) and changes in population behaviours.

To better understand health risks posed by this growing interface between forest and human populations, Guianese research teams of the Institut Pasteur de la Guyane, CNRS (UMR EcoFoG), INSERM (Centre d’investigation clinique – épidémiologie clinique), the Université des Antilles et de la Guyane (Unité Epidémiologie des Parasitoses Tropicales) as well as several teams from continental Europe (The Netherlands, Portugal, United Kingdom) are associated in the STRonGer consortium. STRonGer is financially supported by the European Commission through the *Research Potential* project of the 7th Framework Programme for research and development (FP7-REGPOT-2011-1) for a period of 42 months.

STRonGer’s operational objectives aim at:

- promoting close cooperation and regular exchanges between the different teams to strengthen research’s potential in different areas of science and technology, through seminars’ organization and/or scientific conferences involving local, regional, national or international experts,
- increasing research’s potential through recruitment of qualified researchers,

- increasing local capacities of diagnosis and research laboratories, through construction of a biosafety level 3 laboratory in entomology, and by endowing existing laboratories of new and advanced technologies,
- disseminating research results and the acquired expertise through appropriate media (book, film, website...).

In terms of research, STRonGer will strengthen scientific excellence in French Guiana and increase international visibility of consortium's members in the field of infectious and emerging diseases. In terms of public health, STRonGer should have a major impact not only for French Guiana but also for the Guiana shield and even beyond.

CM 15

Infección por hantavirus y su diversidad genética en Bolivia

2005 - 2009

Vivian Antezana Rodríguez

Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (CENETROP), Santa Cruz, Bolivia

Desde el descubrimiento del síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) en el año 1993 y su asociación con el hantavirus "Sin Nombre" en Norte América, han sido identificados en varios países de Sud América los hantavirus Andes, Laguna negra y Bermejo. A pesar de los casos detectados en Bolivia, no se han realizado estudios de diversidad genética de los Hantavirus circulantes.

En este estudio hemos identificado los casos positivos de Hantavirus y los genotipos circulantes de muestras de sangre durante el periodo 2005 al 2009, recibidas con sus respectivas fichas clínico-epidemiológicas y procesadas en el Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (CENETROP). Se empleó el método de ELISA para la detección de IgM, utilizando antígeno recombinante de la proteína N del virus Andes proporcionada por el Instituto Carlos Malbrán, Argentina y que se enviaron para su confirmación y genotipificación al Instituto Nacional de Enfermedades Virales "Julio Maiztegui" en Argentina y al Canadá al Laboratorio Nacional de Microbiología.

De un total de 110 casos positivos, el departamento de Tarija tuvo mayor número de casos 55 (50 %). De la genotipificación viral de 35 muestras, los hantavirus identificados fueron Laguna negra (9 casos), Orán (2 casos) y 1 caso en estudio de un total de 12 muestras de Santa Cruz; 6 del genotipo Laguna negra, 7 Orán y 7 Bermejo de Tarija de un total de 22 muestras y se identificó el genotipo Laguna Negra en Cochabamba en 1 muestra. Los genotipos circulantes en Bolivia son similares a los descritos en los países vecinos como Argentina, Chile y Paraguay.

CM 16

Genetic Variability in *Trypanosoma cruzi* I

Felipe Guhl and Juan David Ramirez

Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, CIMPAT
Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Chagas disease caused by *Trypanosoma cruzi* is a complex systemic disease that affects over 10 million people in the American continent. The nomenclature of *Trypanosoma cruzi* has recently been amended to reflect the high phenotypic and genotypic variability of this parasite. Six Discrete Typing Units (DTUs) have been proposed based on various features of *T. cruzi*. Since 1999, when an international consensus on the nomenclature of *T. cruzi* was reached for the first time [3], two completely different genetic lineages have been discussed. Through isozyme studies, lineage TcI has been revealed to be a homogeneous genetic group with dimorphisms in the mini-exon gene and in the divergent domain of the rDNA of parasites. After ten years of research aimed at the verification of TcI homogeneity, several molecular markers have demonstrated the existence of considerable genetic variability within *T. cruzi* I. Of note, the first classification of *T. cruzi* I was a lineage linked to the sylvatic transmission cycle of Chagas disease. Since then, a large number of molecular markers have shown high genetic variability in *T. cruzi* I.

Molecular epidemiology studies of *T. cruzi* have attempted to establish the effects of different DTUs in the clinical progression of Chagas disease. Several studies have shown the effect of genetic variability on the host immune response. It was previously known that cardiopathies in southern cone countries were caused by TcII, TcV and TcVI, but it has recently been demonstrated that TcI can play an important role specifically in severe cardiopathies related to Chagas disease. Studies of cardiac biopsies from Argentinean patients revealed that patients with severe myocarditis were infected with TcI, whereas those with moderate or absent myocarditis were infected with TcII, TcV or TcVI. At the same time that the TcI genotype was found in the severe myocarditis patients, it was demonstrated that in patients with chronic chagasic cardiopathy, the TcIa genotype was most commonly found in the bloodstream, whereas TcId was most commonly found in cardiac biopsies. These results are consistent with reports from patients in Colombia, where the least and most prevalent TcI genotypes in adult patients with chronic chagasic cardiopathy were TcId and TcIa, respectively. This suggests a possible type of histotropism by TcI genotypes and the epidemiological importance of this feature in southern countries, where cardiopathies were previously thought to be caused primarily by TcII, TcV and TcVI.

The distribution of *T. cruzi* genotypes and reservoirs has important implications for the divisions of TcI. In the southern part of the continent, infection of *Canis familiaris* has been associated with TcIV, V and VI, whereas infections in the north are associated

with genotypes Ia and Ib . Furthermore, a significant number of *D. marsupialis* in Colombia are infected with the TcId genotype, which suggests an association with the sylvatic transmission cycle. Similar studies in primates have demonstrated that TcI predominantly infects arboreal reservoirs.

Recent studies have confirmed the presence of the TcI genotypes in Argentina, Brazil, Bolivia, Chile, Colombia, Mexico, Panama, Paraguay, French Guiana, Venezuela and the USA.

CM 17

Diversidad genética y distribución regional de cepas de *Mycobacterium bovis* del ganado en México

Milian-Suazo F¹, García CL¹, Romero TC², Cantó AGJ³, Gutiérrez RJA⁴, Gallegos SS¹, Mercado PM², Mejía Estrada F⁵, Peña CAL⁶, Pizano MOE¹

1. CENID-F y MA, INIFAP, Querétaro, Qro. México; 2. CENASA-SENASICA-SAGARPA, Tecámac, Estado de México; 3. UAQ, Querétaro, Qro; 4. DGSA, SENASICA-SAGARPA, México; 5. SE Pichualco, Pichualco, Chiapas; 6. CE Los Altos de Jalisco, Tepatitlán, Jal.

Hacer epidemiología molecular (EM) es usar técnicas moleculares para determinar enfermedad, sus estados preclínicos, cuantificar exposición, identificar efectos biológicos tempranos e identificar la presencia de genes de susceptibilidad (Shiplberg et al., 1997). Gran cantidad de artículos en la actualidad llevan el título de "epidemiología molecular," sin diferenciar el objetivo de la investigación, estudios de filogenia, taxonomía molecular y genética de poblaciones pueden utilizar las mismas herramientas, pero cada una tiene diferentes objetivos. Lo que realmente distingue a la epidemiología molecular es lo de "molecular"; es decir, el uso de técnicas de biología molecular, y lo de "epidemiología," el estudio de la distribución y determinantes de ocurrencia de enfermedad en las poblaciones (Foxman y Riley, 2001). En el caso de la tuberculosis bovina existen muchos artículos con el título de "epidemiología molecular" que carecen de elementos epidemiológicos básicos. En la actualidad, se entiende claramente que la epidemiología tradicional y la epidemiología molecular se complementan, así, solo teniendo información epidemiológica colectada de manera tradicional se puede establecer relación epidemiológica entre cepas de microorganismos cuando estos tienen huella genómica idéntica. En la última década, la EM ha sido de gran ayuda para entender mejor el comportamiento de la tuberculosis en el ganado en América Latina. La genotipificación de cepas de *M. bovis* por *spoligotyping* ha permitido conocer la distribución geográfica de cepas de este bacilo en varios países. Utilizando la nomenclatura de la base internacional de espoligotipos como referencia (Mbovis.org), se ha podido determinar que la diversidad genética de cepas en los países es alta, consecuencia de la movilización indiscriminada de animales entre regiones. La genotipificación ha permitido determinar el papel de *M. bovis* en casos de tuberculosis humana en México, tanto en población abierta (Milian-Suazo et al., 2010), como en pacientes inmunodeprimidos (Cícero et al., 2009). Se ha demostrado también que cepas de origen humano comparten espoligotipo con cepas de origen bovino, lo que sugiere la transmisión del bacilo de una especie a otra. Esta herramienta ha sido utilizada también en la solución de controversias internacionales en la exportación de ganado, donde existen dudas sobre el origen de la infección con tuberculosis (Milian-Suazo et al., 2008). La EM ha servido también para determinar la participación de otras especies de animales, domésticas y salvajes en la persistencia de la enfermedad en las poblaciones (Zumárraga et al., 1999; Zumárraga et al., 2009; Barandiaran et al., 2011). A pesar de los avances recientes, no cabe la menor duda de que más aplicaciones prácticas de los resultados de la EM están en el futuro cercano.

CM 18**Tipificación genética de cepas de *Mycobacterium Tuberculosis* circulantes en Bolivia, mediante la caracterización genética de MIRU-VNTRs**

Aneth Vasquez Michel¹, Ruddy Luna Barrón²

1. Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2. Instituto de Investigaciones Técnico Científicas, Universidad Policial

Las repeticiones en Tandem de números variable (VNTR o minisatélites, son una herramienta comúnmente empleada para la genotipificación en eucariotas. Sin embargo marcadores moleculares de estructura semejante son encontrados en el genoma bacteriano como es el caso de las mycobacterias.

El presente trabajo pretende automatizar la tipificación de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* circulantes en Bolivia, empleando los marcadores MIRUs (unidades repetitivas espaciadoras en mycobacterias), propias de este tipo de microorganismos, con marcadores descritos por Supply et al.,2001.

El presente estudio se basa en el método de tipificación de alta resolución basado en la caracterización por electroforesis capilar de la variabilidad alélica de las repeticiones en tándem de número variable (VNTRs) en al menos 19 regiones minisatélites del genoma de *M. tuberculosis*, siguiendo la siguiente metodología: colección de cepas de 9 departamentos de Bolivia, obtención de material genético a partir de estas, ensamblado y validación de los cebadores diseñados para electroforesis capilar en el Analizador genético AB3130, caracterización de perfiles de genotipificación con los marcadores elegidos y análisis de variabilidad.

Los Marcadores miru-vntr propuestos por supply y col. Permiten la caracterización de la estructura genética de cepas de *M. tuberculosis* a través de la identificación de frecuencias alélicas.

La tipificación de cepas de MTB obtenidas de ocho departamentos de Bolivia y la estructura genética de las mismas indica que existe una evolución independiente de las cepas de Mtb en los departamentos de Oruro, La Paz, Santa Cruz, Chuquisaca y Potosí, siendo el departamento de Oruro el más relacionado a la cepas control (H37Rv), sensible a todos los antibióticos usados para controlar esta enfermedad. Por otro lado, en los departamentos de Cochabamba y Beni, las cepas muestran una relación evolutiva cercana, indicativo de un proceso de migración entre estos departamentos.

CM 19

Drug resistance in tuberculosis from México: From an evolutionary adaptation to a public health problem

Cuevas-Córdoba Betzaida¹, Cuellar-Sánchez Aremy², Fuentes-Domínguez Javier³, Mendoza-Damían Fabiola⁴, Enciso-Moreno Antonio⁵, Zenteno-Cuevas Roberto^{1,6}

1. Instituto de Salud Pública, Universidad Veracruzana, México. 2. Laboratorio Estatal de Salud Pública de Veracruz. 3. Programa Estatal de Tuberculosis, Servicios de Salud de Veracruz, México. 4. Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de México. 5. Unidad de Investigación Médica de Zacatecas, IMSS, México 6. Centro de investigaciones Biomédicas en Enfermedades Infecciosas, Veracruz, México.

The incidence of tuberculosis (TB) in Mexico is close to 14 cases per 100,000 habitants with an annual estimate of 17,000 new cases. Additionally according to the PAHO, this is one of the countries with the highest incidence of drug resistance- (DR) and multidrug resistance- (MDR) TB in Central and North America. The state of Veracruz is the source of 10% of the TB, and 35% of the DR-TB cases reported every year, and contains the highest population of patients with MDR-TB, for this reason is considered one of the most important contributors of the TB and DR-TB in Mexico. In this sense, the goal of our research is to characterize the molecular and epidemiological characteristics related with the TB, DR- and MDR-TB.

We had analyzed one of the largest collections of DR-TB isolates from Mexico, 136 cases. To be female and have diabetes mellitus type II (DMII) were the most important factors associated with the drug resistance. The DNA sequence analysis of the genes associated to the DR and MDR: *rpoB* (*R*, Rifampin), *katG* e *inhA* (*H*, Isoniazid), *embB* (*E*, Ethambutol), *rpsL* and *rrs* (*S*, Streptomycin), and *pncA* (*Z*, Pyrazinamide), showed important variability, presence and absence of the most common mutations associated to these resistances. The spoligotyping and MIRU-VNTR analysis, confirmed the presence of an important number of families and orphan genotypes.

Actually we are developing two lines of work, one related with the identification of the factors that explain the diversity of the genotypes, and the second is related with the influence of DMII in the evolution of TB in the patients, with emphasis in the development of DR.

All the information will help us to explain the geographical distribution and dispersion of the genotypes circulating; the development of new algorithms for the clinical treatment of patients bearing TB-DMII, and the design of molecular tools for the diagnosis of DR-TB.

