



Suplemento: 2019: Volumen 39 (3)

Resúmenes presentados en el Primer Congreso Internacional de Enfermedades Emergentes y Zoonóticas de Panamá, Hantavirus: 20 años de Investigación

Hotel Wyndham, 29 al 31 de agosto de 2019.

Resumen: 01

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PARÁSITOS DEL GÉNERO LEISHMANIA EN LESIONES CUTÁNEAS CON FROTIS Y CULTIVO NEGATIVOS

A Reina¹, F Samudio¹, A, Suarez¹, JC Calzada¹, A Saldaña¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES)

Entre las zoonosis parasitarias endémicas en Panamá, la Leishmaniasis Cutánea (LC) presenta las incidencias más altas con 1,000-3,000 casos anuales. El diagnóstico parasitológico de esta infección se basa por lo general en la detección microscópica del parásito en frotis de las lesiones y en cultivos. Sin embargo, con las pruebas moleculares (PCR) confirmar la infección. Si bien *Leishmania Viannia panamensis* es el agente causal de la mayoría de los casos de LC en Panamá,

recientemente se ha identificado una variante genética de esta especie presente en cerca del 20% de los casos hasta ahora evaluados. De igual manera nuevos análisis moleculares sugieren que el 1% de los casos de LC están asociados a otras especies de leishmanias como:

L.V. brasiliensis, *L.V. guyanensis* y *L. V. naiffi* o variantes genéticas de las mismas. El objetivo principal de este trabajo fue detectar y caracterizar molecularmente los parásitos del género *Leishmania* presentes en lesiones cutáneas con frotis y cultivo negativos. Para ello se evaluaron 100 muestras de ADN procedentes de lesiones de LC de pacientes que hayan asistido a la Clínica de Medicina Tropical del ICGES en los últimos 4 años. Las muestras fueron evaluadas inicialmente con 3 técnicas de PCR que amplifican las siguientes regiones:

Género específico. Las muestras positivas en el PCR-Hsp-70 fueron caracterizadas a nivel de especie mediante análisis RFLP con las enzimas HaeIII y BcI. Los productos de amplificación del PCR-Hsp-70 fueron purificados y secuenciados. Luego se realizó un análisis de homología con otras secuencias accesibles (BLAST). Las especies o variantes genéticas encontradas fueron evaluadas con respecto a las características clínico-epidemiológicas de los pacientes. Se analizaron las 100 muestras por las tres técnicas de PCR, resultaron positivas el 100% por KDNA-Viannia específico, 78% por KDA-Género específico y 66% por Hsp70-Género específico.

Hasta el momento se ha podido caracterizar a nivel de especie 7 muestras (7%), 4 correspondieron a *L. V. panamensis* y 3 a *L. V. panamensis/L. V. guyanensis*. Estos resultados preliminares sugieren el predominio de *L. V. panamensis* en lesiones cutáneas con frotis y cultivo negativos. Sin embargo, algunas variantes genéticas de esta especie también pueden estar asociadas.

[DETECTION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PARASITES IN SKIN LESIONS OF THE GENUS LEISHMANIA WITH NEGATIVE FROTIS AND CULTURE]

Among the endemic parasitic zoonoses in Panama, Cutaneous Leishmaniasis (LC) has the highest incidences with 1,000-3,000 cases per year. The parasitological diagnosis of this infection is usually based on the microscopic detection of the parasite in stained smears of the lesions and in cultures. However, these tests are often negative even when molecular tests (PCR) confirm the infection. Although *Leishmania Viannia panamensis* is the causative agent of most LC cases in Panama, a genetic variant of this species has recently been identified.

fied, present in about 20% of the cases so far evaluated. Similarly, new molecular analyzes suggest that 1% of LC cases are associated with other leishmanial species such as: *L.V. brasiliensis*, *L.V. guyanensis* and *L. V. naifffii* or genetic variants thereof. The main objective of this work was to detect and characterize molecularly the parasites of the genus *Leishmania* present in skin lesions with smears and negative culture. For this, 100 samples from LC lesions of patients who have attended the ICGES Tropical Medicine Clinic in the last 4 years were evaluated. The samples were initially evaluated with 3 PCR techniques that amplify the following regions: KDNa-specific Viannia, KDA-specific genus and Hsp70-specific genus. The positive samples in the PCR-Hsp-70 were characterized at the species level by means of RFLP analysis with the enzymes HaeIII and BcII. The amplification products of the PCR-Hsp-70 were purified and sequenced. Then a homology analysis was performed with other accessible sequences (BLAST). The genetic species or variants found were evaluated with respect to the clinical / epidemiological characteristics of the patients. The 100 samples were analyzed by the three PCR techniques, 100% positive for specific KDNa-Viannia, 78% for specific KDA-Genus and 66% for Hsp70-Specific genus. So far it has been possible to characterize at the species level 7 samples (7%), 4 corresponded to *L. V. panamensis* and 3 to *L. V. guyanensis*. These preliminary results suggest the predominance of *L. V. Panamensis* in skin lesions with smears and negative cultures. However, some genetic variants of this species may also be associated.

de numerosos estudios que lo confirman como una especie de triatomino exitosa/dominante pero tristemente vinculada con la mayoría de los casos de enfermedad de Chagas reportadas en Panamá. Durante esta pre-sentación se hará una sinopsis de los principales hallazgos efectuados en el ICGES relacionados con este vector. Fue a finales de la década de 1970 cuando se descubrió el principal hábitat de este triatomino, las palmas reales (*Attalea butyracea*). En años recientes también se han encontrado infestaciones en *Acrocomia aculeata* y *Elaeis oleífera*. El ciclo biológico de *R. pallescens* transcurre en las coronas de estas palmas, donde encuentran microclimas apropiados (alta humedad) y fuentes de alimentación (sangre de mamíferos). La identificación del tipo de ingesta sanguínea mediante pruebas de dot blot y recientemente por secuenciación de nueva generación (NGS), nos ha permitido estudiar los patrones de alimentación de *R. pallescens*. La zarigüeya común (*Didelphys marsupialis*) es su principal fuente de alimentación en el ambiente peri-doméstico. Dado que este marsupial es también el reservorio más importante de *Trypanosoma cruzi*, los índices de infección con este parásito llegan a ser tan altos como el 90% para este triatomino. Actualmente investigamos la dinámica de las poblaciones de *R. pallescens* en relación con la estructura de la red alimentaria predadora en el vector. *R. pallescens* se alimenta en *A. butyracea*, este conocimiento puede utilizarse para el control biológico del vector. *R. pallescens* debe desplazarse hasta las viviendas humanas para que se dé la transmisión de la enfermedad de Chagas al humano, ¿Pero qué tanto puede volar este chinche? Parte de la respuesta fue encontrada hace poco al utilizar un ingenioso sistema (Flight Mill) que no sólo determinó la distancia promedio de vuelo antes de fatigarse, sino también la velocidad alcanzada. Desde una perspectiva ecológica, hemos también encontrado que los hábitats perturbados (deforestación) se asocian con una mayor abundancia de vectores en comparación con los hábitats relativamente no perturbados. El estudio de la microbiota de *R. pallescens* es un nuevo campo de investigación, resultados iniciales sugieren diferencias en la composición microbiana entre poblaciones de *R. pallescens* de diferentes regiones biogeográficas del país. Esto también coincide con una variante cromática (más oscura) de esta especie encontrada en la región montañosa del norte de la provincia de Veraguas. ¿Será esta última una variante fenotípica u otra especie de triatomino surgida a partir de nuestro ya parcialmente conocido *R. pallescens*?

Resumen: 02

RHODNIUS PALLESCENS: BIOGRAFÍA NO AUTORIZADA DEL PRINCIPAL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN PANAMÁ

A Saldaña

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), Panamá

Rhodnius pallescens nace como especie hace aproximadamente 5 millones de años. Se acepta su estrecha relación filogenética con *R. pictipes* y *R. prolixus*, que tuvieron sus orígenes en la región amazónica. Llega a Panamá hace unos 2 millones de años, pero no fue descrito formalmente hasta hace solo 87 años por H.G. Barber. Desde entonces ha sido objeto de numerosos estudios que lo confirman como una especie de triatomino exitosa/dominante pero tristemente vinculada con la mayoría de los casos de enfermedad de Chagas reportadas en Panamá. Durante esta presentación se hará una sinopsis de los principales hallazgos efectuados en el ICGES relacionados con este vector. Fue a finales de la década de 1970 cuando se descubrió el principal hábitat de este triatomino, las palmas reales (*Attalea butyracea*). En años recientes también se han encontrado infestaciones en *Acrocomia aculeata* y *Elaeis oleífera*. El ciclo biológico de *R. pallescens* transcurre en las coronas de estas palmas, donde encuentran microclimas apropiados (alta humedad) y fuentes de alimentación (sangre de mamíferos). La identificación del tipo de ingesta sanguínea mediante pruebas de dot blot y recientemente por secuenciación de nueva generación (NGS), nos ha permitido estudiar los patrones de alimentación de *R. pallescens*. La zarigüeya común (*Didelphys marsupialis*) es su principal fuente de alimentación en el ambiente peri-doméstico. Dado que este marsupial es también el reservorio más importante de *Trypanosoma cruzi*, los índices de infección con este parásito llegan a ser tan altos como el 90% para este triatomino. Actualmente investigamos la dinámica de las poblaciones de *R. pallescens* en relación con la estructura de la red alimentaria predadora en el vector. *R. pallescens* se alimenta en *A. butyracea*, este conocimiento puede utilizarse para el control biológico del vector. *R. pallescens* debe desplazarse hasta las viviendas humanas para que se dé la transmisión de la enfermedad de Chagas al humano, ¿Pero qué tanto puede volar este chinche? Parte de la respuesta fue encontrada hace poco al utilizar un ingenioso sistema (Flight Mill) que no sólo determinó la distancia promedio de vuelo antes de fatigarse, sino también la velocidad alcanzada. Desde una perspectiva ecológica, hemos también encontrado que los hábitats perturbados (deforestación) se asocian con una mayor abundancia de vectores en comparación con los hábitats relativamente no perturbados. El estudio de la microbiota de *R. pallescens* es un nuevo campo de investigación, resultados iniciales sugieren diferencias en la composición microbiana entre poblaciones de *R. pallescens* de diferentes regiones biogeográficas del país. Esto también coincide con una variante cromática (más oscura) de esta especie encontrada en la región montañosa del norte de la provincia de Veraguas. ¿Será esta última una variante fenotípica u otra especie de triatomino surgida a partir de nuestro ya parcialmente conocido *R. pallescens*?

[RHODNIUS PALLESCENS: UNAUTHORIZED BIOGRAPHY OF THE MAIN VECTOR OF CHAGAS DISEASE IN PANAMA]

Rhodnius pallescens (1932) was born as a species about 5 million years ago. It is accepted its close phylogenetic relationship with *R. pictipes* and *R. prolixus*, which had their origins in the Amazon region. It reaches Panamanian territory about 2 million years ago, but it was not formally described until only 87 years ago by H.G. Barber. Since then it has been the object of numerous studies that confirm it as a successful / dominant triatomine species but sadly linked to the majority of cases of Chagas disease reported in Panama. During this presentation a synopsis of the main findings made in the ICGES related to this vector will be made. It was in the late 1970s that the main habitat of this triatomine, the royal palms (*Attalea butyracea*), was discovered. In recent years, infestations have also been found in *Acrocomia aculeata* and *Elaeis oleifera*. The biological cycle of *R. pallescens* takes place in the crowns of these palms, where it finds appropriate microclimates (high humidity) and food sources (blood of mammals). The identification of the type of blood intake by dot blot tests and recently by new generation sequencing (NGS), allowed us to study the feeding patterns of *R. pallescens*. The common opossum (*Didelphys marsupialis*) is its main source of food in the peridomestic environment. Given that this marsupial is also the most important reservoir of *Trypanosoma cruzi*, infection rates with this parasite reach up to 90% for this triatomine. We are currently investigating the dynamics of *R. pallescens* populations in relation to the structure of the food web present in *A. butyracea*, this knowledge can be used for the biological control of the vector. *R. pallescens* must move to human dwellings to transmit the Chagas disease to the human, but how much can this bug fly? Part of the answer was found recently by using an ingenious system (Flight Mill) that not only determined the average flight distance before fatigue, but also the speed achieved. From an ecological perspective, we have also found that disturbed habitats (deforestation) are associated with a higher abundance of vectors compared to relatively undisturbed habitats. The study of the microbiota of *R. pallescens* is a new field of research, initial results suggest differences in the microbial composition between populations of *R. pallescens* from different biogeographic regions of the country. This also coincides with a chromatic variant (darker) of this species found in the mountainous region of the north

of the province of Veraguas. Will the latter be a phenotypic variant or another species of triatomine arising from our already partially known *R. pallescens*?

Resumen: 03

IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN EL MARCO DE LA ELIMINACIÓN DE LA MALARIA EN PANAMÁ.

A Santamaría¹, C Riggs¹, M Perea¹, V Vásquez¹, A Reyna¹, D Moreno², J Lasso³, A Saldaña¹, J Calzada¹.

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES)¹, Laboratorio Central de Referencia de Salud Pública (LCRSP)², Ministerio de Salud, (MINSA)³.

En Panamá, la malaria es considerada un problema de salud pública. Siendo *P. vivax* y *P. falciparum* las especies prevalentes del parásito. Las infecciones por *P. vivax* representan el 90% de los casos reportados. Distribuidos en las comarcas de Guna Yala, Madugandí, Ngobe Buglé y localidades de las provincias de Chiriquí, Panamá Este, Bocas del Toro, Veraguas y Darién. Sin embargo, *P. falciparum* se reporta en zonas fronterizas con Colombia y casos reportados como importados. La Microscopía (gota gruesa y frotis sanguíneo) es la prueba diagnóstico de referencia. El diagnóstico molecular apoya la calidad de la prueba de referencia, principalmente para detectar: infecciones mixtas, parasitemias bajas, recaídas, reinfecciones, recrudescencia y la relación de cepas del parásito con el grado de endemidad de la región. Debido a que la Microscopía puede ser limitada para estos análisis. Sin embargo, el diagnóstico molecular es costoso y se requiere infraestructura, equipos y personal altamente capacitado. Recientemente, durante la Jornada Mundial de la Juventud (JM) el diagnóstico molecular para malaria fue fundamental. Contribuyendo con la identificación de infecciones mixtas por *P. vivax* y *P. falciparum* con bajas parasitemias. Siendo difícil la detección con las pruebas diagnósticas tradicionales. Panamá, es una zona de tránsito para diferentes países y sus fronteras son afectadas constantemente por la migración. Nuestro objetivo principal es fortalecer la metodología del diagnóstico de referencia (Microscopía por gota gruesa y frotis sanguíneo). Utilizando marcadores moleculares (Pvcrt, Pvmdr-1, Pvcs y Pvmsp-3) para *P. vivax* y (Pfmsp-2, Pf glurp, Pfmdr y K13) para *P. falciparum* para determinar resis-

tencia antimalárica y la genotipificación del parásito en muestras de pacientes reportados como casos importados de malaria en Panamá. Esperamos aportar toda la evidencia relacionada con el perfil molecular y epidemiológico de las cepas de *P. vivax* y *P. falciparum* analizadas y contribuir con el fortalecimiento del programa de la erradicación de la enfermedad en nuestro país.

[IMPORTANCE OF THE MOLECULAR DIAGNOSIS FOR EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE AND ELIMINATION OF MALARIA WORKFRAME IN PANAMA]

In Panama, malaria is considered a public health problem. *P. vivax* and *P. falciparum* being the prevalent species of the parasite. The infections by *P. vivax* represent 90% of the cases reported. Distributed in the counties of Guna Yala, Madugandí, Ngobe Buglé) and localities in the provinces of Chiriquí, East Panama, Bocas del Toro, Veraguas and Darién. However, *P. falciparum* is reported in border areas with Colombia and cases reported as mixed infections, low parasitemias, relapses, reinfections, recrudescence and the relationship of strains of the parasite with the degree of endemicity of the region. Nevertheless, microscopy can be limited for these analyses. However, molecular diagnosis is expensive and requires infrastructure, equipment and highly trained personnel. Recently, during the World Youth Day (WYD) (pools) for *P. vivax* and *P. falciparum* with low parasitemia. Being difficult to detect with traditional diagnostic tests. Panama is a transit zone for different countries and its borders are constantly affected by migration. Our main objective is to determine antimalarial resistance and the genotyping of the parasite in samples of patients reported as imported cases of malaria in Panama. We hope to provide all the evidence related to the molecular and epidemiological profile of the strains of *P. vivax* and *P. falciparum* analyzed and contribute to the strengthening of the program for the eradication of the disease in our country.

Resumen: 04

DETECCIÓN MOLECULAR DE CULEX FLAVIVIRUS EN MOSQUITOS (CULICIDAE) EN LA CIUDAD DE PANAMÁ

A Castro¹, B Henríquez¹, A Valderrama¹, S. López-Verges²

¹Departamento de Investigación en Entomología Médica,

²Departamento de Investigación en Virología. Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud.

Culex flavivirus es un miembro del grupo de virus específicos de insectos perteneciente al género Flavivirus. La organización de su genoma es conservado a través del género, siendo este, monocatenario de ARN de polaridad positiva. Estos virus se caracterizan por replicarse sólo en células de invertebrados. Se aisló por primera vez en el 2007 en mosquitos *Culex pipiens* en Japón y posteriormente, se ha detectado en diferentes regiones del mundo entre las que destacan Asia, América del Norte, América Central y África. Su estudio es de interés pues hallazgos previos sugerieron que pueden alterar la competencia de los insectos vecinos mediante la modulación de respuestas inmunitarias del hospedero, atribuyéndole una supresión mixta de infección por arbovirus por la infección persistente, lo cual constituye un interesante objeto de estudio por sus posibles aplicaciones como agentes de control biológico o para la posible generación de vacunas. Por lo que, con la finalidad de detectar y caracterizar Flavivirus en mosquitos, se analizaron 256 grupos rizadas centinelas BG en las localidades de Tocumen, Ancón, San Miguelito y Arraijan, áreas con casos de arbovirosis (Dengue y Zika) en Panamá. Para la detección de los Flavivirus se realizó la técnica de RT- PCR con primers que reconocen el gen no estructural 5 (NS5), cuyos productos amplificados fueron secuenciados y posteriormente analizados filogenéticamente utilizando MEGA v.6.0. Se detectó *Culex flavivirus* en 7 grupos pertenecientes a las especies *Culex (culex) inornatus* y *Culex (culex) quinquefasciatus*, lo cual demuestra la circulación de estos flavivirus insecto específico en estas áreas donde previamente se han reportado arbovirosis en humanos. Futuros estudios son necesarios para determinar si la presencia de este Flavivirus específico de mosquito interfiere o no con la transmisión de Flavivirus que causan enfermedad en humanos, como el virus Zika que ha sido detectado en mosquitos *Culex* en otros países.

[MOLECULAR DETECTION OF CULEX FLAVIVIRUS IN MOSQUITOES (CULICIDAE) IN PANAMA CITY]

Culex flavivirus is a member of the group of specific viruses of insects belonging to the genus Flavivirus. The organization of its genome is conserved through the genus, being this, single-stranded RNA of positive sense. These viruses are characterized by replicating only in invertebrate cells. It was isolated for the first time in 2007 in *Culex pipiens* mosquitoes in Japan and later, it has been detected in different regions of the world among which Asia, North America, Central America and Africa stand out. Their study is of interest because previous findings suggest that they can alter the competence of insect vectors by modulating the host's immune responses, attributing an early suppression of arbovirus replication by persistent infection, which is an interesting object of study by its possible applications as biological control agents or for the possible generation of vaccines. Therefore, in order to detect and characterize Flavivirus in mosquitoes, 256 groups (pools) of mosquitoes collected in 2016 were analyzed, using BG sentinel traps in the localities of Tocumen, Ancón, San Miguelito and Arraijan, areas with cases of arbovirosis (Dengue and Zika) in Panama. For the detection of Flaviviruses, the RT-PCR technique was performed with primers that recognize the non-structural gene 5 (NS5), whose amplified products were sequenced and later analyzed phylogenetically using MEGA v.6.0. *Culex flavivirus* was detected in 7 groups belonging to *Culex (culex) interrogator* and *Culex (culex) quinquefasciatus*, demonstrating the circulation of these specific insect flaviviruses in these areas where arboviruses have previously been reported in humans. Future studies are needed to determine whether the presence of this mosquito-specific *Flavivirus* interferes or does not interfere with the transmission of flaviviruses that cause disease in humans, such as the Zika virus that has been detected in *Culex* mosquitoes in other countries.

Resumen: 05

COMPOSICIÓN DE MOSQUITOS DE LA TRIBU SABETHINI EN LA LOCALIDAD DE ARUZA REGIÓN DEL DARIÉN ZONA CON ALTA INFLUENCIA ANTROPOGÉNICA

A Valderrama Cumbreña

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

La fauna de mosquitos para Panamá fue documentada antes de la construcción del canal, desde entonces, han sido muchos los cambios que se han registrado desde esa época hasta la actualidad en las áreas donde se realizaron los trabajos pioneros sobre estos mosquitos. Debido a la falta de estudios sistemáticos sobre los mosquitos de la tribu Sabethini no se ha tiene una dimensión de la influencia de los cambios paisajísticos sobre las especies de importancia médica. Nuestro interés fue identificar y reportar las especies de mosquitos de esta tribu cuyos hábitos son diurnos, en una localidad donde se han registrado brotes por arbovirus. Durante 16 meses realizamos muestreos uno de los bosques restantes cerca de la comunidad de Aruza Abajo, Darién. Utilizando contenedores naturales como olla de mono y bambú para su ovoposición, se colectaron larvas y se dejaron completar el ciclo biológico en el insectario del Instituto Conmemorativo Gorgas. La distribución de las especies de mosquitos para cada trampa fue significativamente diferente ($\chi^2 = 210.23$; df = 14; P <0.001) y de las trampas emergieron varias especies, pero la más abundante fueron *Sabesthes aurescens* y *Sabesthes unicolor*. La captura de estas especies de mosquitos es un indicador y nos permite alertar sobre el escenario epidemiológico que son áreas vulnerables a la transmisión enzoótica. Por lo tanto, los resultados obtenidos permiten proponer la utilidad de usar trampas naturales (mono-olla y bambú) para monitorear programas de vectores de control.

[COMPOSITION OF MOSQUITOES OF THE SABETHINI TRIBE IN THE TOWN OF ARUZA REGION OF DARIEN AREA WITH HIGH ANTHROPOGENIC INFLUENCE]

The fauna of mosquitoes in Panama was documented before the construction of the canal, since then, there have been many changes that have been recorded from that time to present at the same historical sites. Due to the lack of systematic studies on mosquitoes of the Sabethini tribe, there has not been a dimension of the influence of landscape changes on species of medical importance. Our interest was to identify and report the mosquito species of this tribe whose habits are diurnal, in a locality where there have been outbreaks of arboviruses. For 16 months we sampled one of the remaining forests near the community of Aruza Abajo, Darién. Using natural containers such as monkey pot and bamboo for their oviposition, larvae were collected and the

biological cycle was allowed to complete in the insectary of the Gorgas Memorial Institute. The distribution of mosquito species for each trap was significantly different ($X^2 = 210.23$, df = 14, P < 0.001) and several species emerged from the traps, but the most abundant were *Sabettus aurescens* and *Sabettus undosus*. The capture of these mosquito species is an indicator that warned us of the epidemiological scenario that are areas vulnerable to enzootic transmission. Therefore, the results obtained allow us to propose the utility of using natural traps (mono-pot and bamboo) to monitor control vector programs.

Resumen: 06

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LEISHMANIA EN FLEBÓTOMOS COLECTADO EN DISTINTAS LOCALIDADES DE PANAMÁ

A Valderrama Cumbre¹, M Santos¹, L Collado¹, N Batis- ta¹, E Rodríguez¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) / Departamento de Investigaciones en Entomología Médica

Por los elevados números de casos y su progresiva expansión geográfica la leishmaniasis es considerada por la OMS (Organización Mundial de la Salud), una enfermedad parasitaria de carácter emergente o reemergente de alto impacto. A raíz de esta expansión la vulnerabilidad de la población se ha visto afectada por los cambios en su ciclo de transmisión que se ha diversificado a distintos ambientes y reservorios mamíferos vertebrados, hasta domésticos como el perro, hospederos del parásito. En el marco de las observaciones anteriores, realizamos colectas desde el 2013 hasta finales del 2014, para determinar la infección de *Leishmania* en flebotomos e identificar las especies que coexisten en los distintos foci.

También se determinó la tasa mínima de infección por grupos positivos . 100 / número total de insectos. Las especies calculada con la fórmula MIR = número de grupos positivos . 100 / número total de insectos.

como vectores de la leishmaniasis cutánea en Panamá. Las muestras positivas sugieren que *Leishmania* (*Vian-*mosquito species for each trap was significantly different *na*) *panamensis*, *Leishmania* (*Vianna*) *naiffi* y otras es- ($X^2 = 210.23$, df = 14, P < 0.001) and several species emerged from the traps, but the most abundant were *Sabettus aurescens* and *Sabettus undosus*. The capture of these mosquito species is an indicator that warned us of the epidemiological scenario that are areas vulnerable to enzootic transmission. Therefore, the results obtained allow us to propose the utility of using natural traps (mono-pot and bamboo) to monitor control vector programs.

