

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS
INGENIERIA EN BIOTECNOLOGÍA**

“Determinación por PCR-ELISA de la reducción de la tasa de infección natural de las principales especies vectoras de *Onchocerca volvulus*, luego de la distribución masiva de Ivermectina (Mectizan®) en las comunidades centinela del foco endémico principal del río Cayapas en la Provincia de Esmeraldas”

RESUMEN FINAL

ELABORADO POR:

VIVIANA PAMELA CHILUISA UTRERAS

DIRECTOR: Dr. Ph.D. Marcelo Grijalva

CODIRECTOR: Dr. Carlos Torres

SANGOLQUÍ, SEPTIEMBRE DEL 2006

RESUMEN

La oncocercosis, conocida también como “Ceguera de los Ríos” es una enfermedad infecciosa producida por el parásito *Onchocerca volvulus* y caracterizada por lesiones en la piel, nódulos fibrosos, lesiones oculares con pérdida de la capacidad visual y ceguera progresiva. Según la Organización Mundial de la Salud es considerada la segunda causa de ceguera en el mundo. Se encuentra presente en 34 países, 27 África, 1 en la península Arábiga (Yemen) y 6 en América, existen 18 millones de personas infectadas, 800.000 con trastornos oculares y 270.000 ciegos.

Las primeras informaciones sobre la presencia de oncocercosis en el Ecuador, datan de 1952 por Luis A. León, en el año de 1976, Guderian y en 1980, Carvajal y Zerega reportan oficialmente un caso en la zona norte de la provincia de Esmeraldas, el mismo que es confirmado como oncocercosis. El Ministerio de Salud Pública reconoce la existencia de un foco oncocercótico en la provincia, constituyéndose Ecuador en el sexto país endémico en la región, junto a Guatemala, México, Venezuela, Brasil y Colombia. Entre los años de 1980 y 1986 existió un incremento de la enfermedad en un 73% siendo los más afectados los grupos étnicos de afroecuatorianos, indígenas Chachi y en menor cantidad, mestizos e indígenas Tsáchilas.

Ecuador entonces, al formar parte de la Iniciativa Regional representada por el Programa para la Eliminación de la Oncocercosis en las Américas (OEPA),

organismo que norma y vigila el trabajo de los seis países de la región, ha adoptado como principal estrategia de control y de eliminación de la enfermedad, la administración en forma masiva y semestral de ivermectina (Mectizan®), en toda el área endémica. La ivermectina es un microfilaricida eficaz apropiado para su uso rural en gran escala. La meta es la eliminación de la morbilidad de la infección por *O. volvulus* para el año 2007 y la interrupción de la transmisión del parásito en los focos o países donde fuera factible.

El Programa en Ecuador realiza estudios periódicos de investigación en parasitología, oftalmología y entomología, conocidos como Evaluaciones Epidemiológicas a Profundidad (EEP) para evaluar el impacto de la distribución del fármaco en la reducción de la prevalencia de la enfermedad. Se cree que existen aproximadamente 25.000 personas en riesgo, es decir el 4.6% del total de la población de la región.

Las evaluaciones entomológicas en cada una de las comunidades centinela, que son comunidades hiperendémicas que presentaban en un principio 60% o más casos de personas portadoras de microfilarias es decir contagiadas con oncocercosis, consisten en realizar capturas de alrededor de 10.000 moscas vectoras del género *Simulium* durante la época de mayor densidad y transmisión del parásito, con el fin de determinar la presencia de los estadios larvarios L1, L2 o L3 de *O. volvulus*. Con los avances de la biología molecular y el desarrollo de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y utilización de sondas específicas de ADN para *O. volvulus*, los estudios

vectoriales han permitido examinar un número de moscas notablemente mayor en menor tiempo del que se examinaba con la técnica de disección tradicional.

La prevalencia de moscas infectivas en las tres comunidades centinela El Tigre, Corriente Grande y San Miguel del foco endémico principal del río Cayapas en la provincia de Esmeraldas fueron estimadas por medio de la técnica de PCR-ELISA y el programa PoolScreen, como parte de una evaluación epidemiológica a profundidad del Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis Ecuador (PNEO-E).

La metodología PCR-ELISA que se utilizó fue del Protocolo Completo para el Análisis de O-150 PCR en moscas negras infectadas con *O. volvulus*, según Unnasch, 2005 y el Sistema de Amplificación de ELISA de Invitrogen.

Este es un método de diagnóstico molecular altamente sensible y específico y una herramienta biotecnológica muy útil como estrategia de control para determinar la reducción en la transmisión de infección de las moscas negras vectoras del género *Simulium* y la posible eliminación de la enfermedad en toda el área endémica. Este método consta de tres fases principales Extracción de ADN, Reacción en Cadena de la Polimerasa y Enzyme- Linked Immunosorbent Assay.

Con la finalidad de monitorear la principal estrategia de control de la enfermedad, el impacto del tratamiento por medio de la distribución masiva del

fármaco Ivermectina (Mectizan®), se realizó un estudio epidemiológico transversal para en un momento determinado medir la prevalencia de la exposición y del efecto en una muestra poblacional designada. Además se realizó un estudio longitudinal comparativo entre los datos obtenidos en esta investigación con anteriores estudios, lo que permite detectar variaciones a través del tiempo.

De las 35.351 moscas analizadas por PCR-ELISA, es decir 706 grupos o “pools” en las tres comunidades centinela, se obtuvieron siete positivas es decir una tasa global de aproximadamente 2 moscas infectivas por cada 10.000 analizadas, resultados que comparados con estudios anteriores demuestran una reducción numérica entre las tasas de infectividad por medio de un análisis descriptivo.

Los datos actuales obtenidos, comparados también con los de 1996 revelan una dramática reducción en las tasas de infectividad y el proceso de transmisión de la enfermedad, son ocho años de distribución semestral ininterrumpida del fármaco, mientras que los datos actuales comparados con los estudios del año 2000, resultan estadísticamente no significativos, al obtenerse valores de $p > 0.05$ dentro del rango del error muestral permitido en el análisis inferencial, lo que quiere decir que la reducción en el proceso de transmisión de la enfermedad durante esos cuatro años es mínimo.

Con el presente estudio de investigación se rechazó entonces, la hipótesis de que la tasa de infección natural de las principales especies vectoras de

Onchocerca volvulus, presenta una reducción, luego de la distribución masiva de Ivermectina (Mectizan®) en las tres comunidades centinela El Tigre, Corriente Grande y San Miguel del foco endémico principal del río Cayapas en la Provincia de Esmeraldas, determinadas mediante la técnica PCR-ELISA, ya que se cree que después de tantos años de tratamiento el fármaco talvez no presenta igual eficacia, se puede confirmar también la gran capacidad vectorial de las principales especies transmisoras y el alto grado de contacto huésped-vector en esta área.

Es necesario investigar las causas de la falta de reducción en las tasas de infectividad obtenidas y una posible resistencia del parásito al fármaco.

Con respecto a la técnica es recomendable utilizar PCR-ELISA en posteriores análisis ya que es un método de diagnóstico altamente sensible y específico.