Funding by the CONACyT-COVECyT, project no. 95819.

CM 20**The telomeres of Kinetoplastida and their role in adaptative fitness for the parasites**

José Luis Ramírez, Riward Campelo, Maria Mercedes Galindo and Noelia Lander

Centro de Biotecnología, Instituto de Estudios Avanzados, carretera Nacional Hoyo de la Puerta, Caracas, 1080, Venezuela. e-mail: ramjoseluis@gmail.com

In several unicellular organisms such as yeast, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, among others, the telomeric and subtelomeric regions have specialized as contingency gene expression sites. These regions can also be the places for gene conversion and unequal recombination processes that may have led to a rapid evolution of genes without compromising the chromosomal synteny. In the case of *Trypanosoma cruzi* we have determined a mosaic nature of its telomeres and subtelomeres with predominance of genes and pseudogenes of Trans-sialidase superfamily (TS), Retrotransposon-hotspot family, DFG-1 group and DEAD-BOX helicase group. Even more, we also found that the very telomeric end was apparently derived from a translocation and deletion process involving members of the Ts-superfamily. The reduced number of gene types found at *T. cruzi*'s telomeres and subtelomeres, has led us to inquire whether their location has any special meaning for the fitness of the parasite. Second, we have examined whether the presence of this mosaic structure could imply a telomere replenishment mechanisms without the need for telomerase.

From *in silico* simulation experiments we concluded that the evolution of the Ts-superfamily and DGF-1 protein group have stop after the rapid expansion of the families that originated the large sequence variation among family members. Many previous reports have firmly established that Ts-superfamily type II are involved in infectivity and penetration of the parasite, and most of its members have subtelomeric location, however it has not been possible to associated whether telomeric expression is related to any particular developmental stage. In a previous work we have demonstrated that a telomeric DGF-1 gene expression is developmentally regulated, and that the protein seems to be preferentially secreted through exosomal vesicles. Although a possible role for DGF-1 has been speculated, experiments to prove its function in host cell invasion are lacking.

Finally, we have established that telomerase is a very important activity for *T. cruzi*, but in order to detect it several parameters need to be adjusted. More interesting yet is the fact that typical human telomerase inhibitors act in *T. cruzi*'s telomerase at a 10 fold lower concentration.

CM 21

Marcadores de ADN ribosomal y mitocondrial: utilidad y dificultades en estudios sobre la evolución de parásitos y vectores

María Dolores Bargues

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia
Av. Vicente Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España

Las técnicas moleculares están mostrando que las enfermedades parasitarias son mucho más complejas de lo que se pensaba. Así, la gran heterogeneidad genética subyacente en parásitos, vectores u hospedadores intermediarios y hospedadores definitivos, vislumbra un amplísimo abanico de diferentes interacciones entre los diferentes compartimentos en cada enfermedad.

Los métodos y técnicas moleculares permiten profundizar en la transmisión de las enfermedades hasta dilucidar diferentes circulaciones, a través de diferentes hospedadores intermediarios/vectores y hospedadores definitivos y reservorios, y los requerimientos medio-ambientales de las fases de vida libre de los parásitos y de sus fases parásitas en invertebrados transmisores y así comprender las diferentes situaciones epidemiológicas, patrones de transmisión y vías de contaminación en las diferentes zonas geográficas y épocas del año. Estos conocimientos resultan indispensables para establecer las medidas de control que, debido a la heterogeneidad, en muchos casos deberán diferir de un lugar a otro. Dos buenos ejemplos de esta complejidad genética, lo constituyen dos enfermedades parasitarias bien distintas pero ambas de transmisión indirecta y de carácter zoonótico, como son la Enfermedad de Chagas y la Fascioliasis.

Dada la importancia de los vectores de estas dos enfermedades (triatominos en la Enfermedad de Chagas y lymnaeidos en la Fascioliasis) se entiende el gran número de estudios mediante secuencias de ADN ribosomal nuclear y ADN mitocondrial recientemente publicados. Sin embargo, resultados y conclusiones discrepantes en diferentes publicaciones sugieren la necesidad de unificar criterios para evitar la posibilidad de una creciente situación de confusión. Con este fin, se ha llevado a cabo un análisis comparado de la eficiencia, peso de las diferentes características, limitaciones y problemas de cada uno de los marcadores de ADN a la luz de resultados obtenidos en estudios de poblaciones, híbridos, subespecies y especies de triatominos y lymnaeidos, con base en conocimientos sobre estos marcadores moleculares en general. La necesidad de tener en cuenta las tasas evolutivas comparadas de los diferentes marcadores del ADN ribosomal y ADN mitocondrial se muestra crucial a la hora tanto de seleccionar un marcador según la pretensión del estudio como de interpretar correctamente los resultados obtenidos. Además, el incremento de estudios de esta índole indica la conveniencia de seguir una nomenclatura unificada simple sobre códigos de haplotipos combinados en parásitos y vectores.

Estudios financiados por los proyectos: SAF2010-20805, del Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España; RLA/5/049, de la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, Austria; 11-CAP2-1558, de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID), Madrid, España; e ISCIII-RETIC RD06/0021/0017 del Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, España.

CM 22

Expansión mundial de la fascioliasis: análisis molecular en los periodos pre- y postdomesticación

Santiago Mas-Coma

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia
Av. Vicente Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España

La Fascioliasis es una enfermedad causada por los trematodos digénidos *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*, ambas parásitas hepáticas del ganado. La afectación humana está mostrando una emergencia evidente en Europa, Africa, Asia y América en las dos últimas décadas. Con el fin de dilucidar el origen de todo este fenómeno, se ha llevado a cabo un amplio estudio multidisciplinar incluyendo epidemiología molecular de los fasciólidos y de sus moluscos Lymnaeidae vectores, análisis paleontológicos y genéticos de los herbívoros domésticos reservorios, y prospecciones arqueológicas e históricas con el fin de ensamblar el rompecabezas que permita establecer el origen y la expansión de estos dos fasciólidos en el mundo.

Los datos sugieren un origen de *F. gigantica* en rumiantes silvestres (Alcelaphinae, Raduncinae, Giraffidae, Bovinae) y en el lymnaeido *Radix natalensis* en el Mioceno (20,2-16,9 millones de años) en el SE de Africa. En cambio, el origen de *F. hepatica* habría sido algo más tardío, en ovicaprinos paleárticos y el lymnaeido *Galba truncatula* en el Próximo Oriente. Un reloj molecular calculado a través de catepsinas indica una divergencia del orden de 19 millones de años entre ambas especies de fasciólidos.

Las dos especies debieron mantenerse más o menos circunscritas a sus respectivas regiones de Africa y Próximo Oriente hasta que, tras el fenómeno antropogénico de la domesticación de los grandes y medianos herbívoros, el hombre procedió inadvertidamente a su dispersión mundial mediante el transporte de ganado a partir del Mesolítico y Neolítico, esencialmente a partir del denominado Creciente Fértil y del Antiguo Egipto hace unos 10.000 años. *Fasciola hepatica* se expansionó por el Mediterráneo y Europa, esencialmente las regiones asiáticas al Norte del Himalaya y también el Este de Africa hasta su extremo más meridional, para posteriormente, y gracias a las colonizaciones transoceánicas, invadir también Oceanía y América. Por su lado, *F. gigantica*, gracias a la mano del hombre, iba a diseminarse por todo el continente africano al Sur del Sahara y también por el Sur de Asia, sin entrar nunca en Europa. Estas expansiones geográficas fueron posibles gracias a la existencia oportuna de especies de *Galba/Fossaria* para *F. hepatica* y de *Radix* para *F. gigantica* en las respectivas zonas de expansión.

A su vez, el hombre forzó el solapamiento de ambas especies de fasciólidos en varias zonas de Africa y Asia, lo que habría de conducir a la aparición de formas intermedias híbridas muy extendidas en la actualidad. Estas formas híbridas, consiguientemente de origen evolutivamente reciente, están demostrando también una gran capacidad

de infección humana, estando en el origen de algunas epidemias descritas en el SE asiático en los últimos años.

Estudios financiados por los proyectos: SAF2010-20805 del Ministerio de Ciencia e Innovación, Madrid, España; RLA/5/049, de la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), Viena, Austria; e ISCIII-RETIC RD06/0021/0017 del Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, España.

**Simposio 1
Chagas I**

Resúmenes

**Symposium 1
Chagas I**

Abstracts

S.1-1

Evidence of gene flow between wild and domestic *Triatoma infestans* populations in the Andes

Simone Frédérique Brenière, Christian Barnabé, Renata Salas, Rosio Buitrago

MIVEGEC, INCHA, Université de Montpellier 1 et 2, CNRS 5290, IRD 224, Maladies Infectieuses et Vecteurs: Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Representation in Bolivia, Av Hernando Siles No. 5290, Esq Calle 7 Obrajes, CP 9214, La Paz, Bolivia

To assess whether wild populations near human dwellings could infest the habitat, gene flow between natural populations of *Triatoma infestans* collected in sylvatic and domestic environments were studied by the method MLMT (Multilocus Microsatellite Typing) for 7 locus. A total of 277 insects distributed in 25 populations (13 domestic and 12 wild), of three localities (Sapini, Thago Thago and Quillacollo) located in the "Inter Andean Dry Forests" ecoregion in Bolivia, where the persistence of the infestation by *T. infestans* was observed, were studied. The inter-localities analysis showed high geographical structure between the three areas. At the intra-population level, Hardy-Weinberg equilibrium was the rule. However positive F_{IS} values, significantly different from zero, were observed for the entire samples from Quillacollo and Thago Thago but not Sapini, a result probably related with sub-structuring within localities. Testing structuring between domestic and wild populations in each locality, no significant test was found showing an absence of structure between the two environments. Moreover, the number of true genetic populations that could be inferred in each locality was assessed with The STRUCTURE software. In Sapini and Quillacollo, 2 populations were inferred but these populations did not correlated with the places of captures of the bugs (peridomestic versus sylvatic). In Thago Thago, 8 populations were inferred, but the majority of individual had an admixed origin. The results reflect in the three localities, gene flow between environments supporting the moving of wild bugs to human habitat that may be linked to persistence of infestation in the localities.

S.1-2**Fuentes alimenticias de *Triatoma infestans*, evidencia de vínculo entre los ciclos doméstico y silvestres de *Trypanosoma cruzi***

Rosio Buitrago, Marie France Bosseno, Frédérique Brenière

MIVEGEC, INCHA, Université de Montpellier 1 et 2, CNRS 5290, IRD 224, Maladies Infectieuses et Vecteurs: Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Représentation in Bolivia, Av Hernando Siles No. 5290, Esq Calle 7 Obrajes, CP 9214, La Paz, Bolivia

El estudio de las fuentes alimenticias en triatominos de diferentes hábitats, permite identificar a los mamíferos que mantienen el desarrollo de estas poblaciones, evaluar el contacto entre los ciclos doméstico y silvestre de *Trypanosoma cruzi* y el riesgo que constituyen las poblaciones silvestres de vectores para la salud humana. Hemos estudiado fuentes alimenticias de poblaciones silvestres de *Triatoma infestans* cercanas al hábitat humano y también de *T. infestans* doméstico en tres comunidades: Thago Thago, Sapini y Quillacollo. La identificación de las fuentes alimenticias fue realizada por formación de heteroduplex del gen citocromo B, combinado con secuenciación de los productos de PCR y Blast en banco de genes. Fueron identificadas 8 especies de mamíferos silvestres, mayormente *Octodontomys gliroides* (37%) y *Galea musteloides* (31,2%), 2 de mamíferos domésticos, un ave y un reptil como fuente alimenticia de *T. infestans* silvestre. Además fueron detectadas 27 (19%) fuentes alimenticias procedentes de humano en 12 áreas silvestres. En *T. infestans* doméstico, la gallina fue la fuente más importante de alimento (35%), pero en el peridomicilio determinamos que el 14% de fuentes alimenticias provenían de animales silvestres, sugiriendo: i) incursión de animales silvestres al hábitat humano ii) movimiento de triatominos silvestres hacia el hábitat humano. Estos resultados muestran que las poblaciones silvestres de *T. infestans* constituyen un riesgo para la salud humana debido a la interacción entre los ciclos silvestre y doméstico de *T. cruzi*.

S.1-3

Molecular epidemiology of *Trypanosoma cruzi* and its vectors in Ecuador

Sofía Ocaña-Mayorga¹, Anita G. Villacís¹, Martin S. Llewellyn², Paula Marcet³, Jaime A. Costales¹, Michael A. Miles², Ellen Dotson³, Mario J. Grijalva^{1,4}

1. Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador; 2. London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom; 3. Centers for Disease Control and Prevention, Division of Parasitic Diseases and Malaria, Entomology Branch, 1600 Clifton Rd, Atlanta, GA, USA; 4. Tropical Disease Institute, Ohio University, Athens, Ohio, United States of America

Chagas disease is caused by *Trypanosoma cruzi*, whose major transmission route is the activity of blood-feeding triatomine insects. Human infection depends of complex transmission cycles where the parasite, different species of vectors and reservoirs play key roles. Understanding these cycles is essential for the design of adequate control measures. Our studies have been centered in Manabí and Loja provinces, in Ecuador, areas traditionally known as endemic for Chagas disease. Genetic analysis 81 parasite isolates from domiciliary, peridomestic, and sylvatic triatomines and mammals show that two discrete parasite populations exist in Loja: one predominantly composed of isolates from domestic and peridomestic foci, and another predominantly composed of isolates from sylvatic foci. Spatial genetic variation was absent from the former, suggesting rapid parasite dispersal across our study area. In terms of the genetic structure of *Rhodnius ecuadoriensis* (the most important vector of Chagas disease in Ecuador), we have found evidence to support disruptive selection, probably due to geographic isolation, between the Loja and Manabí populations of these species through analysis of the mitochondrial cytochrome b gene. Additionally, analysis of the cytochrome B and ITS-2 genes from *Panstrongylus howardi* (*Ph*), *P. chinai* (*Pc*) and *P. rufotuberculatus* (*Pr*) indicate that *Ph* and *Pc* constitute two recently diverged evolutionary units and possible introgression events and that *Pr* might hybridize with the other two species. Molecular epidemiology data inform about the transmission cycles of *T. cruzi* and the population dynamics of its vectors and will allow for design of more efficient Chagas disease control measures.