Las especies de *Leishmania* spp. fueron los más comunes y se confirmó la co-circulación de ellas. La tasa mínima de infección en cuanto a especie y local resultando un total 48.15% de hembras infectadas y dándose las mayores prevalencias en individuos de la especie. *Lutzomyia panamensis* (65.96%) y la comunidad de Valdeza (89.15%). Se comprobó una fuerte y significativa correlación entre el número de hembras procesadas e infectadas ($R_s = 0.83$, p < 0.05). Nuestros datos muestran el estado actual del ciclo de transmisión de la leishmaniasis, necesaria para la implementación de los planes estratégicos para una intervención sostenible en el tiempo, y que corresponda a una disminución de los numero de casos en Panamá.

[DETECTION AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF LEISHMANIA IN BLOOD-FEEDERS COLLECTED IN DIFFERENT LOCALITIES OF PANAMA]

Due to the high number of cases and its progressive geographical expansion, leishmaniasis is considered by the WHO (World Health Organization), a parasitic disease of emergent or reemerging nature of high impact. As a result of this expansion, the vulnerability of the population has been affected by changes in its transmission cycle that has diversified to different environments and vertebrate mammal reservoirs, even domestic ones such as the dog, host of the parasite. In the framework of the previous observations, we carried out collections from 2013 to the end of 2014, to determine the infection of *Leishmania* in sandflies and to identify the species that coexist in the different foci of infection using FR oligonucleotides from the internal transcribed spacer region -1 (ITS-1). The amplifications of this spacer region were sequenced and compared using a blast using the NCBI website (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/>). The minimum rate of infection by species calculated with the formula MIR = number of positive groups / total number of insects. The most abundant species in the sites sampled were: *Lutzomyia rapidoi*, *Lutzomyia gomezi*, *Lutzomyia panamensis*, *Lutzomyia y lephiletor*, already reported as vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. Positive samples suggest that *Leishmania* (*Vianna*) *panamensis*, *Leishmania* (*Vianna*) *naiffi* and other species of *Leishmania*

spp. they were the most common and the co-circulation of them was confirmed. The minimum infection rate in terms of species and location resulting in a total of 48.15% of infected females and giving the highest prevalence in individuals of the species: *Lutzomyia panamensis* (65.96%) and the community of Valdeza (89.15%). A strong and significant correlation was found between the number of females processed and infected ($R_s = 0.83, p < 0.05$). Our data show the current status of the transmission cycle of leishmaniasis, it would be necessary for the implementation of strategic plans for a sustainable intervention over time, and that corresponds to a decrease in the number of cases in Panama.

Resumen: 07

DESARROLLO DE UNA RT-QPCR MULTIPLEX PARA DETECTAR VIRUS ZIKA Y CHIKUNGUNYA EN MOSQUITOS AEDES spp.

B Henríquez¹, L Saenz², A Valderrama¹, S. López-Vergès², F Samudio³

¹Departamento de Investigación en Entomología Médica,

²Departamento de Investigación en Virología y Biotecnología, y³Departamento de Investigación en Parasitología, ICGES, Panamá.

La amenaza mundial a la salud pública por la propagación de arbovirus como Chikungunya y Zika aumenta la necesidad de mejores planes de vigilancia, como la detección temprana de virus transmitidos por mosquitos que co-circulan dentro del mismo vector en Panamá. Es importante implementar herramientas moleculares sensibles-específicas capaces de detectar cargas virales muy bajas en mosquitos capturados en el campo. Hemos desarrollado un RT-qPCR basado en la amplificación específica del gen de la ARN polimerasa del virus Chikungunya (NSP4) y del virus Zika (NSP5), mediante la obtención y análisis de todos los genomas completos de ZIKV y CHIKV de América disponibles en el GenBank. En ambos ensayos se establecieron condiciones independientes, por RT-qPCR utilizando SYBR Green y siguiendo los lineamientos de información mínima para la publicación de experimentos de qPCR (MIQE). Los ensayos in silico de inclusividad/exclusividad indicaron especificidad; confirmándose tanto por RT-PCR convencional como por secuenciación de los amplicones obtenidos de 175 pb y 164 pb que mostraron temperaturas de melting promedio de 81° C y 80° C para los primers de ZIKV y CHIKV, respectivamente.

The global threat to public health from the spread of arboviruses such as Chikungunya and Zika increases the need for better surveillance plans, such as the early detection of mosquito-borne viruses co-circulating within the same vector in Panama. It is important to implement sensitive-specific molecular tools capable of detecting very low viral loads in mosquitoes captured in the field. We have developed an RT-qPCR based on the specific amplification of the RNA polymerase gene of Chikungunya virus (NSP4) and Zika virus (NSP5), by both conventional RT-PCR and sequencing of the obtained amplicons of 175 bp and 164 bp that showed average melting temperatures of 81 °C and 80 °C for the primers of ZIKV and CHIKV, respectively. No primers showed temperatures of melting of 81 °C and 80 °C for the primers of ZIKV and CHIKV, respectively.

No se detectaron dímeros de primers ni en la curva de melting durante los ensayos individuales de RT-qPCR. Se diseñaron sondas específicas Taqman utilizando los primers previamente probados con SYBR Green, cuyas características se evaluaron in silico (software Primer-BLAST). Los resultados in silico señalan que ambos ensayos Taqman detectan específicamente cada virus, y las sondas no hibridan con ningún gen inespecífico o genes de la ARN polimerasa de otros virus relacionados como el Dengue. También se realizaron constructos plasmidiales de cada producto para verificar el Límite de detección (LOD), detectándose en cada caso de 1 a 1x108 copias (Taqman). Ensayos como HRM, gradientes de concentración de magnesio, transcripción in vitro se están realizando para evaluar la sensibilidad de ambas metodologías (SYBR Green/Taqman), o en RT-qPCR multiplex para detectar y cuantificar la carga viral de ambos virus en mosquitos *Aedes spp.*

[DEVELOPMENT OF A MULTIPLEX RT-QPCR TO DETECT ZIKA AND CHIKUNGUNYA VIRUSES IN MOSQUITOES AEDES spp.]

during the individual RT-qPCR assays. Taqman specific probes were designed through primer3 software and we performed a Taqman test using primers previously tested with SYBR Green, whose characteristics evaluated in silico (Primer-BLAST software). The results indicate that both Taqman assays detect each virus, and the probes do not hybridize with any nonspecific gene or RNA polymerase genes from other related viruses such as Dengue. Plasmidial constructs of each product were also made to verify the detection limit (LOD), detecting in each case from 1 to 1x108 copies (Taqman). Tests such as HRM, magnesium concentration gradients, in vitro transcription being performed to evaluate the sensitivity of both methodologies (SYBR Green / Taqman), or multiplex RT-qPCR to detect and quantify the viral load of both viruses in *Aedes spp.* Mosquitoes.

Resumen: 08

A VEINTE AÑOS DE LOS PRIMEROS CASOS DE HANTAVIRUS EN LOS SANTOS Y SITUACIÓN ACTUAL EN PANAMÁ

C Muñoz

Region de Salud de Los Santos Ministerio de Salud

Durante el mes de diciembre de 1999 y enero de 2000, en la provincia de Los Santos, se dio un brote de neumonías de muy rápida evolución hacia insuficiencia respiratoria aguda, con cuadros de gran gravedad, en personas jóvenes sin distingo de sexo que rápidamente produjo tres decesos. Se dio la voz de alerta y se inició una investigación en búsqueda de la causa pues no se identificaba. A fines de febrero de 2000, con la colaboración de CDC de Atlanta, Georgia, se pudo confirmar que se trataba de los primeros casos de enfermedad producida por Hantavirus en esta región del país. Con las investigaciones se logró identificar dos nuevos Hantavirus que se denominaron Choclo en la rata *Oligoryzomys fulvescenes* y virus Calabazo en el *Zygodontomys brevicadua*, el primero se demostró en las personas enfermas mientras que el segundo solo en ratones, por lo que se pudo establecer que el causante de la enfermedad en humanos es el virus Choclo. El cuadro clínico inicia con fiebre, malestar general, cefalea, en menor proporción síntomas gastrointestinales. Alrededor de un tercio de los pacientes se quedan en este cuadro general y se clasifican como fiebre por Hantavirus si se confirman con pruebas de laboratorio. Los otros dos tercios de pacientes comienzan a presentar síntomas que evolucionan poco tiempo a disnea y franca insuficiencia respiratoria aguda en diversos grados, desde oxigenación suplementaria por catéter nasal hasta ventilación asistida con shock no cardiogénico importante. La provincia de Los Santos acumula desde finales de 1999 hasta la fecha entre 65 a 70 % de los casos que han ocurrido en Panamá. En esta provincia, ubicada al sur del país en el extremo de la península de Azuero, el distrito más afectado es Tonosí.

[TWENTY YEARS SINCE FIRST CASES OF HANTAVIRUS IN LOS SANTOS AND CURRENT SITUATION IN PANAMA]

During the month of December 1999 and January - February 2000, in the province of Los Santos, there was an outbreak of pneumonias of very rapid evolution towards acute respiratory failure, with very serious symptoms, in young people without distinction of sex. It quickly produced three deaths. The warning was given and an investigation was initiated to identify the possible causes. At the end of February 2000, with the collaboration of the CDC of Atlanta-Georgia, it was confirmed that these were the first cases of Hantavirus disease in this region of the country. With this investigation, it was possible to identify two new Hantaviruses that were named Choclo virus in the rat *Oligoryzomys fulvescenes* and Calabazo virus in the *Zygodontomys brevicadua*, the first one was shown in sick people while the second one was only in mice, so it could be established that the cause of the disease is the Choclo virus. The clinical picture begins with fever, malaise, headache, in a lesser proportion, gastrointestinal symptoms. About a third of patients stay in this general picture and are classified as Hantavirus fever if they are confirmed with laboratory tests. The other two thirds of patients presented cough that evolved in short time to dyspnea and frank shock. The province of Los Santos accumulated from the end of 1999 to date between 65 to 70% of the cases that occurred in Panama. In this province, located in the south of the country at the end of the Azuero peninsula, the most affected district, Tonosí.

Resumen: 09

GENOTIPIFICACIÓN DE CEPAS DE ROTAVIRUS HUMANOS EN PANAMÁ (2010-2014), DESPUÉS DE LA INTRODUCCIÓN DE LA VACUNA ROTARIX

¹M Castillo,¹L Abrego,¹D Mojica,¹J Castillo,¹JM Pascale,²G

Parra,²J Arbiza.

¹Departamento de Investigación en Virología y Biotecnología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud. Ciudad de Panamá, Panamá.²Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Ciudad de Montevideo, Uruguay.

Rotavirus es el agente patógeno entérico más importante para los seres humanos y el grupo A es el más común causante de gastroenteritis severa en lactantes y niños menores de 5 años. Sus genotipos se definen por la glicoproteína VP7, que describe el tipo G, y la proteína proteasa-sensible VP4 que determina el tipo P. En un estudio realizado en Panamá, con muestras del 2002 al 2003, la distribución de genotipos de rotavirus humanos fue: 61% G1P [8], 7% G1P [6] y G3P [8], 3% G1P [4], 2% G2P [8], 1% G2P [4] y un 19% no tipificable. Para marzo del 2006, se introdujo la vacuna para rotavirus humano Rotarix® que contiene el genotipo G1P[8]. El presente estudio tiene por objetivo la caracterización molecular de los genes VP7 y VP4 de las cepas de rotavirus humanos que circulan en Panamá después de la aplicación de esta vacuna. Se extrajo el ARN total de muestras positivas por ELISA para rotavirus de niños con diarrea aguda entre el 2010 y el 2014, y se aplicó la transcripción reversa y amplificación por PCR utilizando cebadores específicos de los genes VP7 y VP4 respectivamente con posterior secuenciación de ambos genes. En estas muestras las frecuencias de los genotipos detectados fueron las siguientes: 22% G1P [6], 16% G1P [4], 3.5 % G2P [4] y 2% G1P [8]. Siendo G1P [6] y G1P [4], los genotipos más frecuentes encontrados en Panamá después de la aplicación de la vacuna con una frecuencia muy baja de 7% y 3% respectivamente. De estos resultados se puede deducir que la vacuna aplicada fue eficaz ya que el genotipo G1P [8] disminuyó de 61% a sólo 2% de los genotipos circulantes en el país.

[GENOTYPIFICATION OF HUMAN ROTAVIRUS STRAINS IN PANAMA (2010-2014), AFTER THE INTRODUCTION OF THE ROTARIX VACCINE]

Rotavirus is the most important enteric pathogen for humans and group A is the most common cause of severe gastroenteritis in infants and children under 5 years of age. Their genotypes are defined by the glycoprotein VP7, which describes type G, and the protease-sensitive protein VP4 that determines type P. In a study conducted in Panama, with samples from 2002 to 2003, the distribution of human rotavirus genotypes was : 61% G1P [8], 7% G1P [6] and G3P [8], 3% G1P [4], 2% G2P [8], 1% G2P [4] and 19% non-typeable. By March 2006, the Rotarix® human rotavirus vaccine containing the G1P genotype was introduced [8]. The objective of this study is the molecular characterization of the VP7 and VP4 genes of the human rotavirus strains that circulate in Panama after the application of this vaccine.

Total RNA was extracted from ELISA-positive samples from children with acute diarrhea between 2010 and 2014; reverse transcription and PCR amplification were applied using specific primers of the VP7 and VP4 genes respectively FOLLOWED BY sequencing of both genes . In these samples, the frequencies of the genotypes detected were the following: 22% G1P [6], 16% G1P [4], 3.5% G2P [4] and 2% G1P [8]. Being G1P [6] and G1P [4], the most frequent genotypes found in Panama after the application of the vaccine with a very low frequency of 7% and 3% respectively. From these results it can be deduced that the applied vaccine was effective since the genotype G1P [8] decreased from 61% to only 2% of the genotypes circulating in the country.

Resumen: 10

ECOEPIDEMIOLOGÍA DE LA LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA EN PANAMÁ OESTE

C A Rigg¹, J E Calzada¹, A Saldaña¹, M Perea¹, L F Chaves²y A Valderrama¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá, Panamá;²Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud, Tres Ríos, Costa Rica.

La leishmaniasis tegumentaria americana (LTA) es una zoonosis causada por protozoos del género *Leishmania*. En Panamá, el principal agente etiológico es *Leishmania panamensis*. Las manifestaciones clínicas van desde úlceras cutáneas simples hasta formas mucocutáneas. Panamá es un área endémica a LTA, en el período 2000 al 2019 se reportaron 37,576 casos, siendo los años 2006 (3,774) y 2010 (3,221) los de mayor incidencia. Las re-

giones con mayor registro son Bocas del toro (29%), Coclé (16%), Colón (11%) y Panamá Oeste (16%). La infección es transmitida por la picadura de pequeños dípteros chitras del género *Lutzomyia*, los cuales adquieren la infección al alimentarse de sangre de reservorios silvestres, *Choloepus hoffmanni* es el principal reservorio. La abundancia y diversidad de estos vectores en Panamá es alta con 76 especies descritas, pero solo seis son antropofílicas. La comunidad de Trinidad de Las Minas, es un área rural y montañosa donde los casos de LTA son frecuentes. A fin de iniciar un programa de control de LTA en esta región del país se realizó un estudio para identificar los flebotominos presentes, determinar las tasas de infección con *Leishmania* spp. y los tipos de ingestión sanguínea antes y después de una intervención con insecticida. Utilizando trampas de luz se colectaron chitras en el domicilio y peridomicilio de 24 viviendas, por 3 días consecutivos. La infección con *Leishmania* sp. y tipo de ingestión sanguínea se determinaron mediante análisis de PCR (ITS-1/CytB). Se capturaron 5,628 chitras del género *Lutzomyia* de 24 especies. Las especies más abundantes fueron: *Lutzomyia trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. panamensis*, *Lu. triramula* y *Lu. dysponeta*. Con una tasa estimada (95% IC) de 0.096 antes de la intervención con deltametrina, que levemente aumentó a 0.116 pero no significativamente ($P > 0.05$) después de la intervención. En la detección de ingestión sanguínea las aves, cerdos, humanos y perros fueron las principales fuentes de alimentación. Los resultados confirmaron la infección de las principales especies de flebotominos antropofílicos con *Leishmania* spp. y una estrecha asociación entre estas especies, los humanos y los animales domésticos en este foco de transmisión.

tion by feeding on blood from wild reservoirs, *Choloepus hoffmanni* is the main reservoir. The abundance and diversity of these vectors in Panama is high with 76 species, but only six are anthropophilic. The community of Trinidad de Las Minas is a rural and mountainous area where ATL cases are frequent. In order to initiate a ATL prevention and control program in this region of the country, a study was carried out to identify the phlebotomines present, to determine the rates of infection with *Leishmania* spp. and the types of blood intake before and after an intervention with insecticide. Using light traps chitras were collected in the home and peridomicilio of 24 homes, for 3 consecutive days. The infection with *Leishmania* sp. and type of blood intake were determined by PCR analysis (ITS-1 / CytB). 5,628 chitras of the *Lutzomyia* genus of 24 species were captured. The most abundant species were: *Lutzomyia trapidoi*, *Lu. gomezi*, *Lu. panamensis*, *Lu. triramula* and *Lu. dysponeta*. With an estimated infection rate (95% CI) of 0.096 before the intervention with deltamethrin, which slightly increased to 0.116 but not significantly ($P > 0.05$) after the intervention. In the detection of blood intake, birds, pigs, humans and dogs were the main sources of food. The results confirm the infection of the main anthropophilic phlebotomine species with *Leishmania* spp. and a close association between these species, humans and domestic animals in this transmission focus.

Resumen: 11

VIRUS INFLUENZA A: CIRCULACIÓN Y NIVEL DE RESISTENCIA A LAS DROGAS TERAPÉUTICAS EN PANAMÁ

[ECOPIDEMIOLOGY OF THE TEGUMENTARY LEISHMANIASIS IN WEST PANAMA]

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is a zoonosis caused by protozoa of the genus *Leishmania*. In Panama, the main etiologic agent is *Leishmania panamensis*.

The clinical manifestations range from simple cutaneous ulcers to mucocutaneous forms. Panama is an endemic area to LTA, in the period from 2000 to 2019 37,576 cases were reported, being the years of 2006 (3,774) and 2010 (3,221) the ones with the highest incidence. The regions with the highest registry are Bocas del toro (29%), Coclé (16%), Colón (11%) and Panamá Oeste (16%). The infection is transmitted by the bite of small diptera 'chitras' of the genus *Lutzomyia*, which acquire the infec-

¹D Franco,¹L Ábreo,¹E Valdespino,¹M Castillo,¹M Gaitán,¹S López-Verges,¹B Moreno,²Y de Moltó,²L Moreno,¹A Martínez

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud Centro Nacional de Influenza (NIC), Panamá;²Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud, Panamá.

El Virus de la Influenza A (vlnfA) es un patógeno que afecta a las vías respiratorias y que causa una alta tasa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Su incidencia generalmente se da durante el segundo cuatrimestre del año, coincidiendo con la temporada lluviosa. A pesar de que la vacunación es importante para la prevención de la enfermedad, esta cuenta con limitaciones debido a la alta variabilidad de este virus. Esto resalta la importancia de la terapia antiviral como un elemento fundamental

en la prevención. En la actualidad existen dos familias de antivirales contra este virus, los adamantanos y los inhibidores de la neuraminidasa (NAIs, siglas en inglés). En nuestro país contamos con el Centro Nacional de Influenza (NIC, siglas en inglés) quien publica datos sobre la circulación del virus; sin embargo, es poca la información conocida sobre el nivel de resistencia a los fármacos empleados. Con este estudio buscamos determinar el porcentaje de cepas de vInfa resistentes a los adamantanos y a los NAIs durante el año 2018. Ciento ochenta y seis muestras positivas a vInfa se recolectaron durante el año 2018 a Nivel Nacional y recibidas por el NIC, mediante la técnica de secuenciación de ADN se analizó el gen de la Matriz (M) y de la Neuraminidasa (N); genes implicados en resistencia a Adamantanos y NAIs respectivamente. Se evaluó la presencia de mutaciones de resistencia a través de la herramienta de análisis de Influenza del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, siglas en inglés), y luego se verificó visualmente en el alineamiento. El análisis ha demostrado que un alto porcentaje tiene la sustitución S31N que confiere resistencia a Adamantanos. Sin embargo, no se ha encontrado aún sustituciones previamente descritas que confieren resistencia a los NAIs. La detección de cepas del virus Influenza con resistencia a los adamantanos o/y oseltamivir (NAIs) sugiere evaluación y un monitoreo permanente. Si la circulación de cepas resistentes a estos antivirales se vuelve más generalizada las opciones de tratamiento estarían muy limitadas, especialmente en niños pequeños y para pacientes con enfermedad severa. Es muy probable que en el futuro se utilicen nuevos agentes antivirales y nuevas estrategias para la terapia antiviral.

[INFLUENZA A VIRUS: DISTRIBUTION AND LEVEL OF RESISTANCE TO THERAPEUTIC DRUGS IN PANAMA]

The Influenza A Virus (vInfa) is a pathogen that affects the respiratory tract and causes a high rate of morbidity and mortality worldwide. Its incidence usually occurs during the second quarter of the year, coinciding with the rainy season. Although vaccination is important for the prevention of the disease, it has limitations due to the high variability of this virus. This highlights the importance of antiviral therapy as a fundamental element in prevention. Currently there are two families of antivirals against this virus, adamantanes and neuraminidase inhibitors (NAIs). In our country we have the National In-

fluenza Center (NIC) who publishes data on the circulation of the virus; however, there is little known information about the level of resistance to the drugs used. With this study we seek to determine the percentage of vInfa strains resistant to adamantanes and NAIs during the year 2018. One hundred and eighty-six positive samples to vInfa were collected during 2018 at the National Level and received by the NIC, using the technique of DNA sequencing analyzed the gene of the Matrix (M) and of the Neuraminidase (N); genes involved in resistance to Adamantans and NAIs respectively. The presence of resistance mutations was evaluated through the annotation tool of the National Center for Biotechnology Information (NCBI), and then visually verified in the alignment. The analysis has shown that a high percentage has the substitution S31N that confers resistance to Adamantanes. However, no previously described substitutions have been found that confer resistance to NAIs. The detection of strains of Influenza virus with resistance to adamantanes and / or oseltamivir (NAIs) suggests evaluation and permanent monitoring. If the circulation of strains resistant to these antivirals becomes more widespread, treatment options would be very limited, especially in young children and for patients with severe disease. It is very likely that new antiviral agents and new strategies for antiviral therapy will be used in the future.

Resumen: 12

COLECCIÓN DEL INSECTARIO DEL DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGÍA MÉDICA DEL INSTITUTO CONMEMORATIVO GORGAS DE ESTUDIOS DE LA SALUD DE PANAMÁ

D Bernal, A Valderrama

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

Los insectarios surgen de la necesidad de contar con material biológico óptimo, principalmente para fines de estudio e investigación, o para contar con una colección de insectos vivos o disecados que se guardan para exhibición. En octubre de 1998, por Resuelto Ministerial N° 6542 del 28 de noviembre de 1997, y con el objetivo de reforzar las actividades de investigación de las enfermedades transmitidas por vectores, el Departamento de Entomología Médica del Ministerio de Salud de Panamá (MINSA) se traslada al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), para reactivar la Sección de Entomología Médica como unidad docente y de investigación científica en materia de salud pública, a la vez de con-

tribuir como ente asesor y de apoyo técnico al MINSA, en los programas de control vectorial. El insectario que está funcionando en el Departamento de Investigación de Entomología Médica (DIEM) del ICGES, actualmente mantiene colonias de insectos transmisores de enfermedades que representan un problema para la salud pública de Panamá. En la actualidad, el Insectario del DIEM es el único que existe en el país para el apoyo en investigaciones científicas. Brinda colaboración a trabajos técnicos y operativos de investigadores, estudiantes y principalmente al Ministerio de Salud, en su lucha contra diferentes insectos vectores de enfermedades, que tienen un gran impacto social y generan una gran carga económica. Dentro de sus nuevas instalaciones, se encuentran varias colonias de mosquitos de las especies *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y en ocasiones para estudios específicos de *Aedes albopictus*, colectadas de diferentes regiones endémicas de dengue y malaria del país. También se incluyen colonias de referencia susceptibles a insecticidas, de Panamá, Cuba, Puerto Rico, Guatemala y México, las cuales son atendidas de forma permanente, desde su apertura. Las colonias establecidas en el insectario, necesitan atención y supervisión diaria (mantenimiento, limpieza y alimentación), particularmente, las de *An. albimanus* debido a su alta sensibilidad a la contaminación. Estas actividades son desarrolladas por insectaristas y personal responsable de los diferentes proyectos entrenados para tal fin, esto permite una producción de material biológico de calidad, que garantiza el cumplimiento de los objetivos de los estudios que allí se realizan. Es de interés para el DIEM, que se conozcan los trabajos que se han realizado a lo largo de los años en el insectario, a fin de demostrar la importancia y valor científico para el país.

[INSECTARY COLLECTION OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL ENTOMOLOGY AT ICGES]

Insectaries arise from the need to have optimum biological material, mainly for study and research purposes, or to have a collection of live or dissected insects that are stored for display. In October 1998, by ministerial resolution No. 6542 of November 28, 1997, and with the objective of strengthening the research activities of vector-borne diseases, the Department of Medical Entomology of the Ministry of Health of Panama (MINSA) moved to the Gorgas Memorial Institute for Health Studies (ICGES), to reactivate the Medical Entomology Section as a teaching and scientific research unit in the field of public health, while at the sa-

me time contributing as an advisory body and technical support to MINSA, in vector control programs. The insectary that is functioning in the Medical Entomology Research Department (DIEM) of ICGES, currently maintains insect colonies that transmit diseases AND represent a problem for Panama's public health. Currently, the Insectarium of DIEM is the only one that exists in the country for scientific research proposed. It provides collaboration to technical and operative works of researchers, students and supports to the Ministry of Health, in its fight against different insect vectors and diseases, with a great social impact and generate a great economic burden. Within its new facilities, there are several colonies of mosquitoes of the species *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* and sometimes for specific studies of *Aedes albopictus*, collected from different endemic regions of dengue and malaria in the country. References of different regions endémicas de dengue y malaria from Panama, Cuba, Puerto Rico, Guatemala and Mexico, which are maintained, since their opening. The colonies established in the insectary need daily attention and supervision (maintenance, cleaning and feeding), particularly those of *An. Albimanus* due to their high sensitivity to contamination. These activities are carried out by insectarians and trained personnel for the different projects. This allows quality biological material, which guarantees the fulfillment of the objectives of the studies carried out there. It is of interest to the DIEM that the works that have been carried out over the years in the insectary be known, in order to demonstrate the importance and scientific value for the country.

Resumen: 13

EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR LEPTOSPIRA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS DE PANAMÁ DURANTE EL 2000-2017

D Moreno¹, C Justo¹, Y Samudio¹, F Ruiz¹, F Tuloch², R Kant³, D Santana³, V Putaturo¹, H Cedeño⁴, B Armien¹, ESVE⁵.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, ²Hospital Santos, ³Caja de Seguro Social, ⁴Ministerio de Salud y ⁵Equipo del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Panamá.

La leptospirosis es considerada una de las zoonosis más importantes a nivel mundial. Es una enfermedad desatendida y ocasionada por una bacteria del género *Leptospira*. En Panamá, reportes aislados de infección por

Leptospira se realizaron en la década de 1960 en soldados norteamericanos. Hasta el momento no existe una caracterización de esta infección en la población general. El objetivo de este estudio fue caracterizar la infección por *Leptospira* spp. entre los pacientes que fueron referidos de los hospitales públicos y privados de Panamá al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud entre enero de 2000 y diciembre de 2017. Se incluyó a todos los pacientes hospitalizados en instituciones públicas y privadas captados a través del sistema de vigilancia epidemiológica de las 14 regiones de salud con un cuadro compatible con infección por *Leptospira*. Las muestras de suero (en la medida de lo posible pareadas), inicialmente fueron evaluadas con la técnica de ELISA IgM (Panbio) y luego se les realizó la técnica de referencia, MAT, recomendada por la OPS con un panel de 15 serogrupos. Se observa al microscopio de campo oscuro para estimar el 50% de aglutinación como punto final de la reacción Ag/Ac. Incrementos de título de Ac en sueros pareados de dos a cuatro diluciones con respecto a la primera muestra se considera positiva. Se detectaron 331 casos con leptospirosis y el 91.5% (303/331) fueron notificados entre el 2006-2017. La relación hombre:mujer fue de 3:1, la media de edad es de 34.0 (DE + 20.3) y el rango osciló entre 1 y 83 años de edad. El 76% de los casos se presentaron entre los meses de abril-diciembre, es decir, en la estación lluviosa. Las provincias más afectadas fueron Panamá (39.9%), Los Santos (7.6%), Chiriquí (7.3%), Coclé (6.9%) y Colón (6.6%). La situación de la leptospirosis no está debidamente caracterizada en Panamá por lo que existe un importante subregistro de esta enfermedad. Es necesario mejorar la recolección oportuna de muestras para análisis de laboratorio, fortalecer la capacidad de diagnóstico de laboratorio, mejorar la investigación epidemiológica con el objetivo de proponer y adoptar las medidas de prevención y control correspondientes.

[EPIDEMIOLOGY OF INFECTION BY LEPTOSPIRA IN HOSPITALIZED PATIENTS IN PANAMA 2000-2017]

Leptospirosis is considered one of the most important zoonoses worldwide. It is an unattended disease and caused by a bacterium of the genus *Leptospira*. In Panama, isolated reports of *Leptospira* infection were made in the 1960s in American soldiers. So far there is no characterization of this infection in the general population. The objective of this study was to characterize infection with *Leptospira* spp. among patients who were referred from public and private hospitals in Panama to the Gorgas Memorial Institute of Health Studies between January 2000 and December 2017. All patients hospitalized in public and private institutions with a diagnosis compatible with leptospirosis were recruited through the system from Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud 14 regions. The serum samples (paired when possible) were initially evaluated with the IgM ELISA technique (Panbio) and then the reference technique, MAT, recommended by the PAHO with a panel of 15 serogroups. It is observed under a dark field microscope to estimate 50% agglutination as the end point of the Ag / Ac reaction. Ac tions with respect to the first sample is considered positive. 331 cases with leptospirosis were detected and 91.5% (303/331) were notified between 2006-2017. The male: female ratio was 3: 1, the average age is 34.0 (SD + 20.3) with a range of 1 to 83 years of age. 76% of the cases occurred between the months of April-December, that is, in the rainy season. The provinces most affected were Panama (39.9%), Los Santos (7.6%), Chiriquí (7.3%), Coclé (6.9%) and Colón (6.6%). The situation of leptospirosis is not properly characterized in Panama, so there is a significant underreporting of this disease. It is necessary to improve the timely collection of samples for laboratory analysis, strengthen laboratory diagnostic capacity, improve epidemiological research with the aim of proposing and adopting the corresponding prevention and control measures.

Resumen: 14

SÍNDROME FEBRIL INESPECÍFICO FATAL. COCLÉ-MEMBRILLO, PAJONAL, 2014

D Moreno¹, Y Samudio¹, C Justo¹, B Armién¹, D Espino², H Cedeño², I B de Mosca².

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud¹, Ministerio de Salud²

La leptospirosis es producida por la espiroqueta *Leptospira* spp., se clasifican las especies en base al análisis genético, junto con los serogrupos más comúnmente presentes en estas especies. Esta enfermedad, se estima causa aproximadamente 1.0 millón de casos y 10% de muertes cada año en todo el mundo. Según la OMS, la morbi-mortalidad a nivel mundial, se reportan más de 500,000 casos de leptospirosis graves, alcanzando una tasa de letalidad mayor del 30%. El objetivo de este trabajo es describir los datos finales de la investigación del

Síndrome Febril Inespecífico Fatal ocurrido en Coclé- occurred in adults (one female and four male) between Membrillo, Pajonal en el año 2014. Entre la Semana 27-74 years of age. Human samples from two deceased Epidemiológica N° 33 a la N° 38 de ese año, se presen- were sent to ICGES: Total blood with EDTA, serum in taron 5 defunciones en adultos (una del género femeni- acute and convalescent phase, and tissue (Kidney, no y cuatro masculinos) entre 27-74 años de edad. Se Spleen, Lung and Brain). In addition, water samples enviaron al ICGES muestras humanas de dos fallecidos: from non-potable water, taps from the homes were sent. Sangre total con EDTA, Suero en fase aguda y convale- Sera were subjected to serological tests as PanBio IgM ciente; Tejido Post (Riñón, Bazo, Pulmón y Cerebro). ELISA and Microagglutination Technique with 20 sero- Además se enviaron muestras de aguas no potables, de groups as antigens; the whole blood with EDTA was cul- grifos de las viviendas. A los sueros se les realizó prue- tured in liquid selective medium (Difco Leptospira bas serológicas, ELISA IgM marca PanBio y Técnica de Medium Base EMJH) and molecular tests were done on Microaglutinación con 20 serogrupos como antígenos; la postmortem tissue using the primers LipL32, G1 / G2. sangre total con EDTA se cultivó en medio selectivo lí- Only the 27-year-old patient resulted as having a patho- quido (Difco Leptospira Medium Base EMJH) y a los te- genic Leptospira detected by molecular test. In the 74 jidos post mortem se les realizó prueba molecular years old patient, antibodies against *Leptospira borgpe-* utilizando los primers LipL32, G1/G2. Solo en el pacien- tersenii (pathogen), were detected by serology at te de 27 años se detectó Leptospira patógena por prue- ICGES; the other post-mortem samples were not sent to ba molecular, en el de 74 años se detectó por serología, the laboratory for confirmation. Among the signs and anticuerpos contra *Leptospira borgpetersenii* (patógena), symptoms 100% (5/5) presented fever, 60% (3/5) chills, diagnosticados en el ICGES; las demás muestras post 40% (2/5) headache, abdominal pain. The waters were mortem no fueron enviadas al laboratorio para confirma- cultivated in selective liquid culture medium (Difco Lep- ción. Entre los signos y síntomas el 100% (5/5) presentó tospira Medium Base EMJH), obtaining growth of spiro- fiebre, el 60% (3/5) escalofríos, el 40% (2/5) cefalea, do- chetes which were confirmed as pathogenic Leptospira lor abdominal. Las aguas fueron cultivadas en medio de by means of molecular tests, with the primers LipL32, cultivo selectivo líquido (Difco Leptospira Medium Base G1 / G2. Determining that possibly the cause of Febrile EMJH), obteniendo crecimiento de espiroquetas los Fatal in Membrillo, Pajonal in 2014 with 5 deaths was cuales fueron confirmados como Leptospiras patógenas due to Leptospirosis, due to the intake of water contami- mediante pruebas moleculares, con los primers LipL32, nated with *Leptospiras* spp. Pathogenic G1/G2. Determinando que posiblemente la causa del Síndrome Febril Fatal en Membrillo, Pajonal en el año Resumen: 15 2014 con 5 defunciones fue por Leptospirosis, debido a CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VI- la ingesta de agua contaminada con *Leptospiras* spp. PANÁ DURANTE LOS AÑOS 2015 A 2018 Patógenas.

[NON-SPECIFIC FATAL FEBRIL SYNDROME. COCLÉ-MEMBRILLO, PAJONAL, 2014]

Leptospirosis is produced by the spirochete *Leptospira* spp., Species are classified based on genetic analysis, together with the serogroups most commonly present in these species. This disease is estimated to cause approximately 1.0 million cases and 10% of deaths every year worldwide. According to WHO, global morbidity and mortality more than 500,000 cases of severe leptospirosis are reported, reaching a case-fatality rate of over 30%. The objective of this work is to describe the final data of the Fertile Unspecific Fetal Syndrome occurred in Coclé-Membrillo, Pajonal in 2014. Between the Epidemiological Week N ° 33 and N ° 38 of that year, 5 deaths

D Araúz, C González, J Castillo, L Abrego, M Chen, L Sáenz, Y Díaz, B Moreno, Sandra López-Verges, J M Pascale, A Martínez¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), Ciudad de Panamá, Panamá.
Panamá es un país de tránsito por excelencia, con un flujo constante de personas que utilizan el país como escala o para realizar turismo. Además, nuestra proximidad geográfica a los países vecinos y la región fronteriza relativamente porosa facilita la introducción de nuevos virus emergentes. El aumento de patógenos emergentes y novedosos para su caracterización e identificación. La vigilancia genómica de cepas circulantes de Zika permite

una gestión eficiente de los recursos hacia una disminución de los medios de propagación, proporcionará además información clave sobre el origen del virus, permitirá la caracterización de las cepas involucradas en el brote y evaluar eventos de introducción o reintroducción del virus. Para este análisis, utilizamos muestras de la vigilancia epidemiológica recibidas en el ICGES desde diciembre de 2015 a diciembre de 2018 de diferentes regiones de Panamá, ponderando áreas con menos incidencia para evitar el sesgo causado por una mayor representación de casos en el área de Guna Yala, donde comenzó el brote de Zika. Las muestras de PCR positivas para el virus Zika se aislaron utilizando células Vero y se realizó la extracción de ARN por métodos comerciales. Cinco fragmentos que cubren 11500 pb del genoma de ZIKV se amplificaron. La secuenciación se realizó de dos formas: utilizando MinION de Oxford Nanopore Technologies (ONT) y el sistema MiSeq illumina. Un total de 10 GB de pares de secuencias de bases fueron usadas para construir el consenso y para el análisis de las variantes. Las lecturas obtenidas se alinearon en base a una secuencia de referencia (KU926309) con el paquete bwa-mem. Actualmente tenemos 4 secuencias de genoma completo, el análisis tuvo 100 por ciento de cobertura de todos los fragmentos y de todos los genes. Por ahora el linaje predominante es el asiático. La vigilancia continua de infecciones por el virus Zika es importante debido a la posibilidad de transmisión en bancos de sangre o por las afectaciones en neonatos. Con genomas completos, realizaremos estudios filogenéticos y futuros estudios filogeográficos para ver si hay una selección positiva en el tiempo de una secuencia específica.

[MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE ZIKA VIRUS IN INFECTED SUBJECTS IN PANAMA DURING THE YEARS 2015 TO 2018]

Panama is a transit country with a constant flow of people who use the country for tourism. In addition, our geographical proximity to neighboring countries and the relatively open border region facilitates the introduction of new emerging viruses. The increase in emerging pathogens highlights the importance of having precise and novel methods for their characterization and identification. The genomic surveillance of circulating strains of Zika allows an efficient management of resources towards a decrease in the means of propagation, it will also provide key information on the origin of the virus, allow the characterization

of the strains involved in the outbreak and evaluate introduction or reintroduction of the virus. For this analysis, we used samples from epidemiological surveillance received at the ICGES from December 2015 to December 2018 from different regions of Panama, pondering areas with less incidence to avoid the bias caused by a greater representation of cases in the area of Guna Yala, where the Zika outbreak began. Samples positive by PCR for Zika virus were isolated using Vero cells and RNA extraction was performed by commercial methods. Five fragments covering 11500 bp of the ZIKV genome were amplified. The sequencing was performed in two ways: using MinION from Oxford Nanopore Technologies (ONT) and the MiSeq illumina system. A total of 10 GB of base sequence pairs were used to build the consensus and for the analysis of the variants. The obtained readings were aligned based on a reference sequence (KU926309) with the bwa-mem package. We currently have 4 complete genomes, the analysis had 100 percent coverage of all fragments and all genes. For now, the predominant lineage is Asian. The continuous surveillance of Zika virus infections is important due to the possibility of transmission in blood banks or the affectations in neonates. With complete genomes, we will carry out phylogenetic studies and future phylogeographic studies to see if there is a positive selection over time of a specific sequence.

Resumen: 16

HISTORIA DE LA FIEBRE AMARILLA Y SITUACIÓN ACTUAL DE LA VIGILANCIA DE PRIMATES NO HUMANOS EN PANAMÁ

E Juárez¹, P González¹, P Gutiérrez¹, JM Montenegro¹, J Pineda¹, J Tello², J Garzón¹, H Cedeño², C Cubilla², A Me-paquito², E Dos Santos³, M Barreto Almeida³, B Armién¹

¹Red de Vigilancia Integral de la Fiebre Amarilla

¹ICGES.²Ministerio de Salud, Panamá.³Secretaría de Salud, Estado de Río Grande do Sul, Brasil

En Panamá la existencia de Fiebre Amarilla (FA) ha sido comprobada en distintas épocas. A inicios del Siglo XX, W. Gorgas controló eficientemente el *Aedes aegypti*, co-emergente, logrando la erradicación de FA urbana reportando el último caso en 1905. Entre 1906 y 1919 se encontraron 17 casos importados de FA, serología positiva en humanos en varias ocasiones entre 1929 y 1949. Los últimos casos de FA silvestre en humanos se dieron en 1974 en las cercanías del Bayano y en primates no humanos (PNH), documentados en 1978 por parte del Laboratorio Conmemorativo Gorgas. A partir de los 90s la sección de

Epidemiología del Ministerio de Salud (MINSA) lleva a cabo el seguimiento rutinario de la vigilancia pasiva (VP) de PNH en regiones priorizadas, sin embargo, esta fue limitada e intermitente. En el 2004, el MINSA publicó la guía operativa integral para el abordaje de la FA. Aunque se dieron avances entre el 2000-2010 persiste el sub-registro de información. Desde 2014 el MINSA-ICGES establece el objetivo de fortalecer la Vigilancia Integral de la FA en PNH. Capacitación de personal del DIEEZ-ICGES, evaluación de las fichas notificadas del 2008-2014, selección de sitios y personal, capacitación de personal seleccionado (teórico-práctico), entrega de equipos (GPS, binoculares, kit de toma de muestras), y supervisión. Desde 2016 se realizaron capturas en la provincia de Darién con trampas de tomahawk y rifles propulsores de dardos anestésicos, para toma de muestras para su posterior análisis por FA y otros arbovirus. Se capacitó 41 personas (asistentes, vectores y voluntarios) en tres áreas de Darién: Grupo Cémaco, Grupo Santa Fe y Grupo Tuira Arriba. Se tomaron muestras de dos primates que se encontraron muertos en la vía Interamericana (Río Castrigandí y Quebrada Onda). Se lograron tomar muestras de 16 machos de *Alouatta palliata* capturados, la cual todas dieron negativo por FA. Es importante destacar que durante el periodo 2016-2018, la red VP de PNH establecida en Darién no ha notificado casos de PNH enfermos, ni muertos en ausencia de violencia en las distintas áreas. Hemos logrado fortalecer la red de vigilancia de PNH, sin embargo, para que la implementación de esta sea de manera sostenible, es necesario de recursos que aseguren su éxito a futuro. Luego de 38 años se implementó la VA de PNH por FA en Darién, como parte del programa de apoyo del ICGES al MINSA para fortalecer la vigilancia de un virus que los últimos tres años ha sido un problema de salud en Suramérica en principalmente en Brasil.

and in non-human primates (NHP), documented in 1978 by the Gorgas Memorial Laboratory. From the 90s the Epidemiology section of the Ministry of Health (MINSA) carries out the routine monitoring of passive surveillance (VP) of PNH in prioritized regions, however, it was limited and intermittent. In 2004, MINSA published the comprehensive operational guide for the approach to YF. Although progress was made between 2000-2010, the sub-registration of information persists. Since 2014, the MINSA-ICGES has established the objective of strengthening the Comprehensive Monitoring of FMD in PNH. Training of DIEEZ-ICGES personnel (theoretical-practical), delivery of equipment (GPS, binoculars, sampling kit), and supervision. Since 2016, captures were made in the province of Darien with tomahawk traps and anesthetic dart propeller rifles, to get samples for further analysis by YF and other arboviruses. 41 people (assistants, vectors and volunteers) were trained in three areas of Darién: Grupo Cémaco, Grupo Santa Fe and Grupo Tuira Arriba. Samples were taken of two primates that were found dead in the Interamerican Highway and Grupo Tuira Arriba. Samples were taken from 16 captured *Alouatta palliata* males, which were all negative for FA. It is important to note that during the 2016-2018 period, the PNH VP network established in Darién has not reported cases of sick PNH or deaths in the absence of violence in the different areas. We have managed to strengthen the PNH surveillance network; However, for this implementation to be sustainable, resources are necessary to ensure its success in the future. After 38 years, the PNH VA was implemented by YF in Darién, as part of the ICGES to support MINSA programs and to strengthen the surveillance of a virus that has been a health problem in South America in the last three years, mainly in Brazil.

[HISTORY OF THE YELLOW FEVER AND CURRENT SITUATION OF THE SURVEILLANCE OF NON-HUMAN PRIMATES IN PANAMA]

In Panama, the existence of Yellow Fever (YF) has been proven at different times. At the beginning of the twentieth century, W. Gorgas efficiently controlled the *Aedes aegypti*, resulting in the eradication of urban AF, reporting the last case in 1905. Between 1906 and 1919 17 imported cases of AF were found, positive serology in humans on several occasions between 1929 and 1949. The last cases of wild FA in humans occurred in 1974 in the vicinity of the Bayano

and in non-human primates (NHP), documented in 1978 by the Gorgas Memorial Laboratory. From the 90s the Epidemiology section of the Ministry of Health (MINSA) carries out the routine monitoring of passive surveillance (VP) of PNH in prioritized regions, however, it was limited and intermittent. In 2004, MINSA published the comprehensive operational guide for the approach to YF. Although progress was made between 2000-2010, the sub-registration of information persists. Since 2014, the MINSA-ICGES has established the objective of strengthening the Comprehensive Monitoring of FMD in PNH. Training of DIEEZ-ICGES personnel (theoretical-practical), delivery of equipment (GPS, binoculars, sampling kit), and supervision. Since 2016, captures were made in the province of Darien with tomahawk traps and anesthetic dart propeller rifles, to get samples for further analysis by YF and other arboviruses. 41 people (assistants, vectors and volunteers) were trained in three areas of Darién: Grupo Cémaco, Grupo Santa Fe and Grupo Tuira Arriba. Samples were taken of two primates that were found dead in the Interamerican Highway and Grupo Tuira Arriba. Samples were taken from 16 captured *Alouatta palliata* males, which were all negative for FA. It is important to note that during the 2016-2018 period, the PNH VP network established in Darién has not reported cases of sick PNH or deaths in the absence of violence in the different areas. We have managed to strengthen the PNH surveillance network; However, for this implementation to be sustainable, resources are necessary to ensure its success in the future. After 38 years, the PNH VA was implemented by YF in Darién, as part of the ICGES to support MINSA programs and to strengthen the surveillance of a virus that has been a health problem in South America in the last three years, mainly in Brazil.

Resumen: 17 VIGILANCIA ACTIVA DE PRIMATES NO HUMANOS POR FIEBRE AMARILLA EN LA PROVINCIA DE DARIÉN, PERÍODO 2016-2018

E Juárez¹, P González¹, P Gutiérrez¹, JM Montenegro¹, J Pineda¹, J Tello², J Garzón¹, H Cedeño², C Cubilla², A Me-paquito², E Dos Santos³, M Barreto de Almeida³, B Ar-mién¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá, ²Ministerio de Salud, Panamá, ³Secretaría de Sa-lud, Estado de Río Grande do Sul, Brasil.

Introducción: En 1978 el Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) documentó por última vez la circulación de la Fiebre Amarilla (FA) selvática, por serología en primates no humanos (PNH) de Darién, a través de la vigilancia activa (VA). Panamá, es clasificado en la lista de la OMS, como un país en transición en relación al riesgo de FA y según la International Travel and Health (ITH) queda clasificado como de vacunación recomendada para los viajeros que se dirijan a la región este del Canal de Panamá que incluye la comarcas Emberá-Wounaan y Guna Yala, la provincia de Darién y áreas de la provincia de Colón y Panamá. Durante el 2013 se invita a personal de Brasil con experiencia en vigilancia de la FA para dictar un curso a personal de diferentes instituciones de Panamá, que incluía talleres de abordaje de vigilancia de febris hemorrágicos, vigilancia entomológica (Vectores), vigilancia en PNH y vigilancia en laboratorios (Humanos). Objetivo: Implementar la VA de PNH por FA y otros arbovirus en Darién. **Método:** En el 2014 el ICGES, mediante el Departamento de Investigación de Enfermedades Emergentes y Zoonóticas (DIEEZ), logró adquirir insumos necesarios para iniciar la VA de PNH, como rifles propulsores de dardos anestésicos, dardos, anestesias, redes, trampas tomahawk, etc. Inicia la exploración de sitios para establecer los puntos que serían claves para la VA de PNH. Durante 2016 el DIEEZ recibió entrenamiento en la captura de PNH por expertos brasileños (MBA y EDS). Los mismos se encontraban descansando y alimentándose, se veían en buen estado, y con poca presencia de ectoparásitos (tórsalo); Estos se capturaron en bosques de galería (n=8), bosques secundarios (n= 7) y bosque maduro (n=1). **Conclusión:** Luego de 38 años se implementó la VA de PNH por FA en Darién, como parte del programa de apoyo del ICGES al MINSA para fortalecer la vigilancia de un virus que está causando actualmente estragos en Sudamérica, principalmente en Brasil.

[ACTIVE SURVEILLANCE OF NON-HUMAN PRIMATES FOR YELLOW FEVER IN THE PROVINCE OF DARIEN, PERIOD 2016-2018]

Introduction: In 1978, the Gorgas Memorial Institute for Health Studies (ICGES) documented for the last time the circulation of sylvatic yellow fever (AF), by serology in non-

human primates (NHP) of Darién, through active surveillance (GOES). Panama, is classified in the WHO list, as a country 'in transition' in relation to the risk of AF and according to the International Travel and Health (ITH) is classified as 'recommended vaccination' for travelers who are directed to the This region of the Panama Canal includes the Emberá-Wounaan and Guna Yala counties, the province of Darién and areas of the province of Colon and Panama. During 2013, personnel from Brazil with experience in FM surveillance were invited to teach a course to personnel from different institutions in Panama, which included fever-provocative surveillance workshops, entomological surveillance (vectors), surveillance in NHP and surveillance in laboratories (Human). Objective: Implement the NHP VA by FMD and other arboviruses in Darién. Method: In 2014 the ICGES, through the Research Department of Emerging and Zoonotic Diseases (DIEEZ), managed to acquire necessary supplies to start the PNH VA, such as anesthetic dart propelling rifles, darts, anesthesia, nets, tomahawk traps, etc. Start the exploration of sites to establish the points that would be key for the VA of NHP. During 2016, DIEEZ received training in the capture of NHP by Brazilian experts (MBA and EDS). Up to 2018, catches were made in the province of Darién (districts of Chepigana, Pinogana and Cémaco), collecting blood samples for further analysis by YF and other arboviruses. Result: We managed to capture 16 males of *Alouatta palliata* (howler monkey) of different troops; Chepigana (n = 13), Cémaco (n = 2) and Pinogana (n = 1). They were resting and feeding, they looked in good condition, and with little presence of ectoparasites (take them); These were captured in gallery forests (n = 8), secondary forests (n = 7) and mature forest (n = 1). Conclusion: After 38 years, the NHP VA was implemented by YF in Darién, as part of the ICGES support program to MINSA to strengthen surveillance of a virus that is currently causing havoc in South America, mainly in Brazil.