S.1-4**The molecular epidemiology of Chagas disease in the Gran Chaco Americano: genetic markers for *Trypanosoma cruzi* typing**

Patricio Diosque

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) – Universidad Nacional de Salta, Argentina

The Gran Chaco Americano is an ecoregion that extends over Argentina, Paraguay and Bolivia, in which the elimination of *Triatoma infestans*, and consequently the interruption of vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi*, has failed. Five of the six main DTUs (Discrete Typing Units) of *T. cruzi* have been reported in the region, and great genotype diversity has been described in some DTUs. The dynamic of transmission of the different DTUs and genotypes of *T. cruzi* is very complex, involving in some cases the interaction of wild and domestic cycles. In this framework, the diversity of *T. cruzi* represents an important epidemiological factor, and consequently the molecular tools for studying this diversity and the capability for identifying the genotypes involved in the different transmission scenarios become relevant. We present results of molecular typing of *T. cruzi* isolates and clones from the Chaco region in Argentina, obtained from MLST (Multilocus Sequence Typing), MLMT (Multilocus Microsatellite Typing) and SL-IR (Spliced leader intergenic region). We also discuss the utility of these approaches for the molecular epidemiology of Chagas disease in the Gran Chaco Americano.

Simposio 2
Enfermedades Transmisibles

Resúmenes

Symposium 2
Transmissible Diseases

Abstracts

S.2-1

***Trypanosoma cruzi* I transmitido por *Rhodnius stali* en un foco emergente del trópico de La Paz**

Eddy Martínez¹, Pamela Durán², Ronald López², Tamara Chávez², Claudia Aliaga², Frédéric Lardeux^{2,3}, Stéphanie Depickère^{2,3}. duran_pame@yahoo.es

1. Unidad de Parasitología, Medicina Tropical y Medio Ambiente, Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD); Cátedra de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), La Paz, Bolivia; 2. Laboratorio de Entomología Médica, Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), La Paz, Bolivia; 3. Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France. duran_pame@yahoo.es

Ante las evidencias de domiciliación de *Rhodnius stali* y la identificación del primer caso autóctono de Chagas agudo en el Municipio tropical de Alto Beni, zona libre de *Triatoma infestans* en la Provincia Sud Yungas de La Paz, Bolivia, se realizó un estudio de campo entre octubre y diciembre 2006. Se exploró buscando triatomíneos en el intradomicilio y el peridomicilio de 544 viviendas en 41 comunidades seleccionadas aleatoriamente y se realizó serología para Chagas a 2002 habitantes (Chagas Stat-Pak™, ELISA y ELISA recombinante). Se capturaron 295 ninfas y adultos de *R. stali* (94% de capturas), adultos de *Microtriatoma trinidadensis* (12), *Panstrongylus geniculatus* (5) y *Eratyrus mucronatus* (2). Se encontró *R. stali* en el 63% de las comunidades visitadas: índice de infestación de 54,2%; infestación intradomiciliaria 50%; el 82,7% de los especímenes fueron capturados en el peridomicilio. Mediante microscopía, se identificó infección por *Trypanosoma cruzi* en el tubo digestivo de 9 (5,8%) de los insectos estudiados. La seropositividad para Chagas en la población fue de 3% (60 casos), de los cuales 17 nunca salieron del Municipio y la madre fue seronegativa para 9 de ellos. Mediante Miniexon multiplex PCR, todos los insectos infectados analizados (7/7) y una de 7 muestras de sangre humana mostraron una banda de 200pb correspondiente a *T. cruzi* I, en un insecto se identificó co-infección con *T. cruzi* II. Se confirma así el proceso de domiciliación y el papel como vector de *R. stali* en el primer foco emergente de enfermedad de Chagas en el trópico boliviano.

S.2-2

Epidemiología molecular, virus de fiebre amarilla en Bolivia

1999-2008

Norma Janeth Velasquez Goitia, Alberto Gianella, Xavier de Lamballerie

Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (CENETROP)

La Fiebre Amarilla, es un serio problema de salud pública en Bolivia desde el siglo XIX. A pesar de los frecuentes brotes selváticos de la enfermedad y dos brotes urbanos confirmados, existe muy poca información disponible en la actualidad sobre las características genéticas y epidemiológicas de las cepas Bolivianas del virus de la fiebre amarilla.

En este estudio hemos realizado la caracterización genética de doce aislamientos humanos del virus de la fiebre amarilla que fueron recolectados entre 1999 y 2008, mediante un análisis molecular de dos regiones del genoma viral: 1) Un fragmento de las proteínas estructurales "PrM" (pre-membrana y envoltura) y 2) El análisis de la región distal "EMF".

El estudio reveló una alta diversidad genética de las cepas del virus de la fiebre amarilla circulando en Bolivia durante la última década. Hemos identificado no solo el genotipo II similar al genotipo Peruano (relacionado con caracterizaciones previas de cepas Bolivianas), pero también, por primera vez se ha identificado el genotipo I similar al genotipo Brasileño. Durante el periodo de estudio solo se observaron casos selváticos de la enfermedad. Sin embargo, la masiva infestación de las áreas urbanas por el mosquito *A. aegypti* pone en riesgo la aparición de casos urbanos de la enfermedad y por ello se debe insistir en una vigilancia epidemiológica sostenida y efectiva.

S.2-3

Descripción del brote de dengue en el Departamento de Cochabamba 2009

Efraín Vallejo Castro¹, Roberto Agudo Claire¹, Arturo Quiñones López¹, Alfredo Aramayo Álvarez², Fernando Magalhaes Coutinho³

1. Servicio Departamental de Salud Cochabamba. SEDES; 2. Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud. Universidad Privada del Valle; 3. Universidad Privada del Valle

La enfermedad del Dengue, en el área endémica del trópico de Cochabamba y el subtropical del Municipio de Omereque, ha puesto en evidencia las dificultades en su prevención. Esta es una enfermedad que -en su forma hemorrágica- puede llevar a la muerte. Se ha realizado la caracterización de la enfermedad del Dengue en las áreas geográficas mencionadas, con el objetivo de cuantificar la magnitud del brote epidémico del Dengue el cual, en el último quinquenio, se ha expandido a otras áreas geográficas del departamento como también a nivel mundial, por la expansibilidad del *Aedes aegypti*, que es el factor de riesgo importante.

Como método, se aplicó la revisión de todos los casos sospechosos de Dengue registrados en una ficha epidemiológica; totalizan 1859, de enero a abril 2009. Los datos fueron registrados en el paquete Excel 2000 e importados al paquete SPSS versión 15, mediante el cual se procesaron. Los resultados encontrados fueron: Los grupos de edad más afectados son: de 21 a 59 años (61,4%) y de 10 a 20 años (25,4%), sumando ambos grupos de edad se tiene el 86,8%. Respecto al sexo, se encontró que entre el sexo masculino y el femenino existe poca diferencia. En cuanto al lugar de infección de los enfermos corresponden: A la zona endémica de Cochabamba (65.8%) y al Departamento de Santa Cruz (27.8%); en tercer lugar, el resto de otros Departamentos endémicos del país. En relación a la sintomatología, se estableció el siguiente orden de frecuencia: Fiebre (95,8%), cefalea (94,1%), dolor osteomuscular (88,2%), dolor retro ocular (75,1%), erupción cutánea (18,5%), prurito (25,6%), variación en el gusto (54,1%), náuseas (61,4%), vómitos (32,5%), equimosis (8,2%), petequias (7,4%) y hemorragias (13.2%).

ARTICULO PUBLICADO EN LA REVISTA DE INVESTIGACIÓN E INFORMACION EN SALUD Nº 9 VOL 4 NOVIEMBRE 2009

S.2-4**Prevalencia y caracterización genotípica del virus del papiloma humano en mujeres de áreas urbanas y rurales de Cochabamba**

Patricia Rodríguez¹, Magali Sejas¹, Jaime Barriga², RosseMary Yañez¹, Claudio Villarroel³, Karina Ustariz¹, Shirley Rojas¹, Nancy Santander², Veronique Fontaine⁴

1. IIBISMED- Fac. de Medicina - Universidad Mayor de San Simón; 2. Hospital Materno Infantil Germán Urquidi; 3. Hospital Gastroenterológico Boliviano Japonés; 4. Universidad Libre de Bruselas.

Bolivia registra la tasa de incidencia más alta de casos de cáncer de cuello de útero en Latinoamérica. Este cáncer, está frecuentemente asociado a la infección con los Virus del Papiloma Humano (VPH), cuya transmisión es generalmente sexual. Los genotipos tipos mas frecuentemente detectados en mujeres con cáncer cervical y mujeres con diversos grados de lesiones e inclusive mujeres con citología normal, son principalmente los tipos VPH16 y 18; seguido de otros genotipos de alto riesgo que varían de acuerdo a la región y la edad. Esta investigación pretende determinar la prevalencia de la infección por VPH e identificar los genotipos mas frecuentes en mujeres del departamento de Cochabamba. Para ello, 198 muestras de cepillado cervical fueron tomadas de mujeres que asisten al Hospital Materno Infantil Germán Urquidi para su control ginecológico. Las muestras fueron conservadas en solución buffer y transportadas al laboratorio para la extracción de ADN y la posterior amplificación por PCR con cebadores de VPH universales. Todas las muestras positivas para VPH fueron analizadas por hibridación inversa con sondas de oligonucleótidos específicos con el objetivo de identificar los genotipos presentes. Nuestros resultados muestran que, aproximadamente 16% de las mujeres están infectadas con VPH de alto, mediano o bajo riesgo. 73% de ellas presentan infecciones múltiples, 47% tienen VPH 16 y/o 18, estando igualmente frecuentes los genotipos de alto riesgo HPV 52 y/o 31.

S.2-5

Estudio directo y molecular de la prevalencia actual de *Fasciola hepatica* y enteroparásitos en la población residente de El Alto, Huarina, Huatajata y Batallas 2011

José Santalla Vargas¹, Edy Espinoza¹

¹ Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Laboratorios en Salud, Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia.

La situación estadística y epidemiológica de la Fascioliasis en la región descrita no se encuentra actualizada por lo que este estudio pretende aclarar el panorama. En los últimos años se han realizado estudios y desparasitaciones encontrando escasos casos de fascioliasis, aunque los laboratorios regionales reportan algunos casos en humanos.

Según un estudio realizado por nuestro Laboratorio en el 2010 la prevalencia de *Fasciola hepatica* en diferentes especies de animales en el municipio de Batallas alcanza una frecuencia promedio de 35%, este dato nos hace pensar que la circulación de la *Fasciola hepatica* está vigente en esta región pudiendo significar un problema de salud pública para los habitantes de la región.

Se recolectó 700 muestras de heces frescas de niños en edad escolar a las cuales se les realizó la técnica de Kato Katz. A las muestras que resultaran positivas y un grupo al azar de negativas se les realizó la búsqueda de ADN mediante la técnica molecular de la PCR con la extracción por medio de columnas.

**Simposio 3
Chagas II**

Resúmenes

**Symposium 3
Chagas II**

Abstracts

S.3-1

Eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas en comunidades pobres de Bolivia

F. Lardeux^{1,2}, L. Zambrana³, C. Aliaga^{1,2}, R. Salas^{1,2}, G. Torrico², T. Chavez²

1. IRD, Instituto de Investigación para el Desarrollo, La Paz, Bolivia; 2. INLASA, Instituto Nacional de Laboratorios de Salud, La Paz, Bolivia; 3. Universidad René Gabriel Moreno, Santa Cruz, Bolivia

En el marco de un proyecto OMS «Eco-Bio-Social» sobre el control de la enfermedad de Chagas en Bolivia, un análisis preliminar situacional se llevó a cabo en cuatro comunidades, dos en la región del Chaco y dos en los valles inter andinos. Factores de riesgo de la presencia del vector *Triatoma infestans* en las casas están vinculados a la forma de vivir de los habitantes (tipo de vivienda, presencia de animales domésticos, limpieza, etc.) y a su baja percepción de los peligros asociados con la presencia de Triatomíneos. Animales domésticos (perros, cabras, cerdos incluido) muestran una baja prevalencia de infección y por lo tanto no son reservorios importantes para el parásito *T. cruzi*. Por el contrario, los niños (< 15 años), muestran una alta prevalencia de infección, que indica una transmisión de persona a persona activa. Durante la charla, serán discutidas las modalidades de transmisión del parásito combinando estudios sobre la infección de los vectores (prevalencia, DTU), el origen de sus comidas de sangre y su micro distribución geográfica. Factores de riesgo serán identificados y factores significativos de la capacidad vectorial serán discutidos en relación con posibles métodos de control vectorial.

S.3-2**Tipificación molecular de DTU's de *Trypanosoma cruzi* causante del primer brote reportado de transmisión oral de la enfermedad de chagas en la Amazonía Boliviana**

José Santalla Vargas¹, Patricia Oporto¹, Edy Espinoza¹, Tatiana Rios¹, Laurent Brutus², Lineth García³

1. Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Laboratorios en Salud, Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia; 2. Instituto de Investigaciones para el Desarrollo IRD,UMR216, Salud de la madre y el niño en medio tropical. Francia; 3. IIBISMED Universidad Mayor de San Simón-Cochabamba-Bolivia

El primer brote reportado de la enfermedad de chagas ocurrido en Bolivia se presentó en Octubre de 2010 en la región amazónica de Guayaramerin, Beni-Bolivia, se observaron 14 muestras de gota gruesa y frotis con presencia de formas flagelares compatibles morfológicamente con tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.