Resumen: 18

DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DEL OLIGORYZOMYS FULVESCENS Y SU RELACIÓN CON LA INFECCIÓN POR CHOV, EN AGUA BUENA, PANAMÁ, 2006-2018

¹E Pile,²P González,³M Ávila,⁴E Juárez,¹JM Montenegro,¹P Gutiérrez,³AG Armién,⁴G Glass,¹B Armién,⁵EEH.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,²Ministerio de Salud,³University of Minnesota,⁴University of Florida,⁵Equipo de Ecología de Hantavirus

Se ha documentado que en roedores de la familia Cricetidae, reservorios de hantavirus, la transmisión puede ocurrir en áreas doméstica y peridoméstica. El objetivo del trabajo determinar la distribución espacial y temporal del *Oligoryzomys fulvescens* y establecer su relación con la presencia de la infección entre los roedores en diferentes hábitats. El estudio fue realizado en Agua Buena, Tonosí, Panamá, situada en la costa sur de la península de Azuero, región de tierras bajas. Allí se registra la presencia de dos estaciones, la seca (enero a marzo) y la lluviosa (mayo a noviembre). La producción mecanizada de arroz es la principal actividad agrícola, registrándose también agricultura de subsistencia, cultivos de exportación y pastos. Los datos fueron colectados de 2006 a 2019, con capturas mensuales, cuatro noches por mes, usando el método de captura-marcado-recaptura, con trampas tipo Sherman. Las cuadrículas de capturas fueron espaciadas entre 700m y su localización georeferenciada. De los roedores capturados se obtuvo una muestra de sangre y se registró la información de especie, edad, sexo, medidas morfométricas y tipo hábitat. La serología se analizó mediante inmunoblot. La elaboración de gráficos fue realizada usando los paquetes ggplot2 y ggmap. Los índices de abundancia, diversidad, riqueza, disimilitud fueron calculados usando el paquete Vegan, en el ambiente computacional R. Análisis de correlación de la frecuencia de roedores positivos en los diferentes hábitats en función del tiempo también fueron realizados. Los resultados demostraron mayores índices de prevalencia para la infección por hantavirus en *O. fulvescens*. La diseminación de roedores ocurrió de la flora y rastrojos a las áreas de pastos y cultivos, aumentando la densidad en esos hábitats. En las áreas de intervención humana, la presencia regular de roedores estuvo localizada en los pastizales. La estacionalidad de los roedores positivos se dio en los cultivos. La población de *O. fulvescens* fue estacional e influenciada por su presencia en las tierras bajas. La detección de roedores positivos fue irregular e incrementándose en los últimos años. La baja diversidad y riqueza de las especies aumentó la probabilidad de la transmisión del virus entre roedores.

work was to determine the spatial and temporal distribution of *Oligoryzomys fulvescens* and establish its relationship with the presence of infection among rodents in different habitats. The study was conducted in Agua Buena, Tonosí, Los Santos, Panama, located on the southern coast of the Azuero peninsula, a lowland region. There the presence of rice is the main agricultural activity, also registering subsistence agriculture, export crops and pastures. The data were collected from 2006 to 2019, with monthly catches, four nights per month, using the capture-mark-recapture method, with Sherman traps. The catch grids were spaced between 700m and their georeferenced location. A blood sample was obtained from the captured rodents and information was recorded on species, age, sex, morphometric measurements and habitat type. Serology was analyzed by immunoblot. The elaboration of graphics was done using the ggplot2 and ggmap packages. The indices of abundance, diversity, richness, dissimilarity were calculated using the Vegan package, in the computational environment R. Correlation analysis of the frequency of positive rodents in different habitats as a function of time were also performed. The results showed higher prevalence rates for hantavirus infection in *O. fulvescens*. The dissemination of rodents occurred from the forest and stubble to pasture and crop areas, increasing density in these habitats. In the areas of human intervention, the regular presence of rodents was located in the pastures. The seasonality of the positive rodents occurred in the crops. The population of *O. fulvescens* was seasonal and influenced by its presence in the lowlands. The detection of positive rodents was irregular and increased in recent years. The low diversity and richness of the species increased the likelihood of virus transmission among rodents.

[TEMPORO-SPATIAL DISTRIBUTION OF OLIGORYZOMYS FULVESCENTS AND ITS RELATIONSHIP WITH INFECTION BY CHOV, IN AGUA BUENA, PANAMA, 2006-2018]

It has been documented that in rodents of the family Cricetidae, reservoirs of hantavirus, transmission can occur in domestic and peridomestic areas. The objective of the

Resumen: 19

IDENTIFICACIÓN DE SEROGRUPOS DE LEPTOSPIRA EN COMUNIDADES RURALES DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

E Rodríguez, J Salazar, K Miranda, F Ruiz, C Muñoz, D González, D Moreno, B Armién

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

La leptospirosis es probablemente la zoonosis bacteriana de más amplia distribución mundial, con gran impacto en la salud pública y en la economía. Mamíferos domésticos y salvajes, reptiles y anfibios pueden servir

como hospederos de mantenimiento para el género hosts for the genus *Leptospira* spp. The classification of *Leptospira* spp. La clasificación de este género se basa this genus is based on its antigenic determinants in 21 a sus determinantes antigenicos en 21 especies, la ma- species, most of the pathogenic leptospires were grou- yoría de leptospirosis patógenas se agruparon dentro de ped within the *interrogans* and *borgpetersenii* species. las especies *interrogans* y *borgpetersenii*. Las especies The species of leptospirosis have been divided into nu- de leptospirosis han sido divididas en numerosos sero- merous serovars and the antigenically homologous ones vares y los homólogos antigenicamente han sido agru- have been grouped into serogroups. The objective of pados en serogrupos. El objetivo de este estudio es this study is to identify the serogroups of *Leptospira* spp. identificar los serogrupos de *Leptospira* spp. presentes present in serum samples from non-ill people with epi- en muestras de suero de personas no enfermas con demiological risk of leptospirosis in rural communities of riesgo epidemiológico de leptospirosis de comunidades the Republic of Panama. For this study, an indirect tech- rurales de la república de Panamá. Para este estudio se nique was carried out, which is the microagglutination realizó una técnica indirecta, que es la técnica de mi- technique (MAT), using a reference strain containing 17 croaglutinación (MAT), se empleó un cepario de refe- serovars belonging to 15 serogroups of pathogenic and rencia que contenía 17 serovariedades pertenecientes a saprophytic species of *Leptospira* spp. To this end, 96 15 serogrupos de especies patógenas y saprófitas de serum samples that were positive previously were *Leptospira* spp. Para ello se procedió a analizar 96 analyzed by commercial Leptospira ELISA IgM. These muestras de sueros que resultaron positivos previamen- sera represent 10% of the total positives of 22 commun- te por Leptospira ELISA IgM comercial. Estos sueros re- ties around the country. 86 serum samples have been presentan el 10% de los positivos totales de 22 analyzed so far. For the MAT, the title was given by the comunidades alrededor del país. Se han analizado 86 dilution of the serum that presented 50% agglutination. muestras séricas hasta el momento. Para la MAT el títu- The confirmation of the presence of a titer by microag- lo fue dado por la dilución del suero que presentaba glutination greater than or equal to 1:20 was taken as 50% de aglutinación, se tomó como criterio de confirma- confirmation criterion. So far, 90.6% (78/86) of the sam- ción la presencia de un título por microaglutinación ma- ples tested positive for at least one of the serogroups., yor o igual a 1:20. Hasta el momento el 90.6% (78/86) being more frequent *L. borgpetersenii* serogroup Taras- de las muestras resultaron positivas a por lo menos uno sovi 62% (53/86), followed by *L. biflexa* serogroup Se- de los serogrupos. Siendo de mayor frecuencia *L. borg- maranga* and *L. Borgpetersenni* serogroup Ballum with *petersenii* serogruppo Tarassovi 62% (53/86), seguido *L. 49% (42/86). The maximum agglutination titers to a pat- biflexa* serogruppo Semaranga y *L. Borgpetersenni* sero- hogenic serogroup were 1: 1280 for Sejroe / Wolffii, grupo Ballum con 49% (42/86). Los títulos máximos de Grippotyphosa and Pomona. A total of 44 samples sho- aglutinación a un serogruppo patógeno fueron de 1:1280 wed cross reaction among several serogroups. In this para Sejroe/Wolffii, Grippotyphosa y Pomona. Un total de study we have observed that the seropositivity to the 44 muestras mostraron reacción cruzada entre varios pathogenic groups of *Leptospira* spp in Panama has a serogrupos. En este estudio hemos observado que la value of consideration, on the other hand, our country seropositividad a los grupos patógenos de *Leptospira* lacks sufficient information that allows us to better un- spp en Panamá tiene un valor de consideración, por otra parte, nuestro país carece de la información suficiente que nos permite comprender mejor el comportamiento de esta enfermedad.

[IDENTIFICATION OF LEPTOSPIRA SERO- GRUPOS IN RURAL COMMUNITIES OF THE REPUBLIC OF PANAMA]

Leptospirosis is probably the most widely distributed bacterial zoonosis in the world, with great impact on public health and the economy. Domestic and wild mammals, reptiles and amphibians can serve as maintenance

Resumen: 20

ESTANDARIZACIÓN DEL ANALIZADOR PORTÁTIL VETERINARIO VET SCAN I-STAT DE ABAXIS

E Rodríguez, S Montilla, E Suarez, P González, J Monte negro, P Gutiérrez, J Pineda, B Armién

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

Los análisis de sangre son una herramienta muy valiosa en la clínica de animales silvestres o en cautividad, ya

que proporcionan una información muy amplia sobre el electrolyte, hematology and blood biochemistry analysis. El analizador Portátil VetScan i-STAT de Abaxis es un analizador de gases, electrolitos, hematología y bioquímica sanguínea que da resultados exactos en minutos a partir de 2-3 gotas de la sangre. Se adquirió el total. Entre los primates no humanos estaban 18 *Aotus zonalis* en cautiverio (8 machos y 10 hembras) y 2 *Alouatta palliata* silvestres los cuales fueron muestreados en campo e inmovilizados con zoletil a dosis de 20mg intramuscular. Para las muestras se utilizó tubos heparinizados. Se analizaron 18 muestras en laboratorio y 2 muestras en campo con el equipo. Todas las muestras se procesaron en el equipo VetScan i-STAT. Los resultados muestran que el equipo funciona bien a temperaturas entre 16 y 30°C, pero no funciona correctamente a temperaturas superiores a 28°C. Los resultados demuestran la eficacia del equipo en la medición de parámetros fisiológicos en sangre. Es posible procesar sueros, aunque los parámetros de hemoglobina y hematocrito, no estarían disponibles. Por otra parte, a una temperatura superior a 28°C se requiere un manejo del equipo en un ambiente controlado.

[STANDARDIZATION OF PORTABLE VETERINARY VET SCAN I-STAT FROM ABAXIS]

Blood tests are a very valuable tool in the clinic of wild animals or in captivity, because they provide a very broad information about the health status of the individual. These facilitate the diagnosis and monitoring of certain diseases such as infectious diseases. The Portable Analyzer VetScan i-STAT from Abaxis is a gas, electrolyte and blood biochemistry analyzer that gives accurate results in minutes from 2-3 drops of whole blood in a fully portable package. A practical team for travel and field operation. The objective was to evaluate the effectiveness of the VetScan i-STAT portable analyzer processing non-human primate samples both in the field and in the laboratory. The enter a en un paquete totalmente portable. Un equipo Portable Analyzer was purchased and two types of cartuchos para viajes y la operación en campo. El objetivo fue evaluar la eficacia del analizador Portátil VetScan i-STAT procesando muestras de primates no humanos samples from 20 nonhuman primates were analyzed in tanto en campo como en el laboratorio. Se adquirió el total. Among the non-human primates were 18 *Aotus zonalis* in captivity (8 males and 10 females) and 2 *Alouatta palliata* males, which were sampled in the field and immobilized with zoletil at a dose of 20mg intramuscularly. Heparinized tubes were used for the samples in the field with the equipment. All samples were read satisfactorily. We observed an *Aotus zonalis* with creatinine levels of 2.5mg / dl, normal value (0.6-1.5), which previously had shown decay and heparinized tubes were used for the samples in the field with the equipment. All samples were read satisfactorily. We observed an *Aotus zonalis* with creatinine levels of 2.5mg / dl, normal value (0.6-1.5), que pre- viamente había mostrado decaimiento y a dos con anemia, with hemoglobin (Hb) parameters of 5.4g / dl and 5.1g / dl, normal value (11.7-18.4). Although the manual states that it works well at temperatures between 16 and 30°C, in practice we observed that at over 28°C it did not work properly, which is an inconvenience in the Panamanian jungle. The results demonstrate the effectiveness of the equipment in the measurement of physiological parameters in blood. It is possible to process sera, although hemoglobin and hematocrit parameters would not be available. On the other hand, at a temperature higher than 28°C, equipment management is required in a controlled environment.

Resumen: 21

CRIOCONSERVACION DE CEPAS DE REFERENCIAS DE LEPTOSPIRA spp. EN EL LABORATORIO CENTRAL DE REFERENCIA EN SALUD PÚBLICA DEL ICGES

F Ruiz, D Moreno, Y Samudio, E Tejeira, L Samudio

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

La conservación de bacterias del género *Leptospira* spp. requiere para su mantenimiento, pases seriados en medios de cultivos EMJH (Ellinghausen-McCollough-Johnson-Harris), incluyendo replicas de cepas de cultivos, descontaminación y demanda en cortos períodos de

tiempo. Por lo que resulta ser una labor costosa, rigurosa y requiere personal capacitado lo que puede generar pérdidas de características genéticas, contaminación cruzada entre los diferentes cultivos o pérdida de la antigenicidad. El objetivo de este estudio fue estandarizar una técnica de crioconservación para el panel de referencia de *Leptospira spp.* que cuenta con 18 serogrupos utilizadas como antígeno para la realización de la técnica de microaglutinación como método de confirmación) pertenecientes a la sección de Parasitología y Malaria del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública del ICGES. Metodología: Se utilizaron 18 serogrupos de cultivos puros con crecimiento entre 5 a 7 días en medio EMJH evaluando su motilidad, esterilidad y densidad bajo el microscopio de campo oscuro. Se evaluó la capacidad crioprotectora de tres agentes: el glicerol a una concentración final de 1%, 2.5% y 5%, la leche descremada y mezcla de glicerol con leche descremada y medio EMJH directo. Las mezclas del cultivo y crioprotector fueron alicuotadas en volumen de 1ml sumergidas en un frasco con alcohol a -94°C y congeladas a -70°C. La viabilidad de cada Serogrupo crioconservada fue evaluada después de la descongelación (7, 14, 21 días) y luego de un seguimiento por un año, en cada evaluación se incluyó como control de crecimiento un cultivo en medio EMJH de cada cepa no crioconservada. La antigenicidad de cada cepa fue evaluada antes y después de la descongelación con la técnica de microaglutinación. Conclusión: Como resultado del presente estudio se describe un método sencillo para la conservación a largo plazo para los serogrupos de *Leptospiras spp.* a -70°C con un apropiado agente crioprotector en este caso el glicerol; que permitió estabilidad en viabilidad, antigenicidad con el panel de 18 serogrupos de *Leptospira spp.*

[CRIOCONSERVATION OF REFERENCE STRAINS OF LEPTOSPIRA SPP. IN ICGES'S CENTRAL REFERENCE LABORATORY OF PUBLIC HEALTH]

The conservation of bacteria of the genus *Leptospira spp.* requires serial passes in EMJH (Ellinghausen-McCoy-Johnson-Harris) culture media, replications of crop strains, decontamination and demand in short periods of time. It turns out to be a laborious, rigorous task and requires trained personnel to prevent losses of genetic characteristics, cross contamination between different crops or loss of antigenicity. The objective of this study was to standardize a cryopreservation technique as a re-

ference panel of *Leptospira spp.* It has 18 serogroups (used as an antigen for carrying out the microagglutination technique as a confirmatory method) from the Parasitology and Malaria section of the Central Public Health Reference Laboratory of ICGES. Methodology: We used 18 serogroups of pure cultures grown on 5 to 7 days in medium EMJH and evaluation of their motility, sterility and density under the dark field microscope. The cryoprotective capacity of three agents we evaluated: glycerol at a final concentration of 1%, 2.5% and 5%, skim milk at 5%, glycerol mixture with skimmed milk and direct EMJH medium. The cultures and cryoprotectant mixtures were aliquoted in 1ml volume submerged in a bottle with alcohol at -94°C and frozen at -70°C. The viability of each cryopreserved serogroup was evaluated after thawing (7, 14, 21 days) and then a one-year follow-up, in each evaluation, a culture was included as growth control in EMJH medium of each non-cryopreserved strain. The antigenicity of each strain was evaluated before and after thawing with the microagglutination technique. Conclusion: As a result of the present study we describe a simple method for long-term conservation for the serogroups of *Leptospira* spp. at -70°C with a suitable cryoprotective agent in this case glycerol; which allowed stability in viability, antigenicity with the panel of 18 serogroups of *Leptospira spp.*

Resumen: 22

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA HANTAVIRUS, RICKETTSIA, T. CRUZI Y LEPTOSPIRA, CAUSANTES DE ENFERMEDADES EMERGENTES Y ZOONÓTICAS EN PANAMÁ

J Salazar¹, T Salinas¹, G García¹, C Lyons¹, K Miranda¹, E Rodríguez¹, F Ruiz¹, D Moreno¹, V Pineda¹, A Saldaña¹, A Álvarez¹, D Gutiérrez¹, D González¹, C Domínguez¹, B Armién¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

Las interacciones entre humanos y animales han dado lugar a brotes de distintas enfermedades zoonóticas de importancia a nivel global. El Hantavirus, la Rickettsiosis, la Enfermedad de Chagas (causada por *T. cruzi*) y la Leptospirosis son algunos ejemplos, y existen en Panamá. El objetivo es determinar la prevalencia de anticuerpos contra estos patógenos en comunidades rurales de Panamá. Un equipo aplicó encuestas y tomó muestras de sangre previo consentimiento/asesamiento informado.

mado escrito a participantes de dos o más años de 2018. More than 3000 serum samples were obtained, edad, durante los años 2006, 2011, 2012, 2014, 2015, taken in 22 communities of nine provinces and one re- 2018. Se obtuvieron más de 3000 muestras de suero, gion. They were analyzed by different techniques in the tomadas en 22 comunidades de nueve provincias y una ICGES: Hantavirus by IgG Immunoblot technique, Ric- comarca. Se analizaron por diferentes técnicas en el IC- *kettisia* by indirect immunofluorescence-IgG for *R. ric-* GES: Hantavirus mediante técnica de Inmunoblot IgG, *kettisia* and *R. amblyomii*; *T. cruzi* by ELISA IgG; Rickettsia por inmunofluorescencia indirecta-IgG para *R. Leptospira*, by ELISA screening IgM and 10% (96/959) *rickettsii* y *R. amblyomii*; *T. cruzi* mediante ELISA IgG; of the positive by binding antibodies (MAT). The results Leptospira, por tamizaje mediante ELISA IgM y 10% show that for Hantavirus, analyzed in 22 communities, (96/959) de los positivos por anticuerpos aglutinantes excluding endemic area of Agua Buena, Los Santos (MAT). Los resultados muestran que para Hantavirus, (60%) (Data published, Armién et al., 2011), the highest analizado en 22 comunidades, excluyendo área endé- prevalence was obtained in Llano Bonito, Colón with mica de Agua Buena, Los Santos (60%) (Dato publica- 34.7 % (25/72). *Rickettsia* from 15 comunidades do, Armién et al., 2011), la mayor prevalencia se obtuvo analyzed, in Pirre 1 and 2. In Darién the prevalence is en Llano Bonito, Colón con un 34.7% (25/72). *Rickettsia*, 80.8% (21/26). *T. cruzi* analyzed in 16 comunidades de 15 comunidades analizadas, en Pirre 1 y 2, Darién la showed the highest prevalence of antibodies in Caña- prevalencia es de 80.8% (21/26). Para *T. cruzi*, analiza- zas, Panamá Oeste with 10.3% (14/136). *Leptospira*, in do en 16 comunidades, la mayor prevalencia de anti- 22 comunidades included in IgM antibody screening, in Pi- cuellos es en Cañazas, Panamá Oeste con un 10.3% rre 1 and 2 of Darién the highest prevalence was found, (14/136). *Leptospira*, dentro de 22 comunidades inclui- 61.5% (16/26). So far in the MAT results for leptospira, a das en el tamizaje de anticuerpos IgM, en Pirre 1 y 2 de greater reaction to the Tarassovi serogroup has been ob- Darién se encontró la mayor prevalencia, 61.5% (16/26). tained in 61.6% (53/86) of the samples. It was concluded Hasta el momento en los resultados de MAT para leptos- that the highest prevalence of antibodies at the national pira se ha obtenido mayor reacción al serogrupo Taras- level is against *Rickettsia* sp., 42.3% (1008/2382), follo- sovi en el 61.6% (53/86) de las muestras. Se llegó a la wed by *Leptospira* sp., 29.1% (959/3291), Hantavirus, conclusión de que la mayor prevalencia de anticuerpos a 7.1% (242 / 3427) and *T. cruzi* to a lesser extent with nivel nacional es contra *Rickettsia* sp., 42.3% (1008/2382), 1.4% (37/2629). The respective health regions must take seguido de *Leptospira* sp., 29.1% (959/3291), Hantavirus, measures to alert the community to apply appropriate 7.1% (242/3427) y *T. cruzi* en menor grado con 1.4% (37/2629). Las regiones de salud respectivas deben tomar measures for the prevention and control of these infec- tions due to their potential risks.

las medidas para alertar a la comunidad de aplicar las me- didas adecuadas de prevención y control de estas infec- ciones por sus potenciales riesgos.

[PREVALENCE OF ANTIBODIES AGAINST HANTAVIRUS, RICKETTSIA, *T. CRUZI* AND LEPTOSPIRA, CAUSANTS OF EMERGING AND ZONIC DISEASES IN PANAMA]

The interactions between humans and animals have led to outbreaks of various zoonotic diseases of global importance. The Hantavirus, the Rickettsiosis, the Chagas Disease (caused by *T. cruzi*) and the Leptospirosis are some examples, and exist in Panama. The objective is to determine the prevalence of antibodies against these zoonoses in rural communities of Panama. A team ap- plied surveys and took blood samples with written infor- med consent to participants that were two or more years old, during the years 2006, 2011, 2012, 2014, 2015, mosquitos (*Haemagogus* sp. o *Sabathes* sp.) previa-

Resumen: 23

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG CONTRA VIRUS DE LA FIEBRE AMARILLA EN DARIÉN

J Salazar¹, Y Díaz¹, D González¹, D Gutiérrez¹, J Montenegro¹, A Álvarez¹, C Domínguez¹, D Castillo¹, R Tu- lloch¹, E Rodríguez¹, P Gutiérrez¹, E Juárez¹, J Pineda¹, P González¹, J M Montenegro, C Cubilla², B Moreno¹, B Armién¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud de Panamá

La fiebre amarilla (FA) es una enfermedad zoonótica causada por un arbovirus transmitido por mosquitos. En América es más frecuente el ciclo de transmisión selvá- tico, donde el humano se infecta por la picadura de un mosquito (*Haemagogus* sp. o *Sabathes* sp.) previa-

mente alimentado de un primate no humano (PNH) infectado. Es por eso que se recomienda la vacunación en 13 países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Isla de Trinidad y Venezuela. En Panamá los últimos casos de FA selvática se dieron en el área de Bajío en 1974. Esto conlleva a la vacunación rutinaria en la población de Panamá Este, Darién y Guna Yala. Debido a movimientos migratorios de personas desde Suramérica y que la región cuenta con todos los componentes del ciclo de transmisión, existe la posibilidad de una re-introducción del virus a Panamá. Nuestro estudio busca generar evidencia científica que confirme que la región determinada como endémica, se mantiene a un nivel de riesgo para la circulación del virus FA (VFA); analizando el grado de cobertura vacunal en la población humana y la vigilancia de la circulación del virus en PNH. Para la estimación de cobertura vacunal contra VFA se obtuvieron sueros de participantes durante giras de seroprevalencia en el año 2012 en las comunidades de Tamáindo, Aruza, El Real de Santa María, Mercadeo, Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. En la vigilancia activa de PNH realizada entre 2016 y 2018 se colectaron 16 sueros de Alouatta palliata en las regiones de Metetí, Platanilla, Aguas Claras, Maach Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. Los sueros humanos y de PNH fueron analizados por PRNT (2012, pre-Zika). Los 17 sueros de PNH colectados no mostraron reactividad contra VFA. Hasta la fecha los datos obtenidos demuestran que no hay evidencia de la circulación del VFA en Darién.