En el seguimiento epidemiológico se pudo determinar que todos los casos tuvieron como mecanismo de infección la vía oral a través del consumo de jugo a partir del fruto del árbol del majo característico de la Amazonía, región selvática, este proceso se evidencia porque el jugo fue el único elemento en común entre todos los casos. El seguimiento realizado a todos los casos pudo comprobar que al inicio de la infección presentaron alta parasitemia, fiebre >40°C, linfocitosis, eosinofilia, transaminasas elevadas correspondiendo a un perfil clínico característico de una infección aguda por *Trypanosoma cruzi*.

A partir de las primeras muestras se realizó también el aislamiento de los parásitos en cultivo in vitro a partir del cual se determinó por Biología Molecular (PCR).

La determinación por Biología molecular PCR determina presencia de DNA de *Trypanosoma cruzi* en 14 casos, con la tipificación molecular se identifica DTU's IV en las muestras del brote en la amazonía boliviana. Hasta la fecha no se había reportado este tipo de DTU presente en humanos en la región amazónica de Bolivia.

S.3-3

Análisis de cepas de *Trypanosoma cruzi* de Chile y tripanosomas circulando en murciélagos Bolivianos mediante secuenciación del gen citocromo b

Aldo Solari

Facultad de Medicina, Universidad de Chile

En este estudio se analiza mediante secuenciación el gen de citocromo b de 56 cepas de diversos hospederos de *Trypanosoma cruzi* de Chile y otros países limítrofes previamente caracterizados, y 18 cepas clonadas de tripanosomas circulantes en murciélagos de un área amazónica de Bolivia sin caracterización previa. Del análisis de secuencia comparando con cepas de diversas cepas de *T. cruzi* y tripanosomas circulantes en diversos hospederos incluyendo murciélagos de Brasil, se puede concluir que los *T. cruzi* presentes en Chile corresponden a los linajes de TcI, TcII, TcV y TcVI, sin embargo los dos últimos no pueden ser diferenciados por éste método. Dentro del linaje TcI existe cierta heterogeneidad, al comparar con cepas de *T. cruzi* circulantes en animales silvestres, lo mismo ocurre dentro de los linajes TcII. Los tripanosomas aislados de murciélagos corresponden a 10 *Trypanosoma cruzi marenkelei* y 8 *Trypanosoma dionisi*, el primero nativo de América y el segundo introducido desde Europa. La técnica de secuenciación del gen citocromo b resulta simple y útil por existir una gran cantidad de estudios previos, de modo que las secuencias están disponibles para caracterizar tripanosomas, sin embargo la técnica no es útil para distinguir dos linajes recientes en la historia natural del taxon cruzi como son TcV y TcVI.

Agradecimientos: proyecto Epi Net Comunidad Europea (FP7) Grant 223034.

S.3-4

Expresión proteica de *Trypanosoma cruzi*: un camino hacia la comprensión del dialogo molecular

Jenny Telleria y Michel Tibayrenc

Maladies Infectieuses et Vecteurs: Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle, MIVEGEC
Institut de Recherche pour le Développement « IRD »

Trypanosoma cruzi, agente causal de la enfermedad de Chagas presenta una gran variabilidad genética, (subdividida en seis "discrete typing units" o DTUs), esta variabilidad esta asociada a las propiedades biológicas y biomédicas del parasito, a la patogénesis y en consecuencia, probablemente, a las diferentes manifestaciones y grados de severidad de la enfermedad.

A través de análisis proteomicos, nosotros, hemos estudiado la correlación existente entre la diversidad filogenética sub-especifica y la diversidad de caracteres proteomicos del parasito. Nuestros resultados nos han llevado a comprender, que la evolución de estos caracteres proteomicos no es independiente de los caracteres genéticos.

Por otro lado, en la naturaleza se ha demostrado que las infecciones mixtas son frecuentes, se ha encontrado en un mismo paciente diferentes genotipos, asi mismo en vectores y reservorios. Este tipo de comportamiento juega probablemente, un rol importante en la evolución de la enfermedad.

Todo proceso de reconocimiento esta dado por la expresión de moléculas que llevan información del interior de la célula a la superficie y viceversa, proceso realizado en ambos competidores Es asi que nosotros hemos estudiado las expresión diferencial entre genotipos de *T. cruzi* en mezclas experimentales y lo hemos evaluado en el transcurso del tiempo, con objeto de comprender el dialogo molecular entre genotipos diferentes. Nuestra perspectiva, es de abrir la posibilidad de nuevos blancos de terapia y de inmunidad asociadas a la diversidad filogenética de *T. cruzi*.

**Simposio 4
Parasitología**

Resúmenes

**Symposium 4
Parasitology**

Abstracts

S.4-1

Marcadores moleculares de resistencia a los antimaláricos en cepas de *Plasmodium falciparum* importadas de África

Pamela Durán¹, Gisely Hajar², Angela Guerra³, Eddy Martínez⁴

1. Instituto Nacional de Laboratorios (INLASA), Ministerio de Salud y Deportes, La Paz, Bolivia; 2. Instituto Nacional de Salud (INS), Ministerio de Salud, Lima, Perú; 3. Instituto Nacional de Salud (INS), Ministerio de Salud, Bogotá, Colombia; 4. Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD), Cátedra de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. duran_pame@yahoo.es

Durante el primer quinquenio del 2000, se detectaron infecciones importadas por *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium malariae* en voluntarios de las Fuerzas de Paz bolivianas a su retorno de Africa. El año 2005 en la ciudad de La Paz, Bolivia se presentó un brote de malaria por *Plasmodium falciparum* (12 casos importados) a su retorno de la República Democrática de Congo, de los cuales 5 fueron graves y uno fatal. Mediante PCR se investigaron mutaciones relacionadas a la resistencia a la pirimetamina en el gen *dhfr* en las posiciones 51(Asn a Ile), 59 (Cys a Arg), 108 (Ser a Asn/Thr) y 164 (Ile a Leu), en 3 cepas importadas (2 casos graves y 1 fatal) y en 2 muestras de Riberalta, Beni, Bolivia; Además, mediante secuenciación se analizó el gen *pfmdr1* codones C1034S y D1042N, en dos de las cepas de *P. falciparum* importadas de Africa (1 caso grave y 1 caso fatal) y en 7 cepas autóctonas de América Latina (1 de Bolivia, 2 de Colombia y 4 del Perú). Se identificaron mutaciones puntuales en el gen *dhfr* solamente en las cepas africanas. Asimismo, el gen *pfmdr1* mostró mutaciones en la posición 1042 (predictiva para la resistencia a la mefloquina) únicamente en las cepas importadas de África y no en las cepas de Latinoamérica. Se confirma así el riesgo permanente de importación de cepas de *P. falciparum* resistentes a los antimaláricos como la mefloquina y pone en evidencia la imperiosa necesidad de realizar una adecuada vigilancia para evitarlo.

S.4-2

Identificación molecular del genero *Leishmania* en zonas endémicas de Bolivia

Ana Lineth García, Rudy Parrado, Nair Montaña, Marycruz Torrico, José Santalla, M. Ana Montalvo and Richard Reithinger

1. IIBISMED, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia; 2. Instituto Nacional de Laboratorios INLASA, La Paz, Bolivia; 3. Instituto Pedro Kourí, La Habana Cuba. Departamento de Enfermedades Infecciosas y Tropicales; 4. Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres, Reino Unido; 5. La Universidad George Washington Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Washington, DC

Introducción. La leishmaniasis es un problema de salud pública importante en Bolivia. A pesar que el país reporta una alta tasa de conversión (más del 20%) de Leishmaniasis cutánea localizada (LCL) a lesiones mucosas (LM) y se conoce que la mayoría de los casos son causados por *L. (Viannia) braziliensis*; los datos de la distribución geográfica de las especies del genero *Leishmania* permanecen aún muy fragmentados. Debido a que diferentes especies de *Leishmania* originan distintas patologías, que requieren tratamiento específico, la identificación de las especies es altamente relevante para mejorar el pronóstico y realizar el tratamiento adecuado de los casos.

Métodos y materiales. Se utilizó como marcador molecular de tipificación la PCR-RFLP, *Hsp 70*. Se analizaron aislados provenientes de 156 pacientes con LCL y 44 pacientes con LM, que acudieron a diferentes centros de salud del país entre el 2005-2010. El origen de los pacientes corresponde a los seis departamentos en los cuales fueron reportados casos de Leishmaniasis.

Resultados y Conclusiones. La tipificación mediante el análisis de la PCR-RFLP de *Hsp70*, permitió identificar el 89% de los aislados como *L. (V.) braziliensis*, el 5% *L. (V.) lainsoni*, 4% *L. (Leishmania) amazonensis* y 2% *L. (V) guyanensis*. La mayoría de las zonas en las que se encuentran circulando las cuatro especies de *Leishmania*, están en la región centro y norte de Bolivia. Este mayor conocimiento de la distribución de *Leishmania* spp., causante de LCL y LM podría permitir una mejor evaluación clínica, manejo de casos así como también la prevención y el control de la enfermedad en Bolivia.

S.4-3

Patrones de transmisión de la leishmaniasis cutánea en el departamento de La Paz

Viterman Ali, Eddy Martínez

Cátedra de Parasitología, Instituto de Investigaciones en Salud y Desarrollo (IINSAD), Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. vit_med@hotmail.com

Se realizó una evaluación epidemiológica de las leishmaniasis en el Departamento de La Paz, mediante la recolección *in situ* de información disponible en las fichas epidemiológicas de pacientes atendidos durante la gestión 2008, en centros de salud de las zonas endémicas y en hospitales de referencia. La información obtenida sobre 751 casos de leishmaniasis (681 cutáneos y 70 mucosos), mostró que los municipios con alto riesgo de transmisión según tasas de incidencia por 10.000 habitantes, fueron Palos Blancos (150,9), Chulumani (150,0) e Irupana (110,0), correspondiendo el 10% de los casos a leishmaniasis mucosa. Tomando como base el sitio probable de infección y como variables relacionadas al patrón de transmisión, la edad, el sexo, el número de lesiones cutáneas y la localización de éstas, se identificó claramente un patrón de transmisión selvático en el Municipio de Palos Blancos, evidente por el predominio de pacientes adultos varones con lesiones únicas en extremidades; contrastando con un patrón de transmisión eminentemente doméstico en el Municipio de Chulumani, con pacientes de todas las edades, de ambos sexos y con frecuencia con varias lesiones, muchas de ellas localizadas en la cabeza. La transmisión en los otros Municipios mostró patrones intermedios. Nuestra información fue diferente a la del Sistema Nacional de Información de Salud (SNIS) del Ministerio de Salud y Deportes que la genera tomando como base el sitio de notificación, situación inadecuada para la vigilancia epidemiológica de las leishmaniasis

S.4-4**Efecto de las parasitosis intestinales sobre el metabolismo proteico en niños Bolivianos, residentes de gran altitud**

José Luis San Miguel¹, Jacques Berger², Hilde Spielvogel¹, Rudy Soria¹, Jean Coudert³ y Bernard Beaufrere⁴

1. Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo-Instituto Boliviano de Biología de Altura, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés; 2. Institut de Recherche pour le Développement, IRD, Laboratoire de Nutrition Tropicale, Montpellier, France ; 3 Physiologie et Médecine du Sport, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France ; 4. Laboratoire de Nutrition Humaine, Centre Hospitalier Universitaire et Laboratoire de Physiologie et Biologie du Sport, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France. Pr Bernard Beaufrère, senior author of the paper, passed away on August 10, 2002.

En Bolivia la prevalencia de parasitosis es elevada en niños de bajo nivel socioeconómico (NSE), asociada a subutilización de aminoácidos. **Objetivo:** Determinar el efecto de la parasitosis intestinal múltiple y giardiasis sobre la utilización de las proteínas en niños de NSE bajo, de 8 a 9 años de edad. Se obtuvo el consentimiento informado de los padres. Previos coproparasitológicos seriados, se eligió 2 grupos de 10 niños (G1= parasitosis múltiple, y G2= giardiasis + otros parásitos), sin malnutrición, con peso y talla normales (NCHS). Fueron excluidos 3 niños. Consumieron caseína intrínsecamente marcada con Leucina L-(1-¹³C), el aire espirado que contiene ¹³CO₂ fue analizado por Isotope Ratio Mass Spectrometer en Clermont-Ferrand, Francia. Cada grupo recibió tratamiento antiparasitario y se repitió la toma de caseína. La hemoglobina fue baja, leucocitos normales, con elevación de eosinófilos. La oxidación acumulada de leucina (¹³CO₂) a 360 min, (G1) fue 47% postingesta de caseína, y el 53% de Leucina ¹³C fue utilizada para síntesis proteica. Post-tratamiento el 52% fue recuperado, y el 48% de Leucina fue para síntesis proteica (p=0.07). En el G2, la oxidación acumulada de la leucina (¹³CO₂) fue 35% postingesta de caseína, y el 65% de Leucina ¹³C fue para síntesis proteica. Post-tratamiento, el 50% fue recuperado, y el 50% de Leucina fue para síntesis proteica (p=0.004).

Estos resultados muestran que la absorción y/o utilización de proteínas esta significativamente afectada por la *Giardia lamblia* y otros parásitos, estimándose que la síntesis proteica es para defender al organismo y no para favorecer el crecimiento y el desarrollo infantil.

S.4-5

Manejo de casos de Malaria en zona recolectora de Castaña (2010-2011)

López M, Marca C, Ortiz H, Guarachi C, Reyes J, Torrez M.