Ecuador, Guyana, French Guiana, Panama, Paraguay, Peru, Suriname, Island of Trinidad and Venezuela. In Países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Isla de Trinidad y Venezuela. En Panamá los últimos casos de FA selvática se dieron en el área de Bajío en 1974. Esto conlleva a la vacunación rutinaria en la población de Panamá Este, Darién y Guna Yala. Debido a movimientos migratorios de personas desde Suramérica y que la región cuenta con todos los componentes del ciclo de transmisión, existe la posibilidad de una re-introducción del virus a Panamá. Nuestro estudio busca generar evidencia científica que confirme que la región determinada como endémica, se mantiene a un nivel de riesgo para la circulación del virus FA (VFA); analizando el grado de cobertura vacunal en la población humana y la vigilancia de la circulación del virus en PNH. Para la estimación de cobertura vacunal contra VFA se obtuvieron sueros de participantes durante giras de seroprevalencia en el año 2012 en las comunidades de Tamáindo, Aruza, El Real de Santa María, Mercadeo, Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. En la vigilancia activa de PNH realizada entre 2016 y 2018 se colectaron 16 sueros de Alouatta palliata en las regiones de Metetí, Platanilla, Aguas Claras, Maach Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. Los sueros humanos y de PNH fueron analizados por PRNT (2012, pre-Zika). Los 17 sueros de PNH colectados no mostraron reactividad contra VFA. Hasta la fecha los datos obtenidos demuestran que no hay evidencia de la circulación del VFA en Darién.

Ecuador, Guyana, French Guiana, Panama, Paraguay, Peru, Suriname, Island of Trinidad and Venezuela. In Países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Isla de Trinidad y Venezuela. En Panamá los últimos casos de FA selvática se dieron en el área de Bajío en 1974. Esto conlleva a la vacunación rutinaria en la población de Panamá Este, Darién y Guna Yala. Debido a movimientos migratorios de personas desde Suramérica y que la región cuenta con todos los componentes del ciclo de transmisión, existe la posibilidad de una re-introducción del virus a Panamá. Nuestro estudio busca generar evidencia científica que confirme que la región determinada como endémica, se mantiene a un nivel de riesgo para la circulación del virus FA (VFA); analizando el grado de cobertura vacunal en la población humana y la vigilancia de la circulación del virus en PNH. Para la estimación de cobertura vacunal contra VFA se obtuvieron sueros de participantes durante giras de seroprevalencia en el año 2012 en las comunidades de Tamáindo, Aruza, El Real de Santa María, Mercadeo, Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. En la vigilancia activa de PNH realizada entre 2016 y 2018 se colectaron 16 sueros de Alouatta palliata en las regiones de Metetí, Platanilla, Aguas Claras, Maach Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. Los sueros humanos y de PNH fueron analizados por PRNT (2012, pre-Zika). Los 17 sueros de PNH colectados no mostraron reactividad contra VFA. Hasta la fecha los datos obtenidos demuestran que no hay evidencia de la circulación del VFA en Darién.

Ecuador, Guyana, French Guiana, Panama, Paraguay, Peru, Suriname, Island of Trinidad and Venezuela. In Países: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Isla de Trinidad y Venezuela. En Panamá los últimos casos de FA selvática se dieron en el área de Bajío en 1974. Esto conlleva a la vacunación rutinaria en la población de Panamá Este, Darién y Guna Yala. Debido a movimientos migratorios de personas desde Suramérica y que la región cuenta con todos los componentes del ciclo de transmisión, existe la posibilidad de una re-introducción del virus a Panamá. Nuestro estudio busca generar evidencia científica que confirme que la región determinada como endémica, se mantiene a un nivel de riesgo para la circulación del virus FA (VFA); analizando el grado de cobertura vacunal en la población humana y la vigilancia de la circulación del virus en PNH. Para la estimación de cobertura vacunal contra VFA se obtuvieron sueros de participantes durante giras de seroprevalencia en el año 2012 en las comunidades de Tamáindo, Aruza, El Real de Santa María, Mercadeo, Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. En la vigilancia activa de PNH realizada entre 2016 y 2018 se colectaron 16 sueros de Alouatta palliata en las regiones de Metetí, Platanilla, Aguas Claras, Maach Pijivasal, y Pirre 1 y 2 ubicadas en Darién. Los sueros humanos y de PNH fueron analizados por PRNT (2012, pre-Zika). Los 17 sueros de PNH colectados no mostraron reactividad contra VFA. Hasta la fecha los datos obtenidos demuestran que no hay evidencia de la circulación del VFA en Darién.

[DETECTION OF ANTIBODIES IgG AGAINST YELLOW FEVER VIRUS IN DARIEN]

Yellow fever (YF) is a zoonotic disease caused by an arbovirus transmitted by mosquitoes. In America the sylvatic transmission cycle is more frequent, where the human is infected by the bite of a mosquito (*Haemagogus* sp. or *Sabathes* sp.) Previously fed from an infected non-human primate (NHP). That is why vaccination is recommended in 13 countries: Argentina, Bolivia, Brazil, Colombia,

Resumen: 24

FACTORES DETERMINANTES DE LA MULTI-RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN *P. AERUGINOSA* AISLADAS EN PANAMÁ DURANTE 2017-2018

J E Moreno¹, W Castillo¹, N García¹, R Ramos¹

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud¹

Introducción La resistencia a los antimicrobianos constituye el principal problema de salud pública de nuestros tiempos, la falta de nuevos fármacos y la rápida propagación de cepas multi-resistentes aumentan la morbi-mortalidad en hospitales a nivel mundial *P. aeruginosa* es uno de los principales organismos que presenta estas carac-

terísticas y en Panamá su comportamiento microbiológico es poco conocido hasta ahora. Objetivos Determinar los mecanismos de multiresistencia antibiótica en aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* y proponer un esquema basados en comportamiento de sensibilidad al mejor indicador de carbapenemasas, que lo pueda diferenciar de alteraciones membranales. Métodos Se analizaron durante abril 2017 hasta abril 2018, 147 cepas de *P. aeruginosa* procedentes de 4 hospitales públicos de Panamá con erfiles de multi-resistencia antibiótica referidos al ICGES para estudios de genes carbapenemasas Memalo-Metalo-beta-lactamasas VIM-IMP y mecanismos de membrana. Se utilizaron métodos microbiológicos automatizados como antibiograma y PCR tiempo real-Sybr-GREEN para los genes de resistencia. Los análisis estadísticos fueron realizados mediante Linux Open calc, Epiinfo7 y OpenEpi. Resultados De las 147 cepas de *P. aeruginosa* el 65% pertenecían mujeres y 35% a hombres, las muestras más comunes fueron secreciones 52%, orina 20%, sangre 14%, esputo 5%, fluidos crecimientos 5%, tejidos 4%. Los mayores porcentajes de resistencia fueron para imipenem 92%, meropenem 85%, ciprofloxacina 57%, ceftazidima 46%, cefepima 45%, piperacillín-tazobactama 34%, amicacina 30%, gentamicina 27% y colistina 2%. Los mecanismos de resistencia detectados correspondían a un 67% mediado por alteraciones de membrana y 33% por enzimas MBL. Los mecanismos membranales eran en un 83% combinación de OprD- y OprM. Las MBL predominantes fueron VIM 90%, IMP 6% y coexistencia de ambas 4%. La mejor correlación fue de Cefepima y Ceftazidima con PCR del 71% Conclusiones Las antibiotic-resistencias más comunes encontradas en *P. aeruginosa* de Panamá son las mediadas por alteraciones de membrana y luego carbapenemasas de tipo VIM. No existe un indicador ideal para diferenciarlas únicamente por fenotipo, porque la mayoría de los antibióticos analizados fueron afectados de manera similar a excepción de Ceftazidima y Cefepima. Este estudio aporta la primera evidencia científica de las causas de antibiotic-resistencia en *P. aeruginosa*.

of the main organisms that presents these characteristics co-molecular is little known until now. Objectives: To determine the mechanisms of antibiotic multiresistance in clinical isolates of *P. aeruginosa* and to propose a scheme based on sensitivity behavior to the best indicator of carbapenemase genes, which can differentiate it from membrane alterations. Methods During April 2017 to April 2018, 147 strains of *P. aeruginosa* from 4 public hospitals in Panama were analyzed with antibiotic multi-resistance stacks referred to ICGES to be studied for carbapenemase genes Metalo-Metalo-beta-lactamases VIM-IMP and membrane mechanisms. Automated microbiological methods such as antibiogram and real-time PCR-SybrGREEN were used for the resistance genes. Statistical analyzes were done using Linux Whonet 5.6, Epiinfo7 and OpenEpi. Results Of the 147 strains of *P. aeruginosa* 65% belonged to women and 35% to men, the most common samples were 52% secretions, 20% urine, 14% blood, 5% sputum, 5% fluids and 4% tissues. The highest percentages of resistance were for imipenem 92%, meropenem 85%, ciprofloxacin 57%, ceftazidime 46%, cefepime 45%, piperacillin-tazobactam 34%, amicacin 30%, gentamicin 27% and colistin 2%. The detected resistance mechanisms corresponded to 67% mediated by membrane alterations and 33% by MBL enzymes. The membrane mechanisms were 83% combination of OprD- and efflux deficit, 10% OprD- and OprM. The predominant MBL were VIM 90%, IMP 6% and coexistence of both 4%. The best correlation was of cefepime and ceftazidime with 71% PCR. Conclusions The most common antibiotic-resistance found in *P. aeruginosa* from Panama are those mediated by membrane alterations and then VIM-type carbapenemes. There is no ideal indicator to differentiate them solely by phenotype, because most of the antibiotics analyzed were affected in a similar way except for ceftazidime and cefepime. This study provides the first scientific evidence of the causes of antibiotic-resistance in *P. aeruginosa*.

[DETERMINING FACTORS FOR ANTIBIOTIC MULTI-RESISTANCE IN *P. AERUGINOSA* ISOLATED IN PANAMA DURING 2017-2018]

Introduction Antimicrobial resistance is the main public health problem of our times, the lack of new drugs and the rapid spread of multi-resistant strains increase morbidity and mortality in hospitals worldwide *P. aeruginosa* is one

of the main organisms that presents these characteristics and in Panama AND its microbiological-molecular behavior is little known until now. Objectives: To determine the mechanisms of antibiotic multiresistance in clinical isolates of *P. aeruginosa* and to propose a scheme based on sensitivity behavior to the best indicator of carbapenemases, which can differentiate it from membrane alterations. Methods During April 2017 to April 2018, 147 strains of *P. aeruginosa* from 4 public hospitals in Panama were analyzed with antibiotic multi-resistance stacks referred to ICGES to be studied for carbapenemase genes Metallo-beta-lactamases VIM-IMP and membrane mechanisms. Automated microbiological methods such as antibiogram and real-time PCR-SybrGREEN were used for the resistance genes. Statistical analyzes were done using Linux Open calc, Whonet 5.6, Epiinfo7 and OpenEpi. Results Of the 147 strains of *P. aeruginosa* 65% belonged to women and 35% to men, the most common samples were 52% secretions, 20% urine, 14% blood, 5% sputum, 5% fluids and 4% tissues. The highest percentages of resistance were for imipenem 92%, meropenem 85%, ciprofloxacin 57%, ceftazidime 46%, cefepime 45%, piperacillin-tazobactam 34%, amicacin 30%, gentamicin 27% and colistin 2%. The detected resistance mechanisms corresponded to 67% mediated by membrane alterations and 33% by MBL enzymes. The membrane mechanisms were 83% combination of OprD- and efflux deficit, 10% OprD- and 7% by MexAB-OprM. The predominant MBL were VIM 90%, IMP 6% and coexistence of both 4%. The best correlation was of cefepime and ceftazidime with 71% PCR. Conclusions The most common antibiotic-resistance found in *P. aeruginosa* from Panama are those mediated by membrane alterations and then VIM-type carbapenemases. There is no ideal indicator to differentiate them solely by phenotype, because most of the antibiotics analyzed were affected in a similar way except for ceftazidime and cefepime. This study provides the first scientific evidence of the causes of antibiotic-resistance in *P. aeruginosa*.

Resumen: 25

EPIDEMIOLOGIA DE LAS ENCEFALITIS EQUINAS POR ALFAVIRUS EN PANAMÁ

IP Carrera

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

más importantes se encuentran el virus dentro del complejo del virus la encefalitis equina venezolana (VEEV) y el virus de la encefalitis equina del este. El primero circula principalmente en ciclos enzoóticos que causan enfermedad febril y encefalitis, y a veces es incapaz deemerger en una cepa epizoótica y causar grandes epidemias vía mutaciones mosquito-equinas, adaptativas. Por otra parte, el virus Madariaga (MADV, antes conocido como la encefalitis equina del este) se ha asociado recientemente con una enfermedad humana grave en Panamá, donde también circula el VEEV. Ambos virus causan brotes anuales en la provincia de Darién en el este de Panamá, con una letalidad del 10%. Recientemente nosotros hemos demostrado que el riesgo de infección con VEEV se incrementa en zonas boscosas mientras que el riesgo con MADV en zonas deforestadas. Lo que sugiere que estos alfavirus podrían diferir en el riesgo de infección a nivel espacial. Nosotros llevamos a cabo una investigación de brotes en sección transversal y colecciones de mosquitos en julio de 2017, con el objetivo de detectar anticuerpos contra alfavirus y ARN viral. Se realizó un análisis estadístico para identificar los factores de riesgo, los síntomas asociados y se reconstruyó la dinámica de la epidemia de alfavirus en Mogue y se comparó con un estudio de seroprevalencia realizado en el 2012 en la misma región. La seroprevalencia de MADV y VEEV IgM fue de 1.62% y 4.42%, respectivamente. Mientras que la prevalencia de anticuerpos IgG en 2017 fue MADV: 13.2%, VEEV: 16.8%. Una virus (UNAV): 16.0%; y virus Mayaro (MAYV): 1.1%. Se encontraron evidencias de infección por MADV y UNAV cerca del hogar y plantean preguntas sobre el vector y el ciclo de transmisión de estos virus en Panamá. El número de casos neurológicos adicionales sugiere que las infecciones graves por MADV y VEEV solo representan una pequeña proporción de las infecciones en general. Nuestros resultados sugieren que las infecciones por Alphavirus han ocurrido más de 50 años en este de Panamá, pero que las infecciones por MADV y VEEV han aumentado recientemente, posiblemente durante la última década.

[**EPIDEMIOLOGY OF EQUINE ENCEPHALITIS BY ALFAVIRUS IN PANAMA**]

Alfaviruses are important causes of zoonotic and febrile disease in the Americas and are among the most important members are the virus within the Venezuelan equine encephalitis virus (VEEV) virus complex and the eastern equine encephalitis virus. The first circulates mainly in enzootic cycles that cause febrile illness and encephalitis, and it is sometimes able to emerge in an epizootic strain causing epidemics via muquito-equine, adaptive mutations. On the other hand, the Madariaga virus (MADV, formerly known as eastern equine encephalitis) has recently been associated with a serious human disease in Panama, where VEEV also circulates. Both viruses cause annual outbreaks in the province of Darien in eastern Panama, with a lethality of 10%. Recently we have shown that the risk of infection with VEEV increases in forested areas while the risk with MADV in deforested areas. This suggests that these alphaviruses may differ in the risk of infection at the spatial level. We carried out an investigation of cross-sectional outbreaks and mosquito collections in July 2017, with the aim of detecting antibodies against alphaviruses and viral RNA. A statistical analysis was carried out to identify risk factors, associated symptoms and the dynamics of the alpha virus epidemic in Mogue and the dynamics of the alpha virus epidemic in Mogue was reconstructed and compared with a seroprevalence study conducted in 2012 in the same region. The seroprevalence of MADV and VEEV IgM was 1.62% and 4.42%, respectively. While the prevalence of IgG antibodies in 2017 was MADV: 13.2%, VEEV: 16.8%, One virus (UNAV): 16.0%; and Mayaro virus (MAYV): 1.1%. Evidence of infection by MADV and UNAV was found near the homes and they raise questions about the vector and the transmission cycle of these viruses in Panama. Insomnia, depression and general weakness were associated with MADV infection. Insomnia and dizziness were associated with VEEV infection. While dizziness was associated with UNAV infection. Endemic infections of MADV, VEEV and UNAV were found, with an increase in the last decade. The low number of additional neurological cases suggests that severe MADV and VEEV infections only account for a small proportion of infections in general. Our results suggest that Alphavirus infections have occurred more than 50 years in eastern Panama, but MADV and VEEV infections have recently increased, possibly during the last decade.

Resumen:26

MAMÍFEROS RESERVORIOS DE PATÓGENOS EN ÁREAS PROTEGIDAS DE PANAMÁ, 2000-2018

J. M. Montenegro¹, P. González¹, M. Ávila², J. Salazar¹, C. Justo¹, D. Moreno¹, A. Armien³, J. M. Pascale¹, B. Armién¹, EEH⁴

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud, ³Universidad de Minnesota y ⁴Equipo de Ecología de Hantavirus.

Las Áreas protegidas de Panamá cubren el 40% de la superficie del país, albergan aproximadamente 255 especies de mamíferos y de estas 54 especies son roedores

empero desconocemos cuales pueden ser los reservorios de patógenos causantes de diferentes zoonosis. El objetivo de este estudio fue identificar nuevas especies y subespecies de reservorios los cuales pueden servir para mantener en circulación agentes infecciosos en focos endémicos por largos períodos de tiempo. Se muestraron 20 sitios en áreas protegidas. Se colocaron aproximadamente 30,000 trampas/noches tipo Sherman(3x3x9") durante el periodo 2000-2018 el 95.7% fueron colocadas en ordenamiento cuadricular y adicionalmente colocamos 4 trampas Tomahawk (7x7x20") para la captura de mamíferos de mediano tamaño. Se realizaron pruebas serológicas para la detección de anticuerpos IgG contra hantavirus, encefalitis y cultivo de riñón de algunos individuos de diferentes especies para la identificación de *Leptospira* spp.

En este estudio se capturaron 1433 individuos agrupados en 29 especies, 7 familias y 2 órdenes desde la localidad de Jurutungo (PILA) hasta el Parque Nacional (PN) Darién. Los roedores de la familia Cricetidae fueron los más capturados. *Heteromys desmarestianus* de la familia Heteromyidae fue el de mayor distribución, colectado en 8 de los 20 sitios. Se detectó anticuerpos IgG contra hantavirus en las especie *Oligoryzomys fulvescens*, *Zygodontomys brevicauda* 7.4% (4/54) y 7.4% (4/54) y *Zygodontomys brevicauda* 5% (10/197) capturadas en Isla Cañas en Los Santos, PN Sarigua en Cañas en Los Santos, Sarigua NP en Herrera y PN Cerro Hoya en Veraguas; en Jurutungo y Hoya NP en Veraguas; en Jurutungo y Las Nubes, las especies *Reithrodontomys mexicanus* 29% (24/82), *R. creeper* 10% (7/70), *Peromiscus nudipes* 5.5% (6/109), *Transandinomys boliviensis* 5.5% (6/109, también se detectó presencia de anticuerpos IgG contra hantavirus. El 19% (31/164) de los *Transandinomys boliviensis* y el 8% (19/219) de los *Zygodontomys brevicauda* capturados en Darién fueron positivos por encefalitis. Los animales seleccionados

para identificación de *Leptospira* spp. No tuvieron crecimiento de espiroquetas. Documentamos por primera vez, la presencia del *O. fulvescens* por arriba de los 500 msnm en el PNGD Omar Torrijos Herrera el Copé provincia de Coclé. Los virus Choclo y Calabazo, cuyos reservorios son *O. fulvescens* y *Z. brevicauda*, respectivamente, han sido detectados en las áreas protegidas. La especie de hanta detectada en los *Reithrodontomys* y *Peromiscus nudipes*. Aún precisa por ser caracterizada genéticamente.

[MAMMAL RESERVOIR OF PATHOGENS IN PROTECTED AREAS OF PANAMA, 2000-2018]

They had no spirochete growth. We documented for the PTV. La comparación clínica entre los pacientes con first time. The presence of *O. fulvescens* above 500 PTV y con DENV no mostró diferencias significativas, meters above sea level in the PNGD Omar Torrijos Herrera el Copé province of Coclé. The Choclo and Calabazo viruses, whose reservoirs are *O. fulvescens* and *Z. brevicauda*, respectively, have been detected in the areas protected species of hanta detected in the *Reitrodontomys* and *Peromyscus nudipes*, it still needs to be genetically characterized.

solo que los pacientes con PTV tenían menos probabilidad de desarrollar exantema. Ningún paciente con PTV reportó síntomas severos. Varios casos fueron reportados en zonas urbanas, a pesar de que se consideraba un virus transmitido por picadas de *Lutzomyia* en zonas rurales o forestales. Desde 2014, se realiza por vigilancia la búsqueda de flebovirus y otros arbovirus en las

Resumen: 27

EL VIRUS DEL GRUPO PUNTA TORO: OTRO ARBOVIRUS BAJO EL PARAGUAS DEL DENGUE

JP Carrera¹, ND Gundacker², M Castillo¹, Y Díaz¹, D Beltrán¹, J Valenzuela¹, A Tamhane², B Moreno¹, JM Pascale¹, R B Tesh³, S. López- Vergès¹

¹ICGES, Panamá; ²University of Alabama at Birmingham, E.U.A.; ³University of Texas Medical Branch, E.U.A.

El diagnóstico diferencial de enfermedades febriles agudas similares a Dengue en las Américas se dificulta por la variedad de arbovirus y otros patógenos que pueden causarlas. La vigilancia epidemiológica y virológica en la región es necesaria para poder determinar la proporción de los diferentes agentes, detectar arbovirus emergentes o reemergentes, y caracterizar los síntomas y signos que estos puedan causar. De las muestras agudas de suero de pacientes sospechosos por dengue recibidas en el ICGES, alrededor de un 30% son negativas para el virus dengue (DENV). Por esta razón, realizamos un estudio retrospectivo en muestras sospechosas por dengue pero DENV negativas por laboratorio, recibidas entre 2008 y 2014, para buscar la presencia de otros arbovirus de los géneros flavivirus, alfavirus, flebovirus y ortobunyavirus, utilizando técnicas moleculares. Se analizaron alrededor de 200 muestras al año de todo el territorio nacional. Se detectó que durante la epidemia de dengue del 2009, co-circuló un virus del grupo Punta Toro (PTV) (género Flebovirus, familia *Bunyaviridae*) causando casos febriles. PTV fue descrito inicialmente en 1966, después de ser aislado de un soldado norteamericano en Panamá, que tenía fiebre, dolor de cabeza, mialgia y leucopenia. En los últimos años, los virus del grupo Punta Toro han sido secuenciados y caracterizados filogenéticamente, sin embargo, poco se sabe de los signos, síntomas y del curso clínico. Los virus detectados en el 2009 eran cercanos al virus Cocté del grupo

solo que los pacientes con PTV tenían menos probabilidad de desarrollar exantema. Ningún paciente con PTV reportó síntomas severos. Varios casos fueron reportados en zonas urbanas, a pesar de que se consideraba un virus transmitido por picadas de Lutzomyia en zonas rurales o forestales. Desde 2014, se realiza por vigilancia la búsqueda de flebovirus y otros arbovirus en las muestras negativas por dengue, lo que ha permitido detectar a PTV en pacientes febriles en el 2014, 2017 y 2018, lo que demuestra la importancia de la vigilancia virológica para detectar y monitorear arbovirus que causan enfermedad febril similar a dengue.