ADRA Riberalta, Beni, Bolivia

Introducción. En Bolivia la malaria constituye un problema de salud pública, representados por casos: *Plasmodium vivax* 85% y *Plasmodium falciparum* 15%.

Desde 2010, con apoyo del Fondo Mundial, la Agencia Adventista para el Desarrollo y Recursos Asistenciales (ADRA) viene implementando la extensión de servicios de diagnóstico, tratamiento y prevención a través de colaboradores voluntarios (CV) en zonas de recolección de Castaña, donde no existen servicios de salud.

Material y Métodos. Se analizan 10 municipios durante 2010 y 2011, abarcando 129 y 142 comunidades con 140 y 145 CV respectivamente, se brindó diagnóstico con pruebas rápidas, tratamiento según norma nacional y se distribuyó telas mosquiteras.

Resultados. En 2010 y 2011 se realizaron 3563 y 5827 pruebas rápidas, encontrándose 1031 y 902 positivos, correspondiendo a *P. vivax* 72% y 85% vs *P. falciparum* con 28% y 15% respectivamente.

Los tratamientos otorgados en 2010 y 2011, para *P. vivax* 99% y 98% y para *P. falciparum* 98% y 94% respectivamente. 18% y 17% de las personas recibieron tratamiento dentro las 48h.

Conclusiones. Entre 2010 y 2011, el uso de pruebas rápidas se incrementó casi un 40%.

Los casos de *P. vivax* pasaron de 742 a 770, aumentando un 4%, los de *P. falciparum* pasaron de 290 a 132, disminuyendo de forma notable un 54%.

El porcentaje de personas con tratamiento dentro de las 48h se mantiene, probablemente por problemas de percepción de la enfermedad y la accesibilidad a localidades.

Se debe fortalecer la cadena de suministros, adherencia, reforzamiento en terreno y bioseguridad.

**Simposio 5
Epidemiología Molecular**

Resúmenes

**Symposium 5
Molecular Epidemiology**

Abstracts

S.5-1**Evaluación de los efectos leishmanicida e inductor de la capacidad fagocítica y toxicidad aguda del ácido úsnico**

Luis Fernando Sosa Tordoya¹, Grace Ruiz Pinell², Juan Antonio Ávila Illanes², Elvira Navarro Guarachi², Claudia L. Riveros Gonzáles¹, Patricia Mollinedo Portugal³, José, L. Vila Castro³

1. Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones en Salud (SELADIS), Facultad de Ciencias, Farmacéuticas y Bioquímicas; 2. Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB), Facultad de Ciencias, Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA; 3. Instituto de Investigaciones en Productos Naturales (IIPN), Facultad de Ciencias Puras, UMSA, La Paz, Bolivia

El ácido úsnico es un metabolito secundario obtenido de un líquen, *Usnea sp.*, a quien en la medicina tradicional se le atribuye una variedad de usos como antibacteriano y antifúngico. Este estudio evalúa el efecto del ácido úsnico como leishmanicida, como modulador de la capacidad fagocítica de promastigotes de *Leishmania* y la toxicidad aguda *in vivo*. La actividad leishmanicida se evaluó *in vitro* mediante el método colorimétrico XTT, que mide la viabilidad celular, basado en la reducción de la sal de tetrazolium a una forma soluble en agua, formazan, con fenasina metosulfato (PMS) como acoplador de electrones, con lecturas a 492 nm de longitud de onda a las 4 horas de incubación, contra promastigotes de *L. amazonensis* (IFLA/BR/75/PH8), *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903), *L. donovani* (MHOM/74/PP75). La capacidad fagocítica de neutrófilos y monocitos de sangre periférica tratados con diferentes concentraciones de ácido úsnico, se evaluó al enfrentarlo con promastigotes de *Leishmania braziliensis* opsonizados y sin opsonizar. Por otra parte, se realizó un estudio de toxicidad aguda en ratones Swiss albinos hembras, mediante la determinación de la Dosis Letal Media (DL₅₀) a través del método matemático de Reed Muench y por el método gráfico de Probit. El ácido úsnico mostró ser más activo contra *L. braziliensis* CI₅₀ de 10,3 µg/mL que contra *L. amazonensis* y *L. donovani* CI₅₀ de 86,5 y 92,4 µg/mL respectivamente. Se usó anfotericina B como control positivo, CI₅₀ de 0,2 µg/mL. El ensayo de toxicidad aguda *in vivo* mostró un (DL₅₀) de 798,47 mg/kg y 776,25 mg/kg, empleando dosis de 2.000 mg/kg, 1.000 mg/kg, 775 mg/kg, 662 mg/kg, 550 mg/kg y 175 mg/kg administradas por vía orogástrica, realizándose observaciones durante 14 días con un p < 0,05. La evaluación del efecto sobre del ácido úsnico sobre el efecto de la capacidad fagocítica de monocitos y neutrófilos mostró que a concentraciones mayores a 15,6 µg/mL disminuye la capacidad fagocítica de las células evaluadas, a concentraciones menores o iguales a 15,6 µg/ml el porcentaje de parásitos fagocitados es similar al valor obtenido de las células fagocíticas sin estímulo previo.

Estos resultados aportan bases para proponer que el ácido úsnico tiene acción tóxica directa sobre el parásito *in vitro* y según el criterio de Williams sobre ensayos *in vivo* el ácido úsnico es considerado un producto ligeramente tóxico por lo cual se consideraría un producto potencial para el desarrollo de medicamento alternativo contra la leishmaniasis.

S.5-2**Validación de PCR en tiempo real multiplex con sondas TaqMan para detección de *Trypanosoma cruzi* en sangre periférica de pacientes con infección crónica**

Parrado R¹, Villarroel S¹, De la Barra A¹, Bisio MMC², Ramirez, JC², Alves F³, Torrico F¹, Ribeiro I³, Schijman AG², García AL¹

1. IBISMED Universidad Mayor San Simón, Cochabamba, Bolivia; 2. Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular – CONICET, Buenos Aires, Argentina; 3. Drug for Neglected Diseases Initiative (DNDi), Geneva, Switzerland.

La PCR en tiempo real (qPCR) para detectar *T. cruzi* abre perspectivas prometedoras como marcador indirecto de eficacia terapéutica de drogas tripanocidas^{2,3}. El desarrollo de un sistema de qPCR multiplex con sondas Taqman dirigidas a secuencias satélite y control interno de amplificación (IAC), ha permitido una mejor sensibilidad en el diagnóstico¹. El objetivo de este trabajo es validar dicho método. Se comparó el rendimiento de la extracción de ADN de sangre en buffer Guanidina 6M EDTA 0.2M (GEB) con 2 kits comerciales, obteniendo mejores resultados con 300uls GEB y columnas Roche. Se evaluó la precisión realizando 20 ensayos independientes según recomendaciones del "Clinical and Laboratory Standard Institute", EEUU, utilizando concentraciones cercanas al límite de detección de ADN purificado de CL-Brener y K98 (Tc I) (triplicados intra-ensayo), muestras de sangre artificiales inoculadas con CL-Brener y K98 y sangre de individuos con infección crónica (duplicados intra-ensayo). La precisión de la amplificación del IAC en 20 experimentos (14 repeticiones intra-ensayo) fue St: 0.49 (Ct(media±SD)= 20.31±0.68). Se inició la validación clínica del método, evaluando a doble ciego la concordancia de resultados en muestras de pacientes crónicos, procesadas en IIBISMED, Cochabamba (ciclador SLAN), e INGEBI, Buenos Aires (ciclador Rotor-Gene). En 27 de 90 muestras analizadas hasta agosto 2011, la concordancia fue 92.3%. La caracterización de esta qPCR permitió diseñar un procedimiento operativo estándar (POE) para evaluar eficacia de nuevas drogas tripanocidas.

¹Duffy Tomás, Tesis doctoral UBA, 2010; ²Piron y col, 2007, Acta Tropica; ³Duffy y col, 2009, PLoS NTD,

S.5-3

Desarrollo de un servicio comercial de diagnóstico molecular de enfermedades en pollos de granja (*Gallus gallus*)

Marisol Campero M.¹, Zulema Bustamante G.¹, Silene Veramendi T.², Jorge Rojas B.²

1. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia; 2. Laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática PROINPA, Cochabamba, Bolivia.

La producción de pollos de granja es una de las actividades más difundidas en el departamento de Cochabamba-Bolivia, donde los productores se encuentran permanentemente frente a grandes desafíos como la aparición de nuevas enfermedades como la micoplasmosis causada por *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*. La micoplasmosis causa grandes pérdidas económicas debido a que esta enfermedad se propaga muy rápido. Hoy en día el diagnóstico de estos patógenos se realiza por métodos serológicos, sin embargo, estas técnicas consumen mucho tiempo y a veces conducen a identificaciones erróneas. Las técnicas moleculares basadas en PCR en tiempo real son más ventajosas que las técnicas serológicas, ya que son rápidas, sensibles y específicas. Además pueden ser económicas en el análisis de diversos patógenos en un único ensayo (PCR multiplex). En este estudio se compararon los diferentes métodos para el diagnóstico molecular de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* a fin de establecer un servicio comercial. Para realizar este trabajo, se utilizaron muestras de hisopado traqueal, tomadas de las vías respiratorias. Se extrajo ADN por tres métodos (kit de extracción Mini Qiap ADN de la firma Qiagen, método de choque térmico y método convencional con buffer de lisis) y luego fueron analizados por un kit comercial (Isi TaqVet) y el uso de un kit de diagnóstico molecular desarrollado en este estudio. El método de extracción con un buffer de lisis, junto con el kit de diagnóstico molecular desarrollado en este estudio generó resultados óptimos es decir se demostró mejor especificidad, sensibilidad y bajo costo.

ARTÍCULO ORIGINAL, Publicado en: BIOFARBO, 19(1), Junio 2011, 34-43

S.5-4

Compared population genetics of pathogenic microorganisms (parasites, fungi, bacteria, viruses); epidemiological consequences

Michel Tibayrenc, MD, PhD

Infectious Diseases and Vectors, Ecology, Genetics, Evolution and Control
MIVEGEC/IDVEGEC (UM1-CNRS 5290-IRD 224)

IRD

Casilla 9214, 00095 La Paz, Bolivia

E-mail : Michel.Tibayrenc@ird.fr

Website : <http://www.mivegrec.ird.fr/>

In this talk, I will insist one more time on the urgency to disrupt the distressing separation between molecular epidemiology and evolutionary biology. I will show how much population genetics and phylogenetic analysis can confer a considerable added value to all attempts to characterize strains and species of pathogens. A population genetics approach gives a convenient framework to all studies dealing with the genetic diversity of pathogens, including molecular epidemiology, clinical studies, design of drug/vaccine/molecular diagnosis, and experimental evolution.

The problems dealing with the mere definition of basic concepts such as species, subspecies or strains will be briefly summarized. Lastly I will show the important contribution of molecular epidemiology to our knowledge on the basic biology of pathogens and will insist on the necessity not to separate the studies dealing with pathogens from those that concern the hosts, and the vectors in the case of vector-borne diseases.

The clonal model of evolution, which gives a convenient framework for this approach, will be exposed. Some telling examples will be taken in parasitic protozoa, viruses, bacteria and fungi, in order to underline the fact that these approaches are valuable, whatever be the pathogen considered.

**Simposio 6
Entomología**

Resúmenes

**Symposium 6
Entomology**

Abstracts

S.6-1

Bioecología y hábitat del *Aedes aegypti*

Richard Flores Montaña

U.A.G.R.M. Museo Historia Natural Noel Kempff Mercado

El dengue es una enfermedad infecciosa viral, causada por un virus que pertenece a la familia Flaviviridae, género *Flavivirus* presentando cuatro serotipos (*DEN-1*, *DEN-2*, *DEN-3* y *DEN-4*) todos capaces de causar el dengue hemorrágico y para su transmisión al hombre requiere de la picadura del mosquito hembra de algunas especies del Género *Aedes*. Los dos vectores más importantes en América son *Aedes*, (*Stegomyia*) *aegypti* y *Ae.* (*Stegomyia*) *albopictus*. En Bolivia, por el momento, el único vector capaz de transmitir el dengue es *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*.

La presente investigación se realizó en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra con el objetivo de observar la influencia de la ecología larval sobre los factores ligados a la supervivencia de los vectores potenciales del dengue en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, 2008, y así evaluar de manera indirecta las reservas energéticas con las que el mosquito adulto emerge de los diferentes tipos de criaderos, identificar los criaderos larvales que permiten producir los mejores vectores potenciales del dengue. Las metodologías usadas fueron las encuestas entomológicas por el tipo y clasificación de criaderos y la interrelación Bioecología que existía con el vector *Aedes aegypti*.

S.6-2**Caracterización morfológica y genética del vector de dengue en poblaciones de Bolivia**

Norman Valdez Zamorano

CENETROP (Centro Nacional de Enfermedades Tropicales), Santa Cruz, Bolivia

En la presente investigación se analiza al vector de Fiebre del Dengue con un objetivo principal de caracterizar morfológica y genéticamente a *Aedes aegypti* en regiones endémicas del territorio boliviano como son Yungas, Llanos Orientales y Chaco, con datos colectados desde diciembre 2005 a febrero 2008.

Los mosquitos fueron colectados mediante encuestas entomológicas. Para el análisis en laboratorio se les extrajo el ADN con el protocolo CTAB 10X para la extracción de ADN de mosquito entero y luego el ADN extraído fue sometido a proceso de PCR para la amplificación del ADN y genotipaje de 9 microsatélites, la secuenciación de dichos microsatélites fue realizada en Montpellier-Francia en el Laboratorio de LIN (Laboratorio de Insectos Nocivos), estas secuencias fueron analizadas con GENEPOP® 4, que es un programa genético-poblacional especializado.