[THE VIRUS OF PUNTA TORO GROUP: ANOTHER ARBOVIRUS UNDER THE DENGUE UMBRELLA]

The differential diagnosis of acute febrile diseases similar to Dengue in the Americas is hampered by the variety of arboviruses and other pathogens that can cause them. Epidemiological and virological surveillance in the region is necessary to be able to determine the proportion of the different agents, detect emerging or reemerging arboviruses, and characterize the symptoms and signs that they may cause. Of the acute serum samples of patients suspected of dengue received in the ICGES, around 30% are negative for dengue virus (DENV). For this reason, we conducted a retrospective study on suspicious samples for dengue but negative DENV by laboratory, received between 2008 and 2014, to look for the presence of other arboviruses of the flavivirus, alphavirus, flebovirus and orthobunyavirus genera, using molecular techniques. Approximately 200 samples were analyzed per year from the entire national territory. It was detected that during the 2009 dengue epidemic, a virus from the Punta Toro group (PTV) (genus Flebovirus, family *Bunyaviridae*) co-circulated causing febrile cases. PTV was initially described in 1966, after being isolated from an American soldier in Panama, who had fever, headache, myalgia and leukopenia. In recent years, the viruses of the Punta Toro group have been sequenced and characterized phylogenetically, however, little is known about the signs, symptoms and clinical course. The viruses detected in 2009 were close to the Coclé virus of the PTV group. The clinical comparison between patients with PTV and with DENV did not show significant differences, only that patients with PTV were

less likely to develop rash. No patient with PTV reported severe symptoms. Several cases were reported in urban areas, despite the fact that a virus transmitted by Lutzomyia bites was considered in rural or forest areas. Since 2014, the search for fleboviruses and other arboviruses in negative samples for dengue has been carried out by surveillance, which has enabled the detection of PTV in febrile patients in 2014, 2017 and 2018, demonstrating the importance of virological surveillance to detect arboviruses that cause febrile illness similar to dengue.

portadas como NA1, que carecen de la inserción de 72 nucleótidos. En cuanto al análisis de cepas del grupo B (VHSH-B), 12 muestras agruparon en un clado monofilético separado con un valor de soporte de 0,92; cumpliendo con los criterios para ser considerados como BA14. Las otras seis cepas mostraron estar estrechamente relacionadas con los genotipos BA9, BA11, o el nuevo genotipo BA14. El desarrollo de vacunas contra el VRSH ha progresado durante medio siglo, dando un extraordinario número de candidatos vacunales, pero hasta la

Resumen: 28

GENOTIPOS EMERGENTES DEL VIRUS SINCITIAL RESPIRATORIO HUMANO EN NIÑOS < 5 AÑOS EN PANAMÁ

L Ábreo¹, A Delfraro³, D Franco^{1,2}, J Castillo¹, M Castillo¹, B Moreno¹, S López-Vèrges¹, J M Pascale^{1,2} y J Arbiza³

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud;

²Escuela de Medicina, Universidad de Panamá; ³Sección de Virología, Escuela de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

El virus respiratorio sincitial humano (VRSH) es un virus que afecta el sistema respiratorio bajo, ocasionando una infección respiratoria aguda grave (IRAG), principalmente en niños menores de 5 años; pero también afecta a adultos mayores y personas inmuno-comprometidas. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el VRSH es el principal virus causante de neumonías en niños menores de 5 años, enfermedad que ocupa el segundo lugar como causante de muerte en infantes a nivel mundial. El VRSH ha mostrado una alta variabilidad genética en su gen G, que codifica para la proteína de membrana, involucrada en la unión a la célula hospedera y esto ha generado la existencia de 42 genotipos descritos a la fecha. En este trabajo de investigación se realizó la caracterización molecular y análisis de variabilidad genética del virus VRSH aislados en Panamá, durante los años 2008-2012. Los genotipos encontrados tanto para el grupo A como para el B; presentaron una variante de 60 (BA) -72 (ON1) nucleótidos de inserción en el gen G.

adults and immunocompromised people. According to the World Health Organization (WHO), HRSV is the main virus causing pneumonia in children under 5 years of age, a disease that is the second cause of death in infants worldwide. The HRSV has shown a high genetic variability in its G gene, which codes for the membrane protein, involved in the binding to the host cell and this has generated the existence of 42 genotypes described to date. In this research work, the molecular characterization and analysis of genetic variability of HRSV isolated in Panama was carried out during the years 2008-2012. The genotypes found for both group A and group B; presented a variant of 60 (BA) -72 (ON1) insertion nucleotides in the G gene of this virus, worldwide reported as predominant emerging genotypes. The phylogenetic analysis showed that the strains of group A, mostly belonged to the genotype ON1, while a minority group was related to strains reported as NA1, lacking the insertion of 72 (BA) -72 (ON1) nucleotides. Regarding the analysis of strains of group B (HRSV-B), 12 samples were grouped in a separate monophyletic clade with a support value of 0.92; fulfilling the criteria to be considered a new genotype, which we call BA14. The other six strains showed to be closely related to genotypes BA9, BA11, or the

[EMERGING GENOTYPES OF HUMAN RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IN CHILDREN < 5 YEARS OLD IN PANAMA]

The human respiratory syncytial virus (HRSV) is a virus that affects the lower respiratory system, causing severe acute respiratory syndrome (SARS), mainly in children under 5 years old; but it also affects older adults and immunocompromised people. According to the World Health Organization (WHO), HRSV is the main virus causing pneumonia in children under 5 years of age, a disease that is the second cause of death in infants worldwide. The HRSV has shown a high genetic variability in its G gene, which codes for the membrane protein, involved in the binding to the host cell and this has generated the existence of 42 genotypes described to date. In this research work, the molecular characterization and analysis of genetic variability of HRSV isolated in Panama was carried out during the years 2008-2012. The genotypes found for both group A and group B; presented a variant of 60 (BA) -72 (ON1) insertion nucleotides in the G gene of this virus, worldwide reported as predominant emerging genotypes. The phylogenetic analysis showed that the strains of group A, mostly belonged to the genotype ON1, while a minority group was related to strains reported as NA1, lacking the insertion of 72 nucleotides. Regarding the analysis of strains of group B (HRSV-B), 12 samples were grouped in a separate monophyletic clade with a support value of 0.92; fulfilling the criteria to be considered a new genotype, which we call BA14. The other six strains showed to be closely related to genotypes BA9, BA11, or the

Resumen: 29

FILARIASIS EN PANAMÁ, 2013 AL 2016

L Samudio, R Salazar, J Pinzón, L Romero, G García, Y Samudio¹, F Ruíz¹, D Moreno¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES)

Las filariasis son un conjunto de enfermedades infec- sticks to Central and South America and is of great ciosas que afectan fundamentalmente al tejido linfáti- importance in Panama; This species is transmitted co y la piel. Están causadas por distintas especies de rough the bite of flies of the genus *Culicoides* and nematodos. El diagnóstico se basa en la demostra- does not present periodicity. In 1984, an article on ción de las microfilarias correspondientes en muestras Manzanellosis was presented to indigenous people li- de sangre o de piel. La *M. ozzardi* se ciñe a América ving along the Chucunaque-Darién River. To date the- Central y América del Sur y es de gran importancia en re are no new publications in this regard. The Panamá; esta especie se transmite mediante la pica- objective of this work is to present the prevalence of dura de moscas del género *Culicoides* y no presenta Filariasis in Panama from 2013 to 2016. These are periodicidad. En 1984, se presentó un artículo sobre cases obtained from samples sent to ICGES suspec- Manzanellosis en indígenas que habitaban a lo largo ted of malaria taken by vector technicians from 2013 del río Chucunaque-Darién. A la fecha no se cuenta to 2016. The following were included: Positive sam- con nuevas publicaciones al respecto. El objetivo de ples by Microfilmaría registered through the epidemi- este trabajo es presentar la prevalencia de Filariasis logical surveillance system of different health regions. en Panamá a partir del año 2013 hasta el 2016. Son The samples used were Gout thick with GIEMSA casos obtenidos de muestras enviadas al ICGES sos- stain, which were initially evaluated for suspicion of pechosas de malaria tomadas por los técnicos de Malaria and diagnosed with positive microfilariae, the vectores desde el año 2013 hasta el 2016. Se inclu- diagnosis was given by microscopic observation. Wit- yeron las muestras Positivas por Microfilmaría regis- tradas a través del sistema de vigilancia epi- trado. The male: female ratio was 2: 1, the age miológica de diferentes regiones de salud. Las mues- range ranged from 1 to 88 years. There is no lethality tras utilizada fueron de Gota gruesa con tinción rate. 57% of the cases presented fever. The most af- GIEMSA, las cuales inicialmente fueron evaluadas por fected regions were Panama, Embera-Waunan, Da- sospecha de Malaria y diagnosticadas con Microfila- rién, Wargandi. In Panama there is no record of rias positivas, el diagnostico se dio mediante observa- Microfilaria of importance. However, there is a need to ción microscópica. Dentro de este periodo se improve the collection of samples for laboratory analy- detectaron 108 casos positivos por Microfilaria. La re- sis, emphasize the creation of strategies to eliminate lación hombre:mujer fue de 2:1, el rango de edad os- filariasis and likewise give greater importance to the ciló entre 1 y 88 años . No se cuenta con tasa de search of cases of the same, so that this form there letalidad. El 57% de los casos presentaron fiebre. Las are more records epidemiological that allow us to es- regiones más afectadas fueron Panamá, Embera- tablish prevention strategies in the affected regions of Waunan, Darién, Wargandi. En Panamá no existe re- our country.

[FILARIASIS IN PANAMÁ: 2013 TO 2016]

Filariasis is a group of infectious diseases that mainly affect the lymphatic tissue and the skin. They are caused by different species of nematodes. The diagnosis is based on the demonstration of the corresponding microfilariae in blood or skin samples. *M. ozzardi* sticks to Central and South America and is of great importance in Panama; This species is transmitted through the bite of flies of the genus *Culicoides* and does not present periodicity. In 1984, an article on Manzanellosis was presented to indigenous people living along the Chucunaque-Darién River. To date there are no new publications in this regard. The objective of this work is to present the prevalence of Filariasis in Panama from 2013 to 2016. These are cases obtained from samples sent to ICGES suspected of malaria taken by vector technicians from 2013 to 2016. The following were included: Positive samples by Microfilmaría registered through the epidemiological surveillance system of different health regions. The samples used were Gout thick with GIEMSA stain, which were initially evaluated for suspicion of Malaria and diagnosed with positive microfilariae, the diagnosis was given by microscopic observation. Within this period, 108 positive cases were detected by Microfilaria. The male: female ratio was 2: 1, the age range ranged from 1 to 88 years. There is no lethality rate. 57% of the cases presented fever. The most affected regions were Panama, Embera-Waunan, Darién, Wargandi. In Panama there is no record of Microfilaria of importance. However, there is a need to improve the collection of samples for laboratory analysis, emphasize the creation of strategies to eliminate filariasis and likewise give greater importance to the search of cases of the same, so that this form there are more records epidemiological that allow us to establish prevention strategies in the affected regions of our country.

Resumen: 30

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO EPIDEMIOLÓGICO DE LA MALARIA EN LA REGIÓN DEL DARIÉN, PANAMÁ. 2015-2017

L Cáceres Carrera¹, C Riggs², AM Santa María², C Victoria³, J L Ramirez⁴, C Jackmans⁵, J Calzada⁶, R Torres¹.

¹Department of Medical Entomology, Gorgas Memorial Institute of Health Studies, Panama City, Panama. ²Department of Parasitology, Gorgas Memorial Institute of Health Studies. ³Malaria Program, Ministry of Health, Panama, ⁴Crop Bioprotection Research Unit, National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Peoria, Illinois, USA. ⁵Epidemiology Department of the Darién Region, Ministry of Health. ⁶Dirección de Investigación y Desarrollo Técnico, Gorgas Memorial Institute of Health Studies.

La malaria siempre ha sido endémica en la región del Darién, la evaluación de los diferentes factores que determinan la epidemiología de la malaria es crucial para el desarrollo de estrategias adecuadas de vigilancia, prevención y control de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar los factores eco-epidemiológicos asociados con la frecuencia y distribución de la transmisión de la malaria en la región de Darién. Se diseñó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal para determinar los principales factores asociados con la prevalencia, incidencia y distribución de la malaria en la región de Darién en el periodo 2015 a 2017. Evaluamos los indicadores malariométricos (incidencia parasitaria anual, índice de láminas positivas e índice anual de exámenes de muestras de sangre, la distribución de la enfermedad y la incidencia por grupo de edad y sexo, diagnóstico, tratamientos, las medidas de control y se examinó de forma general la actividad migratoria interfronteriza y su posible contribución en la distribución y mantenimiento de la malaria. Se concluye que los resultados de este estudio proporcionan una visión adicional sobre el comportamiento de la malaria en la región del Darién, se requieren mayores esfuerzos para intensificar la vigilancia para lograr un control efectivo y acercarse al objetivo de la eliminación de la malaria. Igualmente, se necesitan más estudios ecoepidemiológicos, entomológicos y migratorios para determinar como estos factores contribuyen en los patrones de transmisión, distribución y mantenimiento de la enfermedad.

[STUDY OF THE EPIDEMIOLOGICAL BEHAVIOR OF MALARIA IN THE DARIEN REGION, PANAMA. 2015-2017]

Malaria has always been endemic in the Darién region, and the evaluation of the different factors that determine the epidemiology of malaria is crucial for the development of adequate strategies for surveillance, prevention and control of the disease. The objective of this study was to determine the eco-epidemiological factors associated with the frequency and distribution of malaria transmission in the Darien region. An observational, descriptive, retrospective and cross-sectional study was designed to determine the main factors associated with the prevalence, incidence and distribution of malaria in the Darien region in the period 2015 to 2017. We evaluated the malariometric indicators (annual parasitic incidence, index of positive sheets and annual index of examinations of blood samples, the

distribution of the disease and the incidence by age group and sex, diagnosis, treatments, control measures and a general examination of the cross-border migration activity and its possible contribution in The distribution and maintenance of malaria It is concluded that the results of this study provide additional insight into the behavior of malaria in the Darien region, greater efforts are needed to intensify surveillance to achieve effective control and to approach the goal of the elimination of malaria. more ecoepidemiological, entomological and migratory studies to determine how these factors contribute to the patterns of transmission, distribution and maintenance of the disease.

Resumen: 31

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA INFECCIÓN CON *TRYPANOSOMA CRUZI* EN *DELPHIS MARSUPIALIS* DE DIFERENTES REGIONES DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

M C Collins¹, V Pineda², P González¹, B Armén¹, A Saldaña².

¹Departamento de Investigación de Enfermedades Emergentes y Zoonóticas, ²Departamento de Investigaciones en Parasitología. Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES). Panamá.

El parásito flagelado *Trypanosoma cruzi* es el responsable de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis

americana. Esta infección zoonótica es endémica en muchas regiones de la República de Panamá. La transmiten chinches hematófagos y tiene como principales reservorios a mamíferos silvestres. *Didelphis marsupialis* (zarigüeya común) es considerado el principal reservorio en nuestro país.

The flagellated parasite *Trypanosoma cruzi* is responsible for Chagas disease or American trypanosomiasis. This zoonotic infection is endemic in many regions of the Republic of Panama. It is transmitted by blood-sucking bugs and its main reservoirs are wild mammals. *Didelphis marsupialis* (common opossum) is considered the main reservoir in our country. The finding of these infected marsupials confirms the circulation of the parasite in a certain geographical area. The main objective of this study was to determine the prevalence of infection with *T. cruzi* in opossums captured in different regions of Panama. The capture of *D. marsupialis* was carried out using Sherman and Tomahawk traps with random distribution in several points of the province of Panamá Oeste. The sample was taken under anesthesia from the venous blood of the hind paw (3-5ml). In the provinces of Bocas del Toro, Colon, Herrera, Los Santos, Panamá, Coclé, Veraguas, Darién, Chiriquí, including the Ngäbe Buglé District, Tomahawk traps (2x2) were used where the mammals were sacrificed and the blood was obtained by intracardiac puncture. (3-5ml). In total, 30 samples were taken throughout the country. The molecular diagnosis of *T. cruzi* infection was made using the QIAamp DNA Mini and Blood kit for DNA extraction from 5-GGG TTC GAT TGG GGT TGG TGT. In 38% (62/163) of the blood samples analyzed, the presence of *T. cruzi* was detected. The prevalence varied from 8-52% according to the province. The provinces with the highest prevalence were Panamá Oeste [52% (12/23)], followed by Colón [48% (31/64)] and Coclé [44% (8/18)]. In the province of Los Santos and the Ngäbe Buglé comarca, it was only possible to capture one specimen in each site, both analyzes were negative. Sin embargo, los resultados confirman el papel de *D. marsupialis* como reservorio de *T. cruzi* en estas zonas y la circulación del parásito en áreas de las provincias de Panamá Oeste, Colón y Coclé en donde se reportan casos humanos de enfermedad de Chagas. Este tipo de vigilancia epidemiológica sirve de base para el establecimiento de medidas de prevención y control de la transmisión de *T. cruzi* en regiones geográficas particulares.

[MOLECULAR DIAGNOSIS OF INFECTION WITH TRYPANOSOMA CRUZI IN DIDELPHIS MARSUPIALIS FROM DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC OF PANAMA]

Resumen: 32

USO DEL GEN CITOCROMO B (CYT B) PARA LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES EN AISLADOS DE LEISHMANIA (VIANNIA), EN LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

M Dávila², A Saldaña¹, V Pineda¹, F Samudio¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,²Universidad de Panamá, Maestría en Microbiología Ambiental

La leishmaniasis tegumentaria es una zoonosis causada por el protozoo flagelado del género *Leishmania*, cuyo vector es un díptero hematófago del género *Lutzomyia* en el continente americano. En Panamá esta parasitosis alcanza una prevalencia estimada de 930 a 3000 nuevos casos anuales, lo que la convierte en un problema de salud pública. El desarrollo de técnicas moleculares para determinación de especie ha sido necesario debido a que los estadios de este parásito son morfológicamente indistinguibles entre especies. La determinación de especies es esencial para un tratamiento específico y hacer un pronóstico adecuado de la enfermedad. *L. panamensis* es el principal agente etiológico de Leishmaniasis en nuestro país, aunque se han reportado con menor frecuencia otras especies del subgénero *Viannia*. El gen del Citocromo b (Cytb), que se encuentra el en maxicírculo del cinetoplasto ha demostrado eficiencia para el análisis filogenético y la determinación de especies de *Leishmania* del Viejo y Nuevo Mundo. Por tratarse de un gen mitocondrial codificante para una subunidad enzimática que media la cadena respiratoria, esté cuenta con una región editada de aproximadamente (1087 bp). La cual varía entre diferentes especies del mismo subgénero, lo que le hace útil para la discriminación de especies; sin embargo, no se ha evaluado su potencial para discriminar y encontrar variación en la estructura poblacional de las especies del subgénero *Viannia*. Para este ensayo se efectuó un análisis *in silico*, mediante el cual se analizó por medio de la plataforma bioinformática Ugene las secuencias del subgénero *Viannia* disponibles en el GenBank con (1078 bp); se pudo constatar que un fragmento de aproximadamente (900 bp) posee regiones bien conservadas y regiones con suficiente variación para discriminar entre especies. Se diseñó una estrategia de PCR convencional utilizando iniciadores específicos para dicha región, se amplificaron y secuenciaron un total de 100 aislados de *Leishmania* procedente de la región Este y Oeste del país. Los resultados preliminares con el 77% de las ce-

pas, indican que el segmento del (Cytb) empleado en este estudio es capaz de discriminar las diferentes especies del subgénero *Viannia*, se logró identificar *L. braziliensis* y *L. guyanensis* en menor frecuencia, además de inferir variación de la estructura poblacional de aislados locales de *L. panamensis*.

[USE OF THE CYTOCHROME B (CYT B) GENE FOR THE DETERMINATION OF SPECIES IN ISOLATES FROM LEISHMANIA (VIANNIA), IN THE REPUBLIC OF PANAMA]

Tegumentary leishmaniasis is a zoonosis caused by the flagellated protozoan of the genus *Leishmania*, whose vector is a hematophagous diptera of the genus *Lutzomyia* in the Americas. In Panama, this parasitosis reaches an estimated prevalence of 930 to 3000 new cases per year, which makes it a public health problem. The development of molecular techniques for species determination has been necessary because the stages of this parasite are morphologically indistinguishable between species. The determination of species is essential for a specific treatment and to make an adequate prognosis of the disease. *L. panamensis* is the main etiological agent of Leishmaniasis in our country, although other species of the subgenus *Viannia* have been reported less frequently. The Cytochrome b (Cytb) gene, which is found in the kinetoplast maxicircle, has shown efficiency for the phylogenetic analysis and determination of *Leishmania* species of the Old and New World. Because it is a mitochondrial gene coding for an enzymatic subunit that mediates the respiratory chain, it has an unedited region of approximately (1087 bp). Which varies between different species of the same subgenus, which makes it useful for the discrimination of species; however, its potential to discriminate and find variation in the population structure of subgenus *Viannia* species has not been evaluated. For this test an *in silico* analysis was carried out, through which the sequences of the subgenus *Viannia* available in the GenBank were analyzed through the Ugene bioinformatics platform; it was found that a fragment of approximately (900 bp) has well conserved regions and regions with sufficient variation to discriminate between species. A conventional PCR strategy was designed using specific primers for said region, a total of 100 *Leishmania* isolates from the eastern and western regions of the country were amplified and sequenced. The preliminary results with 77% of the strains indicate that the segment of the (Cytb) used in this study is able to

discriminate the different species of the subgenus Viania, it was possible to identify *L. braziliensis* and *L. guyanensis* in a lower frequency, in addition to infer variation in the population structure of local isolates of *L. panamensis*.

Resumen: 33

PREDOMINIO DE LOS SUBTIPOS ST1Y ST3 DE BLASTOCYSTIS SP EN NIÑOS DE UNA COMUNIDAD RURAL EN PANAMÁ OESTE

M Perea¹, V Vásquez¹, V Pineda¹, F Samudio¹, J E Calzada¹, A Saldaña^{1,2}

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

(ICGES), ²Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias (CIDEP), Facultad de Medicina, Universidad de Panamá.

Blastocystis sp. es un parásito intestinal emergente, común en el hombre y animales en todo el mundo. A pesar de haber sido descubierto hace alrededor de 100 años y ser el parásito intestinal mayormente identificado en todo el planeta, la prevalencia y el impacto de esta infección en la salud pública de las comunidades rurales aún no está completamente determinado. Los análisis filogenéticos describen al menos 17 subtipos para este parásito, 9 de ellos se han encontrado en humanos. El objetivo de este estudio transversal fue evaluar la prevalencia, los subtipos y los factores epidemiológicos relacionados con la infección por *Blastocystis* en niños de una pequeña comunidad rural en el área central de Panamá. Para esto, se analizaron inicialmente 66 muestras fecales de niños (de 1 a 12 años) para determinar la presencia de parásitos mediante la técnica de formalina-acetato de etilo (Microscopía/concentración). La detección molecular (PCR) y la identificación de los subtipos de *Blastocystis*, se llevaron a cabo mediante amplificación y secuenciación de un fragmento parcial del gen de ARN ribosomal de subunidad pequeña. A través de una encuesta, se realizaron análisis de las condiciones epidemiológicas potencialmente asociadas con la transmisión de *Blastocystis*. El diagnóstico microscópico mostró que el 33,3% (22/66) de las muestras analizadas presentaron enteroparásitos. Entre los parásitos encontrados, *Blastocystis* sp fue el más frecuente con 21.2% (14/66), seguido de *Entamoeba histolytica/dispar complex* 4.5% (3/66), *Giardia lamblia* 1.5% (1/66) y *Strongyloides stercoralis* 1.5% (1/66). Sin embargo, los análisis basados en PCR detectaron una prevalencia de infección por *Blastocystis* del 74,2% (49/66) en niños

rentemente sanos. El análisis filogenético reveló dos subtipos diferentes de este parásito: ST1 con 42.2% (28/66) y ST3 con 31.8% (21/66). Estos subtipos se han reportado en países de América como Colombia, Brasil y también en países de Europa. No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la infección por *Blastocystis* y ninguna de las características epidemiológicas evaluadas durante la encuesta aplicada. Los resultados resaltan la alta sensibilidad para la detección de *Blastocystis* mediante la técnica de PCR como una alternativa potencial para su diagnóstico. Además, de la necesidad de investigar los cuadros clínicos de las infecciones por *Blastocystis* sp en esta comunidad, para evaluar su presencia en las fuentes de agua y el papel de los animales domésticos en la transmisión de este enteroparásito.

[PREDOMINITY OF THE BLASTOCYSTIS SUBTYPES ST1Y AND ST3 IN CHILDREN OF A RURAL COMMUNITY IN WEST PANAMA]

Blastocystis sp. is an emerging intestinal parasite, common in humans and animals throughout the world. Despite having been discovered around 100 years ago and being the most identified intestinal parasite in the entire planet, the prevalence and impact of this infection on the public health of rural communities is not yet completely determined. Phylogenetic analyzes describe at least 17 subtypes for this parasite, 9 of which have been found in humans. The objective of this cross-sectional study was to evaluate the prevalence, subtypes and epidemiological factors related to *Blastocystis* infection in children from a small rural community in the central area of Panama. For this, 66 fecal samples from children (from 1 to 12 years old) were initially analyzed to determine the presence of parasites by means of the formalin-ethyl acetate technique (Microscopy / concentration). Molecular detection (PCR) and identification of *Blastocystis* subtypes were carried out by amplification and sequencing of a partial fragment of the small subunit ribosomal RNA gene. Through a survey, analyzes of the epidemiological conditions potentially associated with *Blastocystis* transmission were conducted. The microscopic diagnosis showed that 33.3% (22/66) of the samples analyzed presented enteroparasites. Among the parasites found, *Blastocystis* sp was the most frequent with 21.2% (14/66), followed by *Entamoeba histolytica / dispar complex* 4.5% (3/66), *Giardia lamblia* 1.5% (1/66) and *Strongyloides stercoralis* 1.5% (1/66). However, PCR-

based analyzes detected a prevalence of *Blastocystis* zar la detección de anticuerpos contra MADV y VEEV. infection of 74.2% (49/66) in apparently healthy children. Con el propósito de controlar el nivel de la correlación espacial los datos a nivel de individuo se agruparon en pes of this parasite: ST1 with 42.2% (28/66) and ST3 223 hogares únicos, y determinamos la proporción de with 31.8% (21/66). These subtypes have been reported in countries of the Americas such as Colombia, Brazil and also in European countries. No statistically significant associations were found between the *Blastocystis* and any of the epidemiological characteristics evaluated during the applied survey. The results highlight the high sensitivity for the detection of *Blastocystis* using the PCR technique as a potential alternative for its diagnosis. In addition, the need to investigate the clinical pictures of *Blastocystis* sp infections in this community, to assess their presence in water sources and the role of pets in the transmission of this enteroparasite.