Como resultado encontró poblaciones de *Ae. aegypti* genéticamente distintas pero morfológicamente similares, mostrando un débil flujo genético y una fuerte deriva genética con presencia de alelos privados más en aéreas urbanas que en rurales. Estos resultados se discuten sobre el por qué de estas deferencias, si estas poblaciones son resultado de una sola población infestante y reinfestante o si provienen de infestaciones de diferentes poblaciones de *Ae. aegypti*.

S.6-3

Transmisión Transovárica del virus del dengue en el vector

Aedes aegypti

Mirian Cruz Zambrana, Jimmy Revollo Guzmán, Gilbert Le Goff, Jean Pierre Hervé,
Mabel Guerra, Yelin Roca, Zaira Barja, Jorge Vargas

CENETROP (Centro Nacional de Enfermedades Tropicales), Santa Cruz, Bolivia

Se realizó un estudio para determinar la transmisión transovárica del virus del dengue en el vector *Aedes aegypti*. Los mosquitos para dicho estudio fueron colectados durante la epidemia de dengue de 2007 en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Se realizaron colectas en estado larvario, huevo y también adultos machos. Para detectar el virus en los mosquitos se realizó la técnica de RT-PCR.

De 100 pools de *Aedes aegypti* con un total de 1404 especímenes (656 machos, 748 hembras) procesados, 14 pools resultaron positivos (5=Dengue1 y 9=Dengue3).

De modo que cuando ocurre una epidemia de dengue en la población humana, los mosquitos en la naturaleza desempeñan un papel crucial en la conservación del virus.

S.6-4**Determinación de la diversidad del género *Culex* (Díptera, Culicidae) en Santa Cruz, Bolivia**

Giovani Mollos

CENETROP (Centro Nacional de Enfermedades Tropicales), Santa Cruz, Bolivia

La diversidad de Vectores en Bolivia no es conocida en su totalidad. La investigación tiene por objetivo determinar la variedad o diversidad taxonómica del Género *Cúlex* en la fase larvaria y adulta, presentes en sectores estratégicos que contengan agua contaminada en: Viviendas (Intradomiciliares y Peridomiciliares) así como canales de drenaje, charcos, lagunas temporales y permanentes, de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra. Se está determinando el índice de infestación al cual está expuesto la población cruceña por estos culícidos, que no solamente son mosquitos molestos que irritan al hombre, ya que estudios realizados en países vecinos han demostrado que son vectores de enfermedades como ser, tal el caso del *Culex quinquefasciatus* considerado como el principal vector del virus del Oeste del (Fiebre) Nilo, etc. La investigación aplica el método del Calador (300 ml) que permite identificar universos de muestreo de manera rápida y práctica, realizándose según las normas internacionales de la OMS/OPS. Se formaron cuadrantes en todas las unidades vecinales comprendidos en la zona de estudio en orientación a los puntos cardinales.

Al momento ya se tiene datos de las provincias de Guarayos y Ñuflo de Chávez con un 45% y 35% de Infestación. En el Distrito No 6 se tiene una Infestación del 35%; En el Distrito no 5 se tiene una Infestación del 29% y en el Distrito No 12 con el 47%

Todo el trabajo realizado es para realizar una Zonificación de los Porcentajes de Infestación y una comparación con la presencia de *Aedes* y *Anopheles* y además para futuros trabajos de investigación y de campañas de prevención en CENETROP relacionadas a la Salud pública en general.

S.6-5

Estrategias de vigilancia vectorial

Román Callata Peñarrieta

Departamento de Epidemiología, CENETROP (Centro Nacional de Enfermedades Tropicales),
Santa Cruz, Bolivia

La vigilancia entomológica nos permite Monitorear, analizar e interpretar datos sobre las encuestas y nos permiten, conocer las especies presentes más predominantes en sus variaciones estacionales y prioriza actividades de control y es por ello necesario, estratificar áreas de riesgo entomológico para ello se usa el método LIRAA Modificado, e identifica los Índices de Infestación de Vivienda (IIV), Índice de infestación de Recipientes (IIR), Breteau (IB) e Índice Pupal (I.P.) en los distritos urbanos y periurbanos e indica los Índices de Infestación de Vivienda (I.I.V.) por Unidades Vecinales (UV) y Identifica los tipos de recipientes intra y peri domiciliarios que son criaderos potenciales de *Aedes aegypti* e correlaciona la incidencia de los casos de Dengue en la ciudad. Este método de mayor precisión muestral, fue diseñado por el Ministerio de Salud de Brasil y aprobado por O.P.S., Método el cual se adaptó al Dpto. de Santa Cruz, cuyo control de calidad de las muestras colectadas, es analizado por técnicos del Laboratorio de Entomología del CENETROP. Para luego después determinar los resultados siguientes que son los indicadores entomológicos, Una vez obtenido los indicadores entomológicos, estos se comparan con los «Criterios Operativos de Control Larvario» que se establecen en la Norma Oficial Mexicana NOMSSA2- 2002 para la Vigilancia Epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector con la finalidad de estimar el riesgo de transmisión de Dengue en el que se encuentra la ciudad, estos índices nos indican la situación actual en la que se encuentran los diferentes distritos de la ciudad, datos que determinan las medidas de acción (control físico, químico y biológico), más adecuadas para la eliminación del vector causante del Dengue.

Posters

Resúmenes

Poster

Abstracts

Po. 1

Análisis de las conductas en el uso adecuado del Mosquitero Tratado con Insecticida (MTI) en la población zafrera de Riberalta

J. Abalos, H. Ortiz

ADRA, Riberalta, Beni, Bolivia

Objetivo : *Identificar las conductas de la población zafrera de Riberalta con respecto al uso del Mosquitero Tratado con Insecticida (MTI) para el control, prevención de la Malaria, a fin de reducir la brecha entre conocimiento y práctica.*

Problema: La Malaria es un problema de salud pública que afecta Riberalta, pero factible de ser controlada con medidas simples y sostenidas. Todo plan de acción destinado a luchar contra la Malaria debe contar con una estrategia de comunicación dirigida a consolidar las conductas de uso del MTI. ADRA a través del PNUD ha dotado de MTI a la población en riesgo para prevenir la Malaria.

Metodología

Para conocer la conducta de la población, se ha desarrollado una encuesta CAP (2010) basado en entrevistas, grupos focales, etc. (sobre el uso y la tenencia de MTI)

Para impactar en las conductas se aplicó la metodología: "COMBI" que representa una unión nítida de mercadeo, educación, comunicación, promoción y enfoques de movilización.

Resultados y Conclusiones

El motivo por el que las personas usan el mosquitero es porque: "Se duerme mejor" y "No me pican los bichos". Distribución gratuita de mosquiteros tratados con insecticida MTI facilita el acceso económico y geográfico de la población castañera. El mosquitero común o ropaje es preferido entre la población pues tiene los "huecos" pequeños. Una parte de la población zafrera, no se encuentra con buena predisposición para el uso del MTI a repartirse, ya que no conoce los beneficios de "repelencia" hacia todos los tipos del mosquito. Este hecho se evidencia al constatar que los testimonios indican los "huecos" son grandes y permiten pasar otro tipo de mosquitos más comunes en la zona.

Po. 2

Características Bio-Ecológicas de *Triatoma infestans*

M. Bustamante¹⁻²; J. Espinoza¹; O. Tenorio¹; H. Calle²; L. García¹

IIBISMED, IRD, Cochabamba, Bolivia

Triatoma infestans (Reduviidae, Triatominae) es el principal vector de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae), agente causal de la enfermedad de Chagas en los países del Cono sur en América Latina.

Esta especie es caracterizado por su elevado grado de adaptación a la vivienda humana, ha sido considerada exclusivamente doméstica es decir que solo se encontraba en ambientes asociados al hombre. Sin embargo se ha demostrado la existencia de poblaciones silvestres de *T. infestans* en Valles interandinos, en el Chaco Boliviano y en algunas localidades de países vecinos (Argentina, Brasil, Perú y Chile).

T. infestans presenta una gran variabilidad genética y se cree que el centro de origen de especies son los valles interandinos de Bolivia (Cochabamba, Chuquisaca), ya que más de una quincena de focos silvestres han sido descubiertos en diferentes departamentos de Bolivia, además de que individuos de la misma especie presentan diferencias cromáticas y diferentes características bioecológicas. Por lo cual el presente trabajo tiene como objetivo describir y diferenciar las características bioecológicas de *T. infestans* doméstico y silvestre en Bolivia, basado en observaciones realizadas por nuestro equipo de trabajo así como también respaldos bibliográficos.

CE. Proy. «EPINET - Chagas » y el Institut de Recherche Pour le Développement (IRD) en Bolivia

Po. 3

Estatus inmunológico en pacientes con leishmaniasis cutánea con falla Terapéutica

Flores León Amilcar Alejandro¹, Rojas Cabrera Ernesto¹, Córdova Rojas Marisol¹, Mary Cruz Torrico¹ & Paz David²

1. Universidad Mayor de San Simón, Fac. Medicina, LABIMED IIBISMED; 2. Hospital dermatológico de Jorochito

Planteamiento del problema: En la actualidad poco se a descrito sobre los aspectos inmunológicos de pacientes con leishmaniasis con falla terapéutica, frente a medicamentos de primera y segunda línea. La propuesta del presente estudio fue evaluar y comparar el estatus inmunológico de pacientes con falla terapéutica (**RESISTENTES**) y pacientes tratados que respondieron al tratamiento de forma exitosa (**SENSIBLES**) grupo control.

Metodología: Pacientes con leishmaniasis cutánea que viven en áreas endémicas para *Leishmania sp*, fueron clasificados en dos grupos: Resistentes y Sensibles. Parámetros para la medición de la respuesta inmunológica fueron: Linfocitos T CD4+, CD8+, producción de INF- γ e IL-13, como marcadores de respuesta Th1 y Th2 respectivamente, producidas por células mononucleares de sangre periférica (PBMC) estimuladas con antígeno soluble de leishmania.

Resultados: Linfocitos T CD4+ y CD8+ estaban por debajo de los valores normales en ambos grupos. Los niveles de producción de INF- γ fue mayor que IL-13, siendo más pronunciada en pacientes **Resistentes** que **Sensibles**, en respuesta al Ag de leishmania. La tipificación de cepas aisladas de pacientes Resistentes identificó a *leishmania brasiliensis* y *leishmania guayanensis*.

Conclusiones: Estos resultados muestran que: i) La respuesta específica inmune de pacientes Resistentes esta polarizada hacia TH1 ii) Valores de linfocitos CD4+, CD8+ indican una inmunodeficiencia en ambos grupos de estudio. iii) Estudios de Biología Molecular, demostró una predominancia de *leishmania brasiliensis*. iv) El estatus inmunológico de pacientes Resistentes y Sensibles no explica en su totalidad del porque ocurrió la falla terapéutica, hipotéticamente se estaría pensando en factores relacionados al parásito (genes de resistencia).

Po. 4**Primera evidencia de resistencia de *Plasmodium vivax* a la Cloroquina en la zona amazónica de Bolivia**

Eddy Martínez¹, Armando Achocalla², Juan Carlos Avila³, Abrahán Matías⁴, René Mollinedo⁵, José Pablo Escobar⁶, Pamela Durán⁷, Gladis Nakao², Francisco Ramos², Gloria Melgar², Norma Padilla⁸

1. Unidad de Parasitología, Medicina Tropical y Medio Ambiente, Instituto de Investigación en Salud y Desarrollo (IINSAD); Cátedra de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia; 2. Programa Regional de Malaria, Riberalta, Beni, Bolivia; 3. Programa Regional de Malaria, Guayaramerín, Beni, Bolivia; 4. Profesional independiente; 5. Servicio Departamental de Salud de Salud de Oruro (SEDES Oruro), Bolivia; 6. Consultor Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS); 7. Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), La Paz, Bolivia; 8. Medical Entomology Research and Training Unit /Guatemala (MERTU/G), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Centro de Estudios en Salud (CES), Universidad del Valle, Guatemala, Guatemala.

RESUMEN

Siguiendo la metodología estandarizada de OPS/OMS, se realizó un estudio *in vivo* de la eficacia de la cloroquina para el tratamiento de la malaria no complicada por *Plasmodium vivax*, en el sitio centinela de Riberalta, Beni (región amazónica de Bolivia). Se incluyeron 63 pacientes, todos recibieron tratamiento estrictamente supervisado a base de cloroquina 25 mg base por kg (en 3 días). Se realizó evaluación clínica y control de la parasitemia durante 28 días, concluyendo el seguimiento 58 pacientes. Mediante microscopía, en 15,5% de los casos se detectó parasitemia recurrente (1 paciente el día 21 y 8 pacientes el día 28). En 4 de estos casos se evidenció mediante PCR (marcador MSP1), que las cepas recurrentes de *P. vivax* eran las mismas que las del día 0. Los pacientes recibieron un segundo tratamiento en base a cloroquina (misma dosis), en todos los casos desapareció la parasitemia, pero un paciente presentó una segunda recurrencia el día 28, por lo que se le administró terapia combinada en base a mefloquina y artesunato presentando cura clínica y parasitológica. Basados en estos resultados, el Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia, mantiene el uso de la cloroquina más primaquina para el tratamiento de las infecciones por *P. vivax*. Sin embargo, considerando la posibilidad de cloroquino-resistencia, fue incluida en la política de medicamentos, como segunda línea, la terapia combinada con mefloquina y artesunato, complementada con primaquina. Son necesarios estudios futuros para definir la probable cloroquino-resistencia de *P. vivax* en la Amazonia boliviana.