Resumen: 34

IMPlicaciones del uso de la tierra en la aparición del virus Madariaga en una región endémica del virus de la Encefalitis Equina Venezolana en Darién, Panamá

M Chen-Germán¹, B Armién¹, S C Weaver², AY Vittor⁴, JP Carrera¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas Estudios de la Salud;

²University of Texas Medical Branch, Galveston, TX;

³University of Florida, Gainesville, Florida

Antes de 2010, todas las pruebas sugerían que el virus Madariaga (MADV), antiguamente conocido como Encefalitis Equina del Este suramericana), no representaba una amenaza para la salud humana en América Latina. Sin embargo en el 2010, se produjo un aumento de casos de encefalitis humana en Panamá donde se asoció con el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (VEEV) endémico en Panamá y por primera vez con MADV nunca antes reportado en humanos. El análisis filogenético de MADV y VEEV aislados en este brote indicó que ambos virus eran de linajes enzoóticos previamente identificados en Panamá. Por lo que nuestra hipótesis es que los casos humanos de MADV en Panamá, son el resultado de los cambios ecológicos que se producen en esta área y aumentan el contacto del humano con el ciclo de transmisión enzoótica que todavía no está bien descrito para MADV. Para probar esta hipótesis en 2012, se realizó un estudio transversal en 700 personas en Darién y se tomó una muestra de sangre para reali-

zamos un análisis de múltiples variables mediante la regresión de Poisson. El modelo más parsimonioso se realizó con la adición de variables significativas a partir de un análisis univariado. Luego de estos análisis concluimos que las tierras de cultivo de pastos son un riesgo significativo para la exposición a MADV y los bosques secundarios y maduros son significativos para VEEV a nivel multivariado, mientras que el área poblada parece ser un factor protector tanto para la exposición a MADV como a la VEEV. Además se encontró que los hábitats de las especies de roedores coinciden con las áreas asociadas con el riesgo de infección humana, es posible que los ciclos de transmisión de estos dos virus difieran espacialmente ya que con estos resultados sugerimos que MADV ocupa un ciclo rural mientras que VEEV es un ciclo selvático.

[IMPLICATIONS OF THE USE OF THE LAND IN THE APPEARANCE OF THE MADARIAGA VIRUS IN AN ENDEMIC REGION OF THE VENEZUELAN EQUINE ENCEPHALITIS VIRUS IN DARIEN, PANAMA]

Before 2010, all the tests suggested that the Madariaga virus (MADV), formerly known as Eastern Equine Encephalitis of South America), did not represent a threat to human health in Latin America. However, in 2010, there was an increase in cases of human encephalitis in Panama where it was associated with the Venezuelan Equine Encephalitis virus (VEEV) endemic in Panama and for the first time with MADV never before reported in humans. The phylogenetic analysis of MADV and VEEV from enzootic strains previously identified in Panama. So our hypothesis is that the human cases of MADV in Panama, are the result of ecological changes that occur in this area and increase human contact with the enzootic transmission cycle that is not yet well described for MADV. To test this hypothesis in 2012, a cross-sectional study was conducted on 700 people in Darién and a blood sample was taken to detect antibodies against

MADV and VEEV. In order to control the level of spatial correlation, data at the individual level was grouped into 223 single households, and we determined the absolute area ratio of each category of land use / coverage within TM satellite 2012. Then we performed a multiple variable analysis using Poisson regression. The most parsimonious model was made with the addition of significant variables from a single variant. After these analyzes we conclude that pasture lands are a significant risk for exposure to MADV and secondary and mature forests are significant for VEEV at multivariate level, while the populated area seems to be a protective factor for both exposure to MADV as to the VEEV. It was also found that the habitats of the rodent species coincide with the areas associated with the risk of human infection. It is possible that the cycles of transmission of these two viruses differ spatially since with these results we suggest that MADV occupies a rural cycle while VEEV is a sylvan cycle.

Resumen: 35

PERFIL DE 16S MITOCONDRIAL DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* S.L. (ACARI:ICODIDAE) VINCULADO A UN CASO FATAL EN EL CORREGIMIENTO DE DON BOSCO, PANAMÁ

J Martínez-Mandiche¹, L Domingue.², C González.¹, B Moreno³, S Bermúdez.², A Martínez¹

¹Departamento de Genómica y Proteómica²Departamento de Investigación en Entomología Médica,³Departamento de Virología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

El complejo *Rhipicephalus sanguineus* tiene una distribución cosmopolita, que se extiende sobre diferentes continentes, con énfasis en países de elevada humedad. Es una especie de considerable importancia para la salud pública debido a que transmiten varios tipos de patógenos a perros y humanos. El objetivo del estudio fue la determinación del patógeno causante de una muerte en el corregimiento de Don Bosco en abril del 2017, y luego analizar el perfil microbiano en *Rhipicephalus sanguineus* usando metodología de secuenciación de última generación. Los datos fueron obtenidos en el lugar de residencia del caso analizado. Evaluamos garrapatas adultas ubicadas en paredes, ventanas, y cortinas del hogar. Los adultos se identificaron siguiente

el criterio taxonómico de Fairchild et al. 1966. El ADN fue extraído individualmente por garrapata. Las muestras fueron esterilizadas con etanol grado molecular y lavadas en solución PBS al 1x. Posteriormente, fueron extraídas por un método de purificación en columnas si-500 m, 1000 m) according to the image of the Landsat TM satellite 2012. Then we performed a multiple variable analysis using Poisson regression. The most parsimonious model was made with the addition of significant variables from a single variant. After these analyzes we conclude that pasture lands are a significant risk for exposure to MADV and secondary and mature forests are significant for VEEV at multivariate level, while the populated area seems to be a protective factor for both exposure to MADV as to the VEEV. It was also found that the habitats of the rodent species coincide with the areas associated with the risk of human infection. It is possible that the cycles of transmission of these two viruses differ spatially since with these results we suggest that MADV occupies a rural cycle while VEEV is a sylvan cycle.

Se realizaron 3 PCRs, una para detección de 16s mitocondrial, detección de genes OmpA de bacterias patógenicas y gltA de *Rickettsia spp*. Las muestras positivas a 16s seguidamente fueron secuenciadas con MiSeq V3 de Illumina y analizadas usando basespace. Se analizaron 50 garrapatas, en todas se obtuvo un fragmento parcial de 16S. La secuenciación proporcionó >10 millones de lecturas para la clasificación a nivel de reino hasta especie de las muestras analizadas. Excluyendo las especies no clasificadas, en el rango de clasificación por género, los 3 géneros abundantes fueron *Coxiella* 82.3% (n=7492971), *Rickettsia* 11.0% (n=10004821) y *Staphylococcus* 3.1% (n=282146). Al nivel de especie, *Rickettsia massiliiae* 31.9% (n=374881), *Rickettsia aeschlimannii* 19.2% (n=226438) y *Coxiella burnetii* 17.9% (n=210259). 16 otras especies clasificadas al nivel de género fueron detectadas. Estos análisis evidencian la circulación de diversas bacterias potencialmente patogénicas en las muestras analizadas. El alto porcentaje de organismos tipo-coxiella y *Coxiella burnetii* en las lecturas indican la necesidad de tomar a esta bacteria en cuenta en casos de enfermedad relacionada en humanos susceptible.

[6S MITOCHONDRIAL PROFILE FOR *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* S.L. (ACARI: ICODIDAE) LINKED TO A FATAL CASE IN THE CORREGIMIENTO OF DON BOSCO, PANAMA]

The *Rhipicephalus sanguineus* complex has a cosmopolitan distribution, which extends over different continents, with emphasis on high humidity countries. It is a species of considerable importance for public health because they transmit various types of pathogens to dogs and humans. The objective of the study was the determination of the pathogen causing a death in the village of Don Bosco in April 2017, and then to analyze the microbial profile in *Rhipicephalus sanguineus* using the latest generation sequencing methodology. The data was obtained in the place of residence of the case analyzed. We evaluated adult ticks located on walls, windows, and household curtains. Adults were identified following the taxonomic criteria of Fairchild et al. 1966. The DNA was extracted individually from ticks. The samples were sterilized with molecular grade ethanol and washed in PBS 1x. Subsequently, they were extracted using a purification method in columns si-500 m, 1000 m) according to the image of the Landsat TM satellite 2012. Then we performed a multiple variable analysis using Poisson regression. The most parsimonious model was made with the addition of significant variables from a single variant. After these analyzes we conclude that pasture lands are a significant risk for exposure to MADV and secondary and mature forests are significant for VEEV at multivariate level, while the populated area seems to be a protective factor for both exposure to MADV as to the VEEV. It was also found that the habitats of the rodent species coincide with the areas associated with the risk of human infection. It is possible that the cycles of transmission of these two viruses differ spatially since with these results we suggest that MADV occupies a rural cycle while VEEV is a sylvan cycle.

Se realizaron 3 PCRs, una para detección de 16s mitocondrial, detección de genes OmpA de bacterias patógenicas y gltA de *Rickettsia spp*. Las muestras positivas a 16s seguidamente fueron secuenciadas con MiSeq V3 de Illumina y analizadas usando basespace. Se analizaron 50 garrapatas, en todas se obtuvo un fragmento parcial de 16S. La secuenciación proporcionó >10 millones de lecturas para la clasificación a nivel de reino hasta especie de las muestras analizadas. Excluyendo las especies no clasificadas, en el rango de clasificación por género, los 3 géneros abundantes fueron *Coxiella* 82.3% (n=7492971), *Rickettsia* 11.0% (n=10004821) y *Staphylococcus* 3.1% (n=282146). Al nivel de especie, *Rickettsia massiliiae* 31.9% (n=374881), *Rickettsia aeschlimannii* 19.2% (n=226438) y *Coxiella burnetii* 17.9% (n=210259). 16 otras especies clasificadas al nivel de género fueron detectadas. Estos análisis evidencian la circulación de diversas bacterias potencialmente patogénicas en las muestras analizadas. El alto porcentaje de organismos tipo-coxiella y *Coxiella burnetii* en las lecturas indican la necesidad de tomar a esta bacteria en cuenta en casos de enfermedad relacionada en humanos susceptible.

nomic criteria of Fairchild et al. 1966. The DNA was extracted individually by tick. The samples were sterilized with molecular grade ethanol and washed in 1x PBS solution. Subsequently, they were extracted by a column purification method following the manufacturer's protocol (QIAGEN) for tissue. Three PCRs were carried out, one for the detection of mitochondrial 16S, the detection of OmpA genes of pathogenic bacteria and the gltA of *Rickettsia* spp. The positive samples at 16S were then sequenced with Illumina's MiSeq V3 and analyzed using basespace. Fifty ticks were analyzed, all of them obtained a fragment for 16S. The sequencing provided > 10 million readings for the classification at the kingdom level up to species of the samples analyzed. Excluding unclassified copies, in the rank of classification by gender, the 3 abundant genera were *Coxiella* 82.3% (n = 7492971), *Rickettsia* 11.0% (n = 10004821) and *Staphylococcus* 3.1% (n = 282146). At the species level, *Rickettsia massiliae* 31.9% (n = 374881), *Rickettsia aeschlimannii* 19.2% (n = 226438) and *Rickettsia burnetii* 17.9% (n = 210259). 16 other species classified at the genus level were detected. These analyses show the circulation of several potentially pathogenic bacteria in the samples analyzed. The high percentage of coxiella-type organisms and *Coxiella burnetii* in the readings indicate the need to take this bacterium into account in cases of susceptible human-related disease.

lomielitis aguda son complicaciones conocidas, pero ZIKV asociada a cerebelitis o la respuesta inmune de ZIKV aún no se ha informado en la literatura. Presentamos un caso de cerebelitis en una paciente de la región de Guna Yala infectada con ZIKV con una posible infec- ción de DENV previa, sin historial médico desarrollado. La paciente desarrolló cefalea frontal severa y vértigo en el tercer día de enfermedad, disartria y ataxia. Fue trasladada al Hospital Santo Tomás en la ciudad de Panamá en el quinto día y después de una semana de hospitalización la paciente se recuperó por completo. En el momento de la presentación con dolor de cabeza, dificultad para caminar y hablar, erupción macular, y mareos. En el examen estaba alerta y orientada con exámenes cardio-vasculares normales, sin embargo, se realizó un examen neurológico que reveló disartria, disdiadococinesia, inestabilidad y signo de Babinski positivo a la izquierda, marcha inestable y signo de Romberg positivo. El diagnóstico fue compatible debido a la detección de anticuerpos contra el virus de dengue, lo que sugiere una infección secundaria por flavivirus. En el día 8, el ARN de ZIKV se detectó mediante qRT-PCR en suero, y ambos se detectaron y cultivaron en la orina el día 9. DENV, CHIKV, alfavírus y las pruebas moleculares de flebovírus fueron negativas en todas las muestras. Las pruebas moleculares indicaron infección activa por ZIKV. La RT-PCR para ZIKV en suero y orina es altamente específica, lo que sugiere una asociación entre la infección por ZIKV y los síntomas neurológicos observados. No está claro si la cerebelitis descrita fue causada por el ZIKV en sí mismo o por la respuesta inmune inducida por la infección.

Resumen: 36

INFORME DE CASO: CEREBELITIS ASOCIADA CON EL VIRUS DEL ZIKA CON RECUPERACIÓN CLÍNICA COMPLETA

M R Pachar^{1*}, D Araúz^{2*}, N D Gundacker³, M Suárez¹, J A Suárez², B Moreno², S López-Vérges²- AB Araúz^{1,3}

¹. Hospital Santo Tomás, Ciudad de Panamá, Panamá.². Gorras Memorial Institute of Health Studies, Ciudad de Panamá, Panamá³. Colegio Médico de Wisconsin, Milwaukee, WI.

ZIKV es un Flavivirus, familia Flaviviridae, que se detectó por primera vez en las Américas en 2015. Los primeros 50 casos confirmados por ZIKV informados en Panamá ocurrieron en una comunidad indígena ubicada en la región de Guna Yala en el lado del Caribe cerca de Colombia en noviembre de 2015. En estos momentos DENV y CHIKV co-circulaban en esa región. ZIKV se manifiesta típicamente con erupción difusa, fiebre y conjuntivitis. Puede causar microcefalia congénita y Síndrome de Guillain-Barré (GBS), sin embargo, otras manifestaciones neurológicas como encefalitis y encefalitis aguda son complicaciones conocidas, pero ZIKV asociada a cerebelitis o la respuesta inmune de ZIKV aún no se ha informado en la literatura. Presentamos un caso de cerebelitis en una paciente de la región de Guna Yala infectada con ZIKV con una posible infec- ción de DENV previa, sin historial médico desarrollado. La paciente desarrolló cefalea frontal severa y vértigo en el tercer día de enfermedad, disartria y ataxia. Fue trasladada al Hospital Santo Tomás en la ciudad de Panamá en el quinto día y después de una semana de hospitalización la paciente se recuperó por completo. En el momento de la presentación con dolor de cabeza, dificultad para caminar y hablar, erupción macular, y mareos. En el examen estaba alerta y orientada con exámenes cardio-vasculares normales, sin embargo, se realizó un examen neurológico que reveló disartria, disdiadococinesia, inestabilidad y signo de Babinski positivo a la izquierda, marcha inestable y signo de Romberg positivo. El diagnóstico fue compatible debido a la detección de anticuerpos contra el virus de dengue, lo que sugiere una infección secundaria por flavivirus. En el día 8, el ARN de ZIKV se detectó mediante qRT-PCR en suero, y ambos se detectaron y cultivaron en la orina el día 9. DENV, CHIKV, alfavírus y las pruebas moleculares de flebovírus fueron negativas en todas las muestras. Las pruebas moleculares indicaron infección activa por ZIKV. La RT-PCR para ZIKV en suero y orina es altamente específica, lo que sugiere una asociación entre la infección por ZIKV y los síntomas neurológicos observados. No está claro si la cerebelitis descrita fue causada por el ZIKV en sí mismo o por la respuesta inmune inducida por la infección.

[CASE REPORT: CEREBELITIS ASSOCIATED WITH THE ZIKA VIRUS WITH COMPLETE CLINICAL RECOVERY]

ZIKV is a Flavivirus, family Flaviviridae, which was first detected in the Americas in 2015. The first 50 cases confirmed by ZIKV reported in Panama occurred in an indigenous community located in the region of Guna Yala on the Caribbean side near Colombia in November 2015. At the moment DENV and CHIKV co-circulated in that region. ZIKV typically manifests with diffuse rash, fever and conjunctivitis. It can cause congenital microcephaly and Guillain-Barré syndrome (GBS), however, other neurological manifestations such as encephalitis and acute encephalomyelitis are known complications, but of ZIKV has not yet been reported in the literature. We

present a case of cerebellitis in a patient from the region of Guna Yala infected with ZIKV with a possible previous DENV infection, without a developed medical history. The patient developed severe frontal headache and vertigo on the third day of illness, dysarthria and ataxia. She was transferred to the Santo Tomás Hospital in the city of Panama on the fifth day and after a week of hospitalization the patient recovered completely. On admission he presented with headache, difficulty walking and speaking, macular rash, and dizziness. During the examination, she was alert and oriented with normal cardiovascular, pulmonary and abdominal examinations, however, her neurological examination revealed dysarthria, dysdiadochokinesia, positive Babinski's sign on the left, unstable gait and positive Romberg sign. The diagnosis was complicated due to the detection of antibodies against dengue, which suggests a secondary infection by flavivirus. On day 8, ZIKV RNA was detected by qRT-PCR in serum, and both were detected and cultured in the urine on day 9. DENV, CHIKV, alphavirus and molecular tests of fleboviruses were negative in all samples. Molecular tests indicated active ZIKV infection. The RT-PCR for ZIKV in serum and urine is highly specific, suggesting an association between ZIKV infection and the observed neurological symptoms. It is not clear whether the described cerebellitis was caused by ZIKV itself or by the immune response induced by the infection.

Resumen: 37

DETERMINACIÓN DE LAS FUENTES DE ALIMENTACIÓN DE MOSQUITOS EN LAS ÁREAS URBANAS DE PANAMÁ

N Batista¹, B Henríquez¹, A Castro¹, N Ríos², N Sandoval², A Valderrama¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,²Universidad de Panamá

La identificación de fuentes alimenticias en insectos hematófagos da información sobre capacidad vectorial, patrones de alimentación y datos de posibles reservorios de enfermedades. Se usan técnicas de identificación como coaglutinación, prueba de precipitina y técnicas moleculares. La reacción en cadena de polimerasa (PCR) del gen mitocondrial citocromo b (cyt b), conocida como PCR Blood Meal, ha mostrado alta sensibilidad y especificidad, detectando e identificando otras especies de vertebrados. Los mosquitos tienen la habilidad de mezclar sangre de diferentes fuentes para obtener los nutrientes necesarios para su reproducción. En zonas rurales hay mayor variedad de alimento, comparada a zonas urbanas en donde las fuentes de alimentación son limitadas. Esto conlleva a la búsqueda de fuentes más nutritivas en el entorno.

Nuestra propuesta fue detectar las fuentes de alimentación de mosquitos de áreas urbanas de la Ciudad de Panamá que puedan ser posibles reservorios de enfermedades. Se realizaron colectas en diferentes áreas urbanas de ciudad Panamá, lográndose 68 grupos de mosquitos hembras grávidas con sangre (aproximadamente 40 mosquitos por grupo), de las especies *Culex quinquefasciatus*, *Culex interrogator* y *Aedes aegypti*; las cuales se procesaron para la extracción de ADN y se analizaron mediante PCR Blood Meal. Primero, se realizó la construcción de una escalera de controles positivos a través de la colecta de sangre de mamíferos domésticos como perro, vaca, cabra, cerdo y humano, para la extracción de su ADN, los cuales fueron diluidos seriadamente para la amplificación del cyt b, hasta obtener amplicones legibles en la escalera. Con la escalera obtenida se comenzaron los análisis de cada grupo de mosquitos, de los cuales se encontró aproximadamente un 40% de preferencia por la sangre de caninos domésticos y un 20% para sangre humana, mostrando a *Culex quinquefasciatus* como la especie zoofílica en áreas urbanas y *Aedes aegypti* con preferencia a la sangre humana. Concluyendo, se presume que los perros podrían ser un tipo de reservorio en el ciclo de transmisión de arbovirosis en zonas urbanas. Se propone un posterior análisis de muestras de caninos domésticos que presenten síntomas febriles reportados por una clínica veterinaria, para determinar si la hipótesis de este reservorio es plausible.

[DETERMINATION OF MOSQUITO FOOD SOURCES IN URBAN AREAS OF PANAMA]

The identification of food sources in hematophagous insects gives information on vectorial capacity, feeding patterns and data of possible reservoirs of diseases. Identification techniques such as coagglutination, precipitin test and molecular techniques are used. The polymerase chain reaction (PCR) for the mitochondrial cytochrome b (cyt b) gene, known as PCR Blood Meal, has shown high sensitivity and specificity, detecting and identifying other vertebrate species. Mosquitoes have the ability to mix blood from different sources to obtain the nutrients necessary for their reproduction. In rural areas there is a greater variety of food, compared to urban areas where sources of food are limited. This leads

to the search for more nutritive sources in the environment. Our proposal was to detect the feeding sources of mosquitoes from urban areas of Panama City that could be possible reservoirs of diseases. Collections were made in different urban areas of Panama City, obtaining 68 groups of female mosquitoes gravid with blood (approximately 40 mosquitoes per group), of the species *Culex quinquefasciatus*, *Culex interrogator* and *Aedes aegypti*; which were processed for DNA extraction and analyzed by PCR Blood Meal. First, the construction of a ladder of positive controls through the collection of blood of domestic mammals such as dog, cow, goat, pig and human, for the extraction of their DNA, which were diluted serially for the amplification of the cyt b, until legible amplicons are obtained on the ladder. With the obtained ladder the analysis of each group of mosquitoes was started, of which approximately 40% was found preferably by the blood of domestic canines and 20% for human blood, showing *Culex quinquefasciatus* as the zoophilic species in urban areas and *Aedes aegypti* in preference to human blood. Concluding, it is presumed that dogs could be a type of reservoir in the transmission cycle of arbovirosis in urban areas. We propose a subsequent analysis of samples of domestic canines that present febrile symptoms reported by a veterinary clinic, to determine if the hypothesis of this reservoir is plausible.

Resumen: 38

LOS ROEDORES EN PANAMÁ, DIVERSIDAD Y SU INFLUENCIA EN LA SALUD HUMANA

P González¹, M Ávila², E Broce², J Salazar-Bravo³, L Ruedas⁴, G Suzan⁴, D González¹, A G Armien⁵, J Pascale², J Dunnum⁴, J Cook⁴, T Yates⁴, B Armién¹, EEH⁵

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud, ³Universidad de Texas Tech, ⁴Universidad de Nuevo México, ⁵Universidad de Minnesota, y

⁶Equipo de Ecología de Hantavirus.

Diversos autores coinciden que en nuestro país la componen existen 54 especies de roedores. Debido a la aparición de casos de neumonías atípicas durante el año 2000, los estudios en este grupo se intensificaron con el fin de dar respuesta a los casos presentados en la provincia de Los Santos. A medida que las investigaciones avanzaban, aparecieron nuevos casos de en Veraguas, Coclé, Panamá y Bocas del Toro. Por tales motivos, se estableció como objetivo caracterizar la ecología de los roedores en Panamá. Trampas Sherman

fueron colocadas en un sistema cuadricular de 10x10 cubriendo una hectárea; así como al azar y transeptos lineales en áreas boscosas, rurales, urbanas en zona continental y las islas Coiba y Cébaco. Respetando las normas de bioseguridad, los animales fueron sacrificados siguiendo las normas bioéticas de manejo y se colectaron muestras de sangre y tejidos. Las muestras fueron conservadas en nitrógeno líquido y las carcassas preservadas en etanol al 95%. Se realizó cultivo de riñón de algunos individuos de diferentes especies para la identificación de *Leptospira sp*. Se realizaron pruebas serológicas en los roedores para identificar IgG contra hantavirus. Se incluyeron 148 localidades, 44 distritos, 11 provincias y una comarca. Del total de especies identificadas para Panamá, en el periodo comprendido entre 2000 y 2019, hemos capturado 36 especies, dos de las cuales aún no han sido descritas (una capturada en Cerro Hoya y otra en Isla Coiba). De estas capturas logramos identificar 18 especies en la provincia de Los Santos, 17 en Veraguas y Chiriquí; 16 en Coclé; 15 en Panamá; 12 en Darién; 11 en Bocas del Toro; 9 en Colón y Herrera; y 5 en la Comarca Ngabe Bugle. El *R.r. rattus*, *Z. brevicauda* y *O. fulvescens*, son las especies con mayor distribución nacional. Las especies más abundantes fueron el *Z. brevicauda* (58.9%), *S. hirsutus* (13.4%), *L. adspersus* (10.4%) y *O. fulvescens* (10.1%). Siete especies de roedores han sido IgG positivo a Hantavirus de los cuales sólo dos virus han sido secuenciados. La diversidad se ha visto afectada por causas antropogénicas dependiendo del agroecosistema y esto posiblemente explique la aparición de enfermedades zoonóticas como es el caso del hantavirus en Panamá.