Po. 5

Tipificación molecular y caracterización morfológica de especies de *Leishmania* circulantes en el departamento de La Paz 2009-2011

José Santalla Vargas¹, Patricia Oporto¹, Edy Espinoza¹, Alberto Jimenez², Lineth García³

1. Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Laboratorios en Salud, Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia; 1. Instituto de Investigaciones Farmaco-Bioquímicas, Facultad de Bioquímica y Farmacia, UMSA- La Paz-Bolivia ; 3. IIBISMED Universidad Mayor de San Simón-Cochabamba-Bolivia

La estructura poblacional de *Leishmania* es compleja, porque muchas especies presentan una limitada variabilidad genética. Por otro lado, la toma de muestras a partir de pacientes y/o vectores puede corresponder a una mezcla de diferentes genotipos. Se ha reportado la presencia de diferentes parásitos con morfología heterogénea dentro de un insecto, en consecuencia dada la infección original del vector al huésped existiría la inoculación de distintos tipos de parásitos, en proporciones diferentes y con características propias de estos.

En el presente trabajo se realizó el aislamiento del parásito a partir de aspirado de lesión cutánea o mucocutánea, posteriormente se cultivo la muestra en medio NNN.

A partir de este cultivo se realizó la identificación molecular mediante la extracción del DNA por método de columnas y luego se realiza una PCR-RFLP.

En la toma de muestra también se realizó un frotis o extendido para posteriormente de la tinción con Giemsa revisar la morfología parasitaria.

Por técnica molecular (PCR) y por comparación morfológica se puede determinar que la mayor cantidad de casos son producidos por *Leishmania braziliensis*, no obstante se observa una ampliación del área geográfica de *Leishmania amazonensis*, es decir que se encuentra en varias regiones del departamento de La Paz.

Lo que llama la atención es la aparición en nuestros resultados de la variedad parasitaria *L. lainsoni*. Según lo observado y de acuerdo con la literatura y con nuestras observaciones en 90 muestras de frotis y cultivo, el diámetro de amastigotes de *L. amazonensis* es mayor al diámetro de amastigotes de *L. braziliensis* casi en el doble, se puede inferir en un 90% de los casos que por encima de 2.5um corresponde a *L. amazonensis* y por debajo de 2.5um corresponde a *L. braziliensis*.

La concordancia entre la tipificación molecular y la morfología parasitaria alcanzó un 90% de los casos observados lo que puede representar una importante herramienta de diagnóstico directo.

Po. 6

Manipulación genética de los mosquitos para el control de la malaria

Andrzej Szwagrak

Universidad Tecnológica Boliviana, Departamento de Investigaciones

El paludismo ha acompañado a la humanidad desde el origen del *Homo sapiens*.

La causa de la malaria (parásitos *Plasmodium*) y el mecanismo de transmisión por los mosquitos, fueron descubiertos a finales del siglo XIX, seguido por el desarrollo del arsenal de la lucha contra el paludismo: los métodos de protección personal, los avances en el descubrimiento de la terapéutica y medicamentos profilácticos, y los métodos de control de vectores contra larvas, criaderos y mosquitos adultos. A pesar de los esfuerzos, el paludismo mata a más de 1 millón de personas cada año. En todo el mundo, la malaria es la enfermedad infecciosa más prevalente que afecta a los humanos. En estas condiciones se intensifica la búsqueda de nuevos métodos de control del viejo mal.

Cierta esperanza ofrece la vacuna RTS,S de la empresa GSK (y la organización PATH Malaria Vaccine Initiative), con 47% de efectividad. Existen además por mínimo dos métodos experimentales:

1. Lograr la variedad resistente al contagio con plasmodium y
2. Esterilización genética.

Ambas técnicas radican en la manipulación genética de una cantidad de insectos criados en laboratorio, que deberían reemplazar o reducir las poblaciones silvestres en la naturaleza.

Existen serias dudas sobre la efectividad, seguridad y economía de estos métodos.

Po. 7

The Predominant Native American Nature of Bolivians as Revealed by the Analysis of the mtDNA Genome

Patricia Taboada-Echalar^{1#}, Alberto Gómez-Carballa¹, Vanesa Álvarez-Iglesias¹, Ana Pastoriza¹, Antonio Torres-Balanza², Omar Rocabado², Carlos Vullo^{3,4}, Antonio Salas^{1#}

1. Unidade de Xenética, Instituto de Medicina Legal and Departamento de Anatomía Patolóxica e Ciencias Forenses, Facultade de Medicina, Universidade de Santiago de Compostela, CIBERER, Galicia, Spain.
2. Instituto de Investigaciones Forenses, Fiscalía General del Estado Plurinacional de Bolivia, La Paz, Bolivia.
3. Equipo de Argentina de Antropología Forense, Independencia 644 – 5C, Edif. EME1, Córdoba, Argentina.
4. Laboratorio de Inmunogenética y Diagnóstico Molecular, Independencia 644 – 4, Edif. EME1, Córdoba, Argentina.

#Authors contributed equally to this work. *Corresponding author: antonio.salas@usc.es

Study of the variation patterns of the mitochondrial DNA (mtDNA) molecule has been very useful to unravel the history of Native and urban/rural admixed American populations. We have sampled several regions in Bolivia, that together with available data, represents the largest study carry out to date in this region ($n=1127$). We focused specifically in metropolitan areas, including the departments of Pando, Beni (including the locality of San Ignacio de Moxos), Santa Cruz, Cochabamba and La Paz (including the Yungas and Copacabana regions), and Chuquisaca. Data was compared with a large database of American profiles including >16,000 control region profiles. As inferred from the data, the great majority of the Bolivian mtDNAs belong to one of the main Native American haplogroups, with little presence of sub-Saharan and/or European lineages. The exception is the province of Tocaña, the only region in Bolivia that is of main sub-Saharan ancestry, according to documentation and cultural legacy. Far to be homogeneous, the populations of Bolivia show significant differences with respect to the distribution of the main Native American haplogroups, signaling the severe impact of genetic drift in the country. The sharpest difference was found between the Llanos and the Andean and Sub-Andean regions, pointing to different demographic past histories in the country.

Po. 8***Dalbulus maidis* De Long & Wolcott (Homoptera: Cicadellidae)
vector del virus del rayado fino del maíz**

Yuri Alex Zurita Valdivia

Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras

En los últimos años la incidencia de la virosis y de los micoplasmas en los cultivos de maíz han mostrado grandes pérdidas en la producción y rendimientos. Nault & Knoke (1981) citan como principales vectores en el maíz, a las cigarritas de los géneros *Dalbulus*, *Graminella*, *Euscelidus*, *Stirellus*, *Exitianus*, *Baldulus* y *Peregrinus*: 22 especies de pulgones con énfasis en *Rhopalosiphum maidis* y *Schizaphis graminum*. Los huevos de *D. maidis* pueden ser depositados en pares o en grupos de cinco a seis en la superficie superior de las hojas tiernas debajo de la epidermis, succionando la savia cuando emergen y difícilmente abandonan la planta por lo que se observan las exubias de sus cambios de intar completando cinco intares. Algunos aspectos de la biología de la cigarrita del maíz, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott), fueron estudiados en híbridos de maíz como vectores de virus del rayado fino y los micoplasmas y espiroplasmas. El experimento fue realizado en invernadero a $26,0 \pm 4,9^{\circ}\text{C}$ e $78,8 \pm 6,8\%$ de HR. Utilizando micro jaulas, donde 10 ninfas por híbrido fueron observados diariamente, anotándose el número de instares y periodos de desarrollo mostrando que el híbrido Pioneer 3027 fue el único que prolongo la vida del adulto en tres días y ninguno de los híbridos mostro diferencias en el desarrollo de las ninfas (I-V), así mismo se observó que cigarritas que fueron alimentadas en plantas con síntomas del virus se contaminaron y transmitieron a las plantas de maíz sanas.

Lista de participantes

Lista de participantes

NOMBRE	E-mail	INSTITUCION	CIUDAD
Abalos Jhannet	JAbalos@adra.org.bo	ADRA, Riberalta	Beni, Bolivia
Alí Espinoza Viterman	vit_med@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Aliaga Poma Claudia	aliagaclau@hotmail.com	INLASA/IRD	La Paz, Bolivia
Angulo Valdivia Cecilia	cecy_angulo@yahoo.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Antezana Rodriguez Vivian	vivi_ante@hotmail.com	CENETROP	Santa Cruz, Bolivia
Aramayo Alfredo	aaramayoa@univalle.edu	U. del Valle, Hospital Univalle	Cochabamba, Bolivia
Aranivar Sarmiento Alejandra	aleara20@hotmail.es	UMSA	La Paz, Bolivia
Arevalo Jorge	biomoljazz@gmail.com	Inst. Alexander Von Humbolt	Lima, Perú
Aulicino Paula	pauauli@gmail.com	CONECIT	Buenos Aires, Argentina
Ávila Illanes Juan Antonio	juan_antonio_avila@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Aviles Moncada Amaya Lorena		UMSA	La Paz, Bolivia
Azuga Torrez Camilo Fernando	f_camilo_6@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Bargues María Dolores	M.D.Bargues@uv.es	Universidad de Valencia	Valencia, España
Barnabé Christian	cristian@barnabe@ird.fr	IRD	La Paz, Bolivia
Benítez Reyes Armando Alberto	albertobenitez.reyes@gmail.com	IGBJ	La Paz, Bolivia
Bernal Quispe Cynthia Marlene	Lency1587@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Bravo Romero Daniela Alejandra	danita_a_b@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Brito Cristina	cristiana@cpqrr.fiocruz.br	FIOCRUZ	Belo Horizonte, Brasil
Brenière Simone Frédérique	frederique.breniere@ird.fr	INLASA-IRD La Paz	La Paz, Bolivia
Buitrago Rosio	rosiob2002@yahoo.com	INLASA-IRD La Paz	La Paz, Bolivia
Bonifacio Copa Aydee	aydee_any@hotmail.com	ninguna	Cochabamba, Bolivia
Calderon Espinoza Percy	percy.calderon@hotmail.com	PNUD Bolivia	La Paz, Bolivia
Román Callata Peñarrieta	roman_callata@hotmail.com	CENETROP	Santa Cruz, Bolivia
Callisaya Avila Alvaro	alvaro_cali1@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Camacho Alvarez Ivana	ivanext@hotmail.com	Asociación "Colmena Juvenil"	La Paz, Bolivia

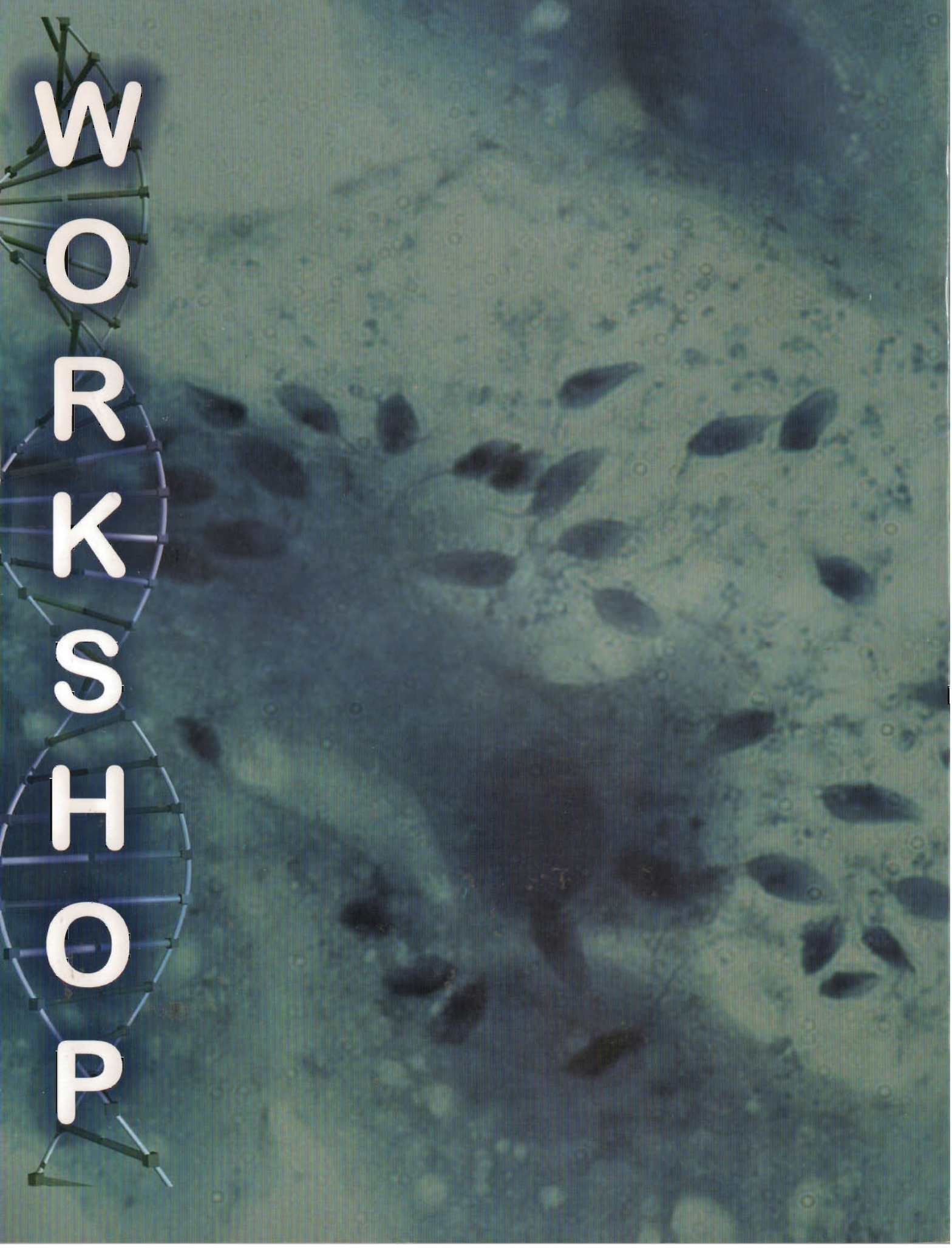
Campero Montaña Marisol	yazid_sol@hotmail.com	U. Técnica Privada Cosmos	Cochabamba, Bolivia
Carvajal Rodríguez Favio	faviales@gmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Colque García Rosario	carito_mar@hotmail.es	UMSA	La Paz, Bolivia
Contreras Tapia Ivonne Clorinda	ivcont@hotmail.com	IBBA	La Paz, Bolivia
Coronado Arrázola Irenice	irec_ca@yahoo.com	IIBISMED	Cochabamba, Bolivia
Cornejo Pinto Alex Juan	alex_guitar_1@hotmail.com	UMSA-IBM-INLASA	La Paz, Bolivia
Costaleite Aguilera Faviola	fabiola31c@hotmail.com	UAGRM	Santa Cruz, Bolivia
Costales Jaime	jacostalesc@puce.edu.ec	Pontificia U. Católica del Ecuador	Quito, Ecuador
Crespo Gamarra Felipe	fel-cre@hotmail.com	Hospital de la Mujer	La Paz, Bolivia
Crovella Sergio	crovelser@gmail.com	Universidade Federal de Pernambuco	Recife, Brasil
Cruz Zambrana Mirian	miriancruzz@gmail.com	CENETROP	Santa Cruz, Bolivia
Cruz Nina Justa	justyy.cz@hotmail.com	Hospital Municipal Modelo Corea	La Paz, Bolivia
Cuña Washington	ccuna@accelerate.com		La Paz, Bolivia
Cusicanqui Quispe Julio César	scem-umsa@hotmail.com	U. Privada Franz Tamayo	La Paz, Bolivia
Chávez Espada Tamara Karina	chaveztamy@yahoo.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Choquehuanca Quispe José Luis	j_luistg@hotmail.com	U. Autónoma Gabriel René Moreno	Santa Cruz, Bolivia
Chuquimia Calleja Guido Noel	gchuquimia@adra.org.bo	ADRA Bolivia	La Paz, Bolivia
Chuquimia Cortez Grey Angeles	grey_acc@yahoo.com		La Paz, Bolivia
De La Barra Arteaga Anabelle	anabelledelabarra@gmail.com	IIBISMED	Cochabamba, Bolivia
Diosque Patricio	diosque.unsa@gmail.com	Universidad de Salta	Salta, Argentina
Duran Toledo Pamela	durand_pame@yahoo.es	INLASA	La Paz, Bolivia
Dusfour Isabelle	idusfour@pasteur-cayenne.fr	Institut Pasteur	Guyane française
Echalar Afcha Lourdes	lechalar@hotmail.com	IBBA	La Paz, Bolivia
Espejo Rodríguez Nilza Ariela	dra_ariela@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Espinoza Edy	edyjavierespinoza@gmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Espinoza Blanco Renato	renatoieb211299@hotmail.com	ninguno	La Paz, Bolivia
Espinoza Echeverría Jorge	jorgeespinozaecheverria@gmail.com	IIBISMED-IRD	Cochabamba, Bolivia
Espinoza Guibarra Sergio Adolfo	sergioespinoza7@hotmail.com	UMSA-IINSAD	La Paz, Bolivia
Farah Bravo Jaqueline	jfara@hotmail.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia

Fernández Franco Gerald Abad	Gerofernandezf@hotmail.com	SEDES La Paz	La Paz, Bolivia
Flores Leon Amilcar Alejandro	leonamilcar@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Flores Montaña Richard	richard_flores21@hotmail.com	Museo Hist. Nat. Noel Kempff M.	Santa Cruz, Bolivia
Garcia Sejas Maria Isabel	isabelita49@hotmail.com		Cochabamba, Bolivia
García Orellana Ana Lineth	lineth.garcia@gmail.com	IIBISMED	Cochabamba, Bolivia
Guevara Delgadillo Maria Nathaly	g_nathaly@hotmail.com		Cochabamba, Bolivia
Guillén Calzadilla Midori Gabriela	midorigabriela@gmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Gisbert Alarcon Gustavo	gus-fancor@hotmail.es	UMSA	La Paz, Bolivia
Guardia Vargas Marianela	marianela25_31@hotmail.com	LIDIVECO-SENASAG	Cochabamba, Bolivia
Guarachi Quispe Cecilia Esther	cia-boom@live.com	ADRA-Riberalta	Beni, Bolivia
Guhl Felipe	fguhl@uniandes.edu.co	Universidad de los Andes	Bogota, Colombia
Gutierrez Avilés Alvaro	alvarogut@gmail.com	SEDES La Paz	La Paz, Bolivia
Gutierrez Guarachi Harold Mijail	haroldmjl@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Gutierrez Contreras Diego E.	ddtydr@hotmail.com	Universidad Franz Tamayo	La Paz, Bolivia
Herrera Salazar Natalie	herrera.natalie@gmail.com	UMSA-IBM-INLASA	La Paz, Bolivia
Jaldin Canaza Sdena Shirlem	aneds-7@hotmail.com		Cochabamba, Bolivia
Lacoste Vincent	vlacoste@pasteur-cayenne.fr	Institut Pasteur	Guyane française
Lardeux Frédéric	frederic.lardeux@ird.fr	IRD	La Paz, Bolivia
Lavadenz Maceda Gabriela Mishel	gabisita_8@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
López Miguel	mlopez@adra.org.bo	ADRA Riberalta	Beni, Bolivia
Lopez Ronald	piretroider@gmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Lopez Terrazas Williams	williamslopez74@hotmail.com	Centro de Salud Tacacoma	La Paz, Bolivia
Loza Murguía Manuel Gregorio	boliviamanloza@yahoo.com	U. Católica Boliviana San Pablo	La Paz, Bolivia
Luna Leyza Julio Cesar	juliolunaleyza@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Mamani Franco Grace Natividad	gracesol_69@hotmail.com	Centro Médico Pedro Mamani	La Paz, Bolivia
Martinez Eddy	eddy.martinez.a@gmail.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Mas-Coma Santiago	S.Mas.Coma@uv.es	Universidad de Valencia	Valencia, España
Medrano Porcel Sumaya	sumayamedranop@hotmail.com		La Paz, Bolivia
Miguez Vargas Hortencia	hmiguezv@yahoo.com	Unidad de Biología Celular-UMSA	La Paz, Bolivia

Milián Suazo Feliciano	milian.feliciano@inifap.gob.mx	CENID-F y MA de INIFAP	Mexico
Miranda Maria Consuelo	MariaConsuelo.Miranda@sanofipasteur.com	R&D LATAM Sanofi Pasteur	Bogota, Colombia
Miranda Chavarria Omayra	omamirc@yahoo.es	CEPROSI	La Paz, Bolivia
Miranda Miguez Andrés Marcelo	marcelo@yahoo.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Mollos Giovani	mollosgiovani@yahoo.com	CENETROP	La Paz, Bolivia
Montaño Villarroel Nair Alaide	nairmonvi@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Moreno Marta	monangamor@gmail.com	University of California San Diego	Iquitos, Peru
Munoz Vera Maruska	maruskamv@hotmail.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Navia Bueno Maria del Pilar	pilarnavia05@yahoo.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Nina Mena Rosio Mercedes	rosi_dra_p@hotmail.com	Hospital Municipal Los Andes	La Paz, Bolivia
Noya Martínez Jilca	jilkita73@hotmail.com	Universidad San Francisco Xavier	Sucre, Bolivia
Ochoa Pinto Odalis Amanda	lisda_aop@hotmail.com	UMSA-IINSAD	La Paz, Bolivia
Ode Hiramatsu Yuki Fryda	yuki_ode@yahoo.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Olivera Balderrama Margaret Jem	margaret_jem@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Oporto Carrasco Patricia Rosio	proc12@hotmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Ortiz Herbert	hortiz@adra.org.bo	ADRA, Riberalta	Beni, Bolivia
Peña Antezana Marco Antonio	deeybi@hotmail.com	Fundacion PROINPA	Cochabamba, Bolivia
Philco Lima Patricia	patricia_philco@yahoo.com	IINSAD	La Paz, Bolivia
Pacheco Bleichner Pilar Arlet	pilararlet_pb@yahoo.com.ar	UMSA	La Paz, Bolivia
Pinto Monroy Johana Mariela	namarie_8@hotmail.com	Colegio Médico Departamental	La Paz, Bolivia
Pizarro Cortez Juan Carlos	pizarro.juan@usfx.info	Universidad San Francisco Xavier	Sucre, Bolivia
Pontillo Alessandra	pontillo.a@gmail.com	Universidad de São Paulo	São Paulo, Brasil
Portugal Escalante Luisa Fabiola	faliolitaportugal_041090@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Prado Adrian Marcela	chelaprado@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Quisberth Barrera Sergio Rodrigo	ser_barr@hotmail.com	IINSAD	La Paz, Bolivia
Quispe Melgarejo Mary Luz	mariluna13680@hotmail.com	LIDIVECO-SENASAG	Cochabamba, Bolivia
Quispe Soto Edgar Teddy	teddyqs@gmail.com	Unidad de Biología Celular	La Paz, Bolivia
Quispe Villca Yhaquelina Admeli	fiory_fe@hotmail.com		La Paz, Bolivia
Rada Alvarez Jhonny	dr_jrada@hotmail.com	CUNA	La Paz, Bolivia

Ramirez José Luis	ramjoseluis@gmail.com	Inst. Est. Avanzados, Min. Ciencia y Tecnología	Caracas, Venezuela
Revollo Guzmán Roberto Jimmy	robertojimmy@hotmail.com	CENETROP	Santa Cruz, Bolivia
Riveros Gonzales Claudia Lorena	lore_claudi@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Ríos Quisbert Tatiana Silvia	tatyana_ryos@hotmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Roca Roledo Gissel Karen	karenroledo@hotmail.com	Consultorio Privado	La Paz, Bolivia
Rocha Omonte Rudy Edevaldo	Rudy_rocha@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Rodriguez Celeste	celesterodriguez6@gmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Rodriguez Patricia	patriciarohe@gmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Rojas Cardenas Goretti	gore_c@hotmail.com		Cochabamba, Bolivia
Rojas Laime Jhenny Marión	Shenny_rj@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Rollano Peñaloza Oscar Miguel	oscarmiguel_rp@hotmail.com	Instituto de Biología Molecular	La Paz, Bolivia
Romero Alanez Fernando	nandoromeromed@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Ruiz Pinell Grace	gracerfm@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
San Miguel Simbrón José Luis	josanto10@yahoo.es	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Santalla Vargas José	josesantalla@gmail.com	INLASA	La Paz, Bolivia
Sainz Herrera Daniela	danita.2602@hotmail	UMSA	La Paz, Bolivia
Salas Bacci Renata Sandra	renabacci2@hotmail.com	IRD-INLASA	La Paz, Bolivia
Sanabria Rojas Daniel	dr.sanabria2@gmail.com	Fundación PROINPA	Cochabamba, Bolivia
Silveti Castelú Raul	Rsilveti@sumaj.org	Fundación Sumaj Huasi	La Paz, Bolivia
Sosa Tordoya Fernando	fersosat@yahoo.es	SELADIS	La Paz, Bolivia
Solari Aldo	asolari@med.uchile.cl	Universidad de Santiago de Chile	Santiago de Chile
Szwagrzak Andrzej	szwagrzak@terra.com	Univ. Tecnológica Boliviana	La Paz, Bolivia
Taboada Patricia	pattytab@hotmail.com		Sucre, Bolivia
Tarqui Triguero Wilder Walter	vanderteck@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Telleria Jenny	jenny.telleria@ird.fr	IRD/IINSAD	La Paz, Bolivia
Terrazas Chavez Gabriela	gaby_terrzas@yahoo.es	UMSA	La Paz, Bolivia
Tezanos Pinto Vargas Cesar	ctpv07@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Tibayrenc Michel	michel.tibayrenc@ird.fr	IRD/IINSAD	La Paz, Bolivia
Torrez Avila Libia	cor_libia@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia

Torrez Choque Claudia	clary_cctc@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Torres Aldunate Tania Gina	ginatorres19@yahoo.com	Unidad de Biología Celular	La Paz, Bolivia
Torrice Pacheco Gino Vicente	ginex_66@hotmail.com	INLASA/IRD	La Paz, Bolivia
Urteaga Mamani Noelia Angela	noelia_aile@hotmail.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Udhayakumar Venkatachalam	vxu0@cdc.gov	Centers for Disease Control (CDC)	Atlanta, USA
Vasilakis Nikolaos	nivasila@utmb.edu	University of Texas Medical Branch, Galveston	Texas, USA
Vasquez Celinda	cely_20_23@hotmail.com	UMSS	Cochabamba, Bolivia
Vasquez Michel Aneth Maria	anethvasquez@gmail.com	Fac. Farmacia y Bioquímica, UMSA	La Paz, Bolivia
Velasco Moscoso Patricia Ericka	hellenkeller19@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Velasquez Goitia Norma Janeth	novela01@hotmail.com	CENETROP	Santa Cruz, Bolivia
Villarroel Castro Juan Oscar	nomad_juan@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Villarroel Franco Sandro Julio	svillarroelfranco@gmail.com	IIBISMED	Cochabamba, Bolivia
Yaksic Feraude Nina	ninayak@hotmail.com	IINSAD-UMSA	La Paz, Bolivia
Zeballos Rivas Diana Reyna	diana.zeballos@hotmail.com	UMSA	La Paz, Bolivia
Zenteno Roberto	robzencue@gmail.com	Univ. Veracruzana, Centro de Inv. Biomédicas en Enf. Infecciosas	Vera Cruz, Mexico
Zurita Sanchez Carla Virginia	carliz_83@hotmail.com		Cochabamba, Bolivia
Zurita Valdivia Yuri Alex	yurizurita@yahoo.com	Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras	La Paz, Bolivia



W
O
R
K
S
H
O
P