[RODENTS IN PANAMA, DIVERSITY AND ITS INFLUENCE ON HUMAN HEALTH]

Several authors agree that there are 54 species of rodents in our country. Due to the appearance of cases of atypical pneumonias during the year 2000, studies in this group were intensified in order to respond to the cases presented in the province of Los Santos. As the investigations progressed, new cases appeared in Veraguas, Coclé, Panamá and Bocas del Toro. For these reasons, the objective was to characterize the ecology of rodents in Panama. Sherman traps were placed in a 10x10 grid system covering one hectare; as well as random and linear transects in forested, rural, urban areas in continental zone and the islands Coiba and Cébaco. Respecting the biosecurity norms, the animals were sacrificed following the

Resumen: 39

OLIGORYZOMYS FULVESCENTS RESERVO- RIO DEL VIRUS CHOCLO: FILOGENIA Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL EN PANAMÁ

P Gonzalez¹, T Salinas¹, J Salazar¹, Y Mendoza¹, J Dunn-
num², J Cook², E Pile³, A Armien⁴, M Avila⁵, G Glass⁶, B Ar-
mién¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud.

²University of New Mexico, ³Universidad de Panamá, ⁴University of Minnesota, ⁵Ministerio de Salud, ⁶University of Florida

El *Oligoryzomys fulvescens* reservorio del virus Choclo que produce Síndrome Pulmonar por Hantavirus, identificado en el año 2000 en la Provincia de Los Santos. Nuestro objetivo fue determinar la distribución espacial y filogenia del *Oligoryzomys fulvescens*, adicionalmente se realizó un análisis de filogenia del CHOV en su reservorio y humanos. Se realizaron capturas con trampas Sherman en diversos hábitats a nivel nacional (2000-2018), a cada individuo capturado se le tomó muestra de sangre y tejidos. Utilizamos inmunoblot para la de-

tección de anticuerpos IgG contra hantavirus. Para la filogenia realizamos PCR en tiempo final y secuenciamos el citocromo b de la especie de roedor y el segmento S para el CHOV en muestras de roedores y humanos. Utilizamos el Arc Gis10.3 para generar los mapas de distribución. De los 817 *O. fulvescens* capturados el 62% fueron machos. El porcentaje de captura por tipo de hábitat fue mayor en el pasto con 38.3%, área de cultivo con 28.5% y área doméstica 25.8%. El 15,5% (118/763) de los individuos analizados reaccionaron positivamente a la prueba de inmunoblot de los cuales el 75,4% (89/118) fueron machos. Respecto a los hábitats con mayor prevalencia de infección, fueron los cultivos 21.2% (47/) y el más bajo fue el rastrojo con 10.7% (3/28). Ecológicamente es una especie de tierras bajas, el 92% capturada por debajo de 100 msnm, que coinciden con áreas de alta influencia antropogénica y cuyos hábitats predominantes son pastizales, cultivos, rastrojos y áreas domésticas. La distribución espacial de esta especie se ha ampliado al este de Panamá, encontrándose en la provincia de Darién ($n = 5$) y la distribución del oeste en la provincia de Bocas del Toro ($n = 9$). Se determinó que la especie *Oligoryzomys fulvescens* no tiene variación genética en el gen del citocromo b, por lo tanto, todos los individuos secuenciados corresponden a la misma especie. Tampoco hubo variación genética del CHOV en Panamá en su reservorio ni en humanos. El área endémica de CHOV coincide con el sitio de gran influencia antropogénica en las provincias de Coclé, Herrera, Los Santos y Veraguas, por lo tanto, en esta zona existe mayor riesgo de infección de este virus a humanos.

[OLIGORYZOMYS FULVESCENS VIRUS CHOCLO RESERVOIR: FILOGENIA AND SPATIAL DISTRIBUTION IN PANAMA]

The *Oligoryzomys fulvescens* reservoir of the Choclo virus that produces Hantavirus Pulmonary Syndrome, identified in the year 2000 in the Province of Los Santos. Our objective was to determine the spatial distribution and phylogeny of *Oligoryzomys fulvescens* in its reservoir and humans was carried out. Captures were made with Sherman traps in various habitats nationwide (2000-2018), each individual captured was taken blood and tissue samples. We use immunoblot for the detection of IgG antibodies against hantavirus. For phylogeny, we performed PCR in the final time and sequenced the cytochrome b of the rodent species and the S segment for the CHOV in

rodent and human samples. We use the Arc Gis10.3 to generate the distribution maps. Of the 817, *O. fulvescens* 2010 se dieron avances, pero aún persiste la falta de in-captured 62% were males. The percentage of capture by type of habitat was greater in the pasture with 38.3%, area of cultivation with 28.5% and domestic area 25.8%. Vigilancia de PNH y mejorar la red de vigilancia integral 15.5% (118/763) of the individuals analyzed reacted positively to the immunoblot test, of which 75.4% (89/118) were male. Regarding the habitats with the highest prevalence of infection, the crops were 21.2% (47 /) and the lowland west was stubble with 10.7% (3/28). Ecologically, it is kind of predominant habitats with pastures, crops, and domestic areas. The spatial distribution of this species has been extended to the east of Panama, found in the province of Darién (n = 5) and west into the province of Bocas del Toro (n = 9). It was determined that the species *Oligoryzomys fulvescens* does not have genetic variation in the cytochrome b gene, therefore, all the individuals sequenced correspond to the same species. There was also no genetic variation of the CHOV in its reservoir or in humans. The endemic area of CHOV coincides with the site of great anthropogenic influence in the provinces of Coclé, Herrera, Los Santos and Veraguas, therefore, in this area there is a greater risk of infection of this virus in humans.

termitente y en ocasiones limitada. En el periodo 2000-2010 se dieron avances, pero aún persiste la falta de información en áreas sensitivas. Desde el 2014, el MINSA establece el objetivo de fortalecer la área de vigilancia integral 15.5% (118/763) of the individuals analyzed reacted positively to the immunoblot test, of which 75.4% (89/118) were male. Regarding the habitats with the highest prevalence of infection, the crops were 21.2% (47 /) and the lowland west was stubble with 10.7% (3/28). Ecologically, it is kind of predominant habitats with pastures, crops, and domestic areas. The spatial distribution of this species has been extended to the east of Panama, found in the province of Darién (n = 5) and west into the province of Bocas del Toro (n = 9). It was determined that the species *Oligoryzomys fulvescens* does not have genetic variation in the cytochrome b gene, therefore, all the individuals sequenced correspond to the same species. There was also no genetic variation of the CHOV in its reservoir or in humans. The endemic area of CHOV coincides with the site of great anthropogenic influence in the provinces of Coclé, Herrera, Los Santos and Veraguas, therefore, in this area there is a greater risk of infection of this virus in humans.

de la FA y otros arbovirus en Darién. Método: Capacitativamente a la formación en áreas sensitivas, se evaluaron las fichas de personal del DIEEZ-ICGES, se realizaron giras exploratorias a puestos de salud evaluados y seleccionados previamente, se capacitó al personal en la Vigilancia Pasiva, en el uso de la nueva ficha de notificación, identificación en campo de los PNH, uso de dispositivos de georreferenciación y en la toma de muestras de tejidos en caso de que se registre una muerte de primates, se le entregó de que se registre una muerte de primates, se le entregó equipos (GPS, binoculares, insumos para la toma de muestras) y se realiza supervisión capacitante y auditiva de las autoridades locales. Resultados: Se capacitó a 41 personas (asistentes, vectores y voluntarios) en tres áreas de Darién: Grupo Cémaco, Grupo Santa Fe y Grupo Tuira Arriba. En el periodo 2016-2018 se han recibido un total de 2344 fichas de notificación, esto abarca 7693 notificaciones de caciones de primates, distribuidos en las siguientes especies: *Alouatta palliata* (67%), *Saguinus geoffroyi* (28%), *Cebus capucinus* (2%), *Aotus zonalis* (1%) y *Ateles fusciceps* (0.9%). Conclusión: Es importante destacar que durante el periodo 2016-2018, la red vigilancia pasiva de PNH establecida en Darién no ha notificado casos de PNH enfermos, ni muertos en ausencia de violencia en las distintas áreas. Hemos logrado fortalecer la red de vigilancia de PNH, sin embargo, para que la implementación de esta sea de manera sostenible, es necesario de recursos que aseguren su éxito a futuro.

Resumen: 40

FIEBRE AMARILLA: VIGILANCIA PASIVA DE PRIMATES NO HUMANOS EN DARIÉN, 2015-2018

P Gutiérrez¹, P González¹, JF Tello², J Garzón¹, E Juárez¹, JM Montenegro¹, J Pineda¹, C Cubilla², E de León², S Vega², J Valencia², M Quintana², H Cedeño², E Dos Santos³, M Barreto de Almeida³, B Armién¹, Equipo de Vigilancia integral de la Fiebre Amarilla.

¹ICCES-DIEEZ Panamá, ²Ministerio de Salud, Panamá, ³Secretaría de Salud, Estado de Rio Grande do Sul, Brasil.

Introducción: La Fiebre amarilla (FA) es una zoonosis propia de algunas regiones tropicales de América del Sur y África, siendo la mayoría de los primates no humanos (PNH) neotropicales susceptibles a ella. Desde los 90s el Ministerio de Salud (MINSA) lleva a cabo el seguimiento de la vigilancia de PNH en regiones prioritarias. En el 2004, el MINSA publica la guía operativa integral para el abordaje de la FA. Donde aparece la ficha de notificación semanal que se utilizó hasta 2015, sin embargo, esta información se recibió de manera intermitente y sometimes limited. In the 2000-2010 period, progress was made, but the lack of information in sensitive areas still persists. Since 2014, the MINSA-IC-

Introduction: Yellow fever (YF) is a zoonosis typical of some tropical regions of South America and Africa, being the majority of neotropical primates (NHP) susceptible to it. Since the 90s, the Ministry of Health (MINSA) carries out monitoring of NHP surveillance in prioritized regions. Where the weekly notification form that was used until 2015 appears, however, this information was received intermittently and sometimes limited. In the 2000-2010 period, progress was made, but the lack of information in sensitive areas still persists. Since 2014, the MINSA-IC-

GES has established the objective of strengthening the NHP Surveillance and improving the comprehensive surveillance network of YF and other arboviruses in Darién. Method: Training of DIEEZ-ICGES personnel, the selected, personnel were trained in Passive Surveillance, in the use of the new notification form, identification in the field of the NHP, use of georeferencing devices and in the sampling of tissues in case of a death of primates, was given equipment (GPS, binoculars, supplies for sampling) and performs training supervision and on-site audits. Results: 41 people (assistants, vectors and volunteers) were trained in three areas of Darién: Grupo Cémaco, Grupo Santa Fe and Grupo Tuira Arriba. In the 2016-2018 period, a total of 2344 notification cards were received, this includes 7693 notifications of primates, distributed in the following species: *Alouatta palliata*, *Saguinus geoffroyi*, *Cebus capucinus*, *Aotus zonalis* and *Atelopus fusciceps*. Conclusion: It is important to highlight that during the 2016-2018 period, the NHP passive surveillance network established in Darién has not reported cases of sick PNH or deaths in the absence of violence in the different areas. We have managed to strengthen the NHP surveillance network, however, so that the implementation of this is sustainable, resources are necessary to ensure its success in the future.

po. La radiotelemetría es una de las técnicas utilizadas en biología para conocer, el ámbito hogareño y de acción, movimientos estacionales, y etología. Los animales seleccionados se les colocó alrededor del cuello un transmisor de 2.0 gramos de peso para después ser liberados en su ambiente de captura respectivo. Monitoreamos durante 3-7 noches a intervalos de 30 minutos en promedio de seis horas por noche. La señal captada por el receptor, ubica la posición del animal, la cual es señalada con una marca en el terreno. Caracterizamos altura y espesura de la vegetación, tipo de cultivo y suelo. Toda la información fue registrada en formularios para su posterior tabulación y análisis. Los individuos fueron recapturados para retirar el collar y dejados en libertad. Los datos de mación fueron registrados en formularios para su posterior tabulación y análisis. Los individuos fueron recapturados para retirar el collar y dejados en libertad. Los datos de Biotas 2016-2018 period, a total of 2344 notification cards were received, this includes 7693 notifications of primates, distributed in the following species: *Alouatta palliata*, *Saguinus geoffroyi*, *Cebus capucinus*, *Aotus zonalis* and *Atelopus fusciceps*. Conclusion: It is important to highlight that during the 2016-2018 period, the NHP passive surveillance network established in Darién has not reported cases of sick PNH or deaths in the absence of violence in the different areas. We have managed to strengthen the NHP surveillance network, however, so that the implementation of this is sustainable, resources are necessary to ensure its success in the future.

po. La radiotelemetría es una de las técnicas utilizadas en biología para conocer, el ámbito hogareño y de acción, movimientos estacionales, y etología. Los animales seleccionados se les colocó alrededor del cuello un transmisor de 2.0 gramos de peso para después ser liberados en su ambiente de captura respectivo. Monitoreamos durante 3-7 noches a intervalos de 30 minutos en promedio de seis horas por noche. La señal captada por el receptor, ubica la posición del animal, la cual es señalada con una marca en el terreno. Caracterizamos altura y espesura de la vegetación, tipo de cultivo y suelo. Toda la información fue registrada en formularios para su posterior tabulación y análisis. Los individuos fueron recapturados para retirar el collar y dejados en libertad. Los datos de Biotas 2016-2018 period, a total of 2344 notification cards were received, this includes 7693 notifications of primates, distributed in the following species: *Alouatta palliata*, *Saguinus geoffroyi*, *Cebus capucinus*, *Aotus zonalis* and *Atelopus fusciceps*. Conclusion: It is important to highlight that during the 2016-2018 period, the NHP passive surveillance network established in Darién has not reported cases of sick PNH or deaths in the absence of violence in the different areas. We have managed to strengthen the NHP surveillance network, however, so that the implementation of this is sustainable, resources are necessary to ensure its success in the future.

Resumen: 41

RADIOTELEMETRÍA EN ROEDORES RESERVORIOS DE HANTAVIRUS EN AMBIENTES DE INFLUENCIA HUMANA EN PANAMÁ

P González¹, M Ávila², Jorge Salazar-Bravo³, A G Armien⁴, B Armién¹, EEH⁵

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud, ³Universidad de Texas Tech, ⁴Universidad de Minnesota, y ⁵Equipo de Ecología de Hantavirus.

En este estudio hemos monitoreado dos especies de roedores silvestres con alta capacidad de proliferar en ambientes antropogénicos bajo intensa actividad agrícola y a la vez son reservorios de Hantavirus. Se realizaron capturas con trampas Sherman en diversos hábitats en Agua Buena, Tonosí, Los Santos (2004-2010). Seleccionamos animales con peso mayor a 10 gramos. Utilizamos inmunoblot para la detección de anticuerpos IgG contra hantavirus. La morfometría se registró en hojas de cam-

po. La radiotelemetría es una de las técnicas utilizadas en biología para conocer, el ámbito hogareño y de acción, movimientos estacionales, y etología. Los animales seleccionados se les colocó alrededor del cuello un transmisor de 2.0 gramos de peso para después ser liberados en su ambiente de captura respectivo. Monitoreamos durante 3-7 noches a intervalos de 30 minutos en promedio de seis horas por noche. La señal captada por el receptor, ubica la posición del animal, la cual es señalada con una marca en el terreno. Caracterizamos altura y espesura de la vegetación, tipo de cultivo y suelo. Toda la información fue registrada en formularios para su posterior tabulación y análisis. Los individuos fueron recapturados para retirar el collar y dejados en libertad. Los datos de ámbito de hogar, los analizamos con el software Biotas 1.03 alpha. Monitoreamos 97 individuos (70 *Zygodontomys brevicauda* y 37 *Oligoryzomys fulvescens*), pero sólo 64 individuos (61.3%) cumplieron con el mínimo de lecturas y noches de seguimiento. 45 Zb (30 machos y 15 hembras) y 19 Of (13 machos y 6 hembras); hemos estimado el tamaño territorial de estas dos especies, 568.06m² para el Zb y 433.85m² para el Of. En el área doméstica el promedio del Of 330.94m², mientras que en el área peridomiciliar, presentaron en promedio, un tamaño territorial 627.42m². Esto demuestra que el Of establece su nicho en cualquier hábitat y tiene mayor adaptabilidad a los cambios que causan los humanos a los ambientes naturales donde ellos viven. Durante la estación lluviosa, la abundancia de alimento y los refugios son mayores, mientras que en la estación seca los animales se ven obligados a desplazarse mayores distancias para suplir sus necesidades. Determinamos que los hábitats con vegetación por encima de los 30 cm de altura, proveen refugio, alimento y sitios para anidación, condiciones necesarias para el aumento de la abundancia de una especie.

[RADIOTELEMETRY IN HANTAVIRUS RODENTS RESERVOIRS IN ENVIRONMENTS OF HUMAN INFLUENCE IN PANAMA]

In this study we have monitored two species of wild rodents with a high capacity to proliferate in anthropogenic environments under intense agricultural activity and at the same time they are reservoirs of Hantavirus. Captures were made with Sherman traps in various habitats in Agua Buena, Tonosí, Los Santos (2004-2010). We select animals weighing more than 10 grams. We use immuno blot for the detection of IgG antibodies against hantavirus.

The morphometry was recorded in field sheets. Radiotelemetry is one of the techniques used in biology to know home and action, seasonal movements, and ethology. The selected animals were placed around the neck a transmitter of 2.0 grams of weight to be released in their respective capture environment. We monitor for 3-7 nights at 30-minute intervals on average of six hours per night. The signal captured by the receiver locates the position of the animal, which is marked with a mark on the ground. We characterize height and thickness of the vegetation, type of crop and soil. All information was recorded in data of household scope, we analyze them with the software Biotas 1.03 alpha. We monitored 97 individuals (*Zygodontomys brevicauda* and *Oligoryzomys fulvescens*), but only 64 individuals (61.3%) met the minimum number of readings and follow-up nights. 45 Zb (30 males and 15 females) and 19 Of (13 males and 6 females); we have estimated the territorial size of these two species, 568.06m² for the Zb and 433.85m² for the Of. In the domestic area the average of Of 330.94 m², while in the peripheral area the average of Of 627.42 m². This shows that the Of establishes its niche in any habitat and has greater adaptability to changes that humans cause to the natural environments where they live. During the rainy season, the abundance of food and shelter are greater, while in the dry season the animals are forced to travel greater distances to meet their needs. We determined that habitats with vegetation above 30 cm in height, provide shelter, food and nesting sites, necessary conditions for increasing the abundance of a species.

Resumen: 42

UNA SALUD: ENFERMEDADES ZOONÓTICAS DE IMPORTANCIA EN SALUD ANIMAL EN PANAMÁ

R Viveros

Médico Veterinario Especialista en Medidas Sanitarias y Fitosanitarias Ministerio de Desarrollo Agropecuario

El concepto One Health está previsto e implementado por la OIE como un enfoque global de colaboración para comprender los riesgos para la salud humana y animal (incluidos los animales domésticos y la vida silvestre) y la salud de los ecosistemas en general. El control de patógenos zoonóticos en su origen animal,

es decir, patógenos que pueden transmitirse de animales a humanos y viceversa, es la forma más efectiva y económica de proteger a las personas. En consecuencia, se deben desarrollar estrategias globales para prevenir y controlar los patógenos si queremos proteger la salud pública. Éstos deben coordinarse en la interfaz entre humanos, animales y ecosistemas y aplicarse a nivel nacional, regional y mundial, mediante la implementación de políticas adecuadas. Panamá es miembro oficial de la OIE desde 1975, con lo que se compromete a informar sobre las enfermedades de los animales que detecte en su territorio, que también incluye enfermedades transmisibles a los seres humanos y la introducción intencional de patógenos. La legislación nacional establece la obligatoriedad de la notificación de enfermedades que afectan a los animales censados, pero los entes involucrados directa o indirectamente en la producción animal; así como también la adopción de las normas y directrices internacionales de la OIE en materia de Salud Animal. En ese sentido entre las principales enfermedades que afectan a la población animal con carácter zoonótico están las virales: Rabia bovina y las bacterianas Brucellosis y Tuberculosis equina. La Rabia bovina es endémica en todo el territorio nacional, con mayor incidencia en Darién, Panamá Este, Colón y Panamá Oeste. Las Encefalitis equina se ha incrementado su presentación en los últimos años, principalmente la del Este, relacionada con el sentido sur-norte, iniciando en Darién, Panamá Este y finalizando en provincias centrales Herrera y Coclé. En las enfermedades bacterianas la Brucellosis bovina es endémica actualmente en las provincias de Coclé y Chiriquí; en esta última provincia a partir de 2017 a tenido un incremento importante en el número de focos nuevos lo que justificó la intensificación de la campaña de control y erradicación. La Tuberculosis bovina posterior al sacrificio sanitario de las fincas en la provincia de Bocas del Toro en el año 2010, solo se detectaron nuevos casos en el 2013 en hatos relacionados con una importación de bovinos de Centroamérica.

[A HEALTH: ZOONOTIC DISEASES OF IMPORTANCE IN ANIMAL HEALTH IN PANAMA]

The 'One Health' concept is planned and implemented by the OIE as a collaborative global approach to un-

derstand the risks to human and animal health (including domestic animals and wildlife) and the health of ecosystems in general. The control of zoonotic pathogens in their animal origin, that is, pathogens that can be transmitted from animals to humans and vice versa, is the most effective and economic way to protect people. Consequently,

global strategies must be developed to prevent and control pathogens if we want to protect public health. These must be coordinated at the interface between humans, animals and ecosystems and applied at the national, regional and global levels, through the implementation of appropriate policies. Panama has been an official member of the OIE since 1975, committing itself to reporting animal diseases detected in its territory, which also includes diseases transmissible to humans and the intentional introduction of pathogens. The national legislation establishes the obligatory nature of the notification of diseases that affect animals by entities directly or indirectly involved in animal production; as well as the adoption of the OIE international standards and guidelines on Animal Health. In this sense, among the main diseases that affect the zoonotic animal population are the viral ones: Bovine paralytic rabies and equine encephalitis, mainly Eastern and bacterial Brucellosis and bovine tuberculosis. Bovine rabies is endemic throughout the national territory, with the highest incidence in Darién, Eastern Panama, Colón and Panamá Oeste. Equine encephalitis has increased its presentation in recent years, mainly in the East, related to the periods after the migration of birds in the south-north direction, starting in Darién, East Panama and ending in central provinces Herrera and Coclé. In bacterial diseases, bovine Brucellosis is currently endemic in the provinces of Coclé and Chiriquí; In this last province, as of 2017, there has been a significant increase in the number of new outbreaks, which justified the intensification of the control and eradication campaign. Bovine tuberculosis after the slaughter of the farms in the province of Bocas del Toro in 2010, only new cases were detected in 2013 in herds related to cattle imports from Central America.

Resumen: 43

ESPECIES DE MOSQUITOS VECTORES ENZOÓTICOS DE ENCEFALITIS EQUINAS EN FOCOS DE TRANSMISIÓN EN PANAMÁ.

R Torres¹, R Samudio², J P Carrera¹, J Young¹, R Márquez¹, L Hurtado¹, S C Weaver³, L Fernando Chaves⁴, R Tesh³, L Cáceres Carrera¹.

Departamento de Entomología Médica del Instituto Con-

memorativo Gorgas de Estudios de la Salud¹, Sociedad de mastozoología de Panamá², Intitute for Human Infections and Immunity, University of Texas Medical Branch, USA³, Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica⁴

En focos enzoóticos con transmisión de arbovirus, es de gran importancia identificar las especies de mosquitos vectores incriminados, conocer su ecología, riesgo de transmisión y aportar evidencias a las autoridades de salud pública para el desarrollo de estrategias de prevención y control de la transmisión del vEE. El objetivo de este estudio fue lograr identificar las especies de mosquitos incriminadas en el mantenimiento y circulación del subtipo enzoótico, su abundancia y diversidad en tres regiones de transmisión del complejo de EE. En este estudio se realizaron capturas de mosquitos en la estación seca y lluviosa con trampas de luz tipo CDC con octanol, EVs con CO₂ y Trinidad No. 10 con cebo animal (hámster) distribuidas en áreas del peridomicilio y extradomicilio en horario de las 18:00 a 06:00 horas. Se estimaron los índices de diversidad de Simpson y Shannon-Wiener para comparar los patrones de diversidad y abundancia de especies en los sitios seleccionados. En 28 muestreos se capturaron 4 868 mosquitos, distribuidos en 11 géneros y 45 especies. Se logró la capturar e identificas las especies *Culex (Mel) pedroi*, *Cx. (Mel) pedroi*, *adamesi*, *Cx. (Mel) crybda*, *Cx. (Mel) ocossa*, *Cx. (Mel) spissipes*, *Cx. (Mel) taeniopus*, *Cx. (Mel) vomerifer* *Ae. scapularis*, *Ae. angustivittatus*, *C. venezuelensis*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. declarator*, *M. titillans*, *M. pseudotitillans* y *Ps. ferox*. Todas estas especies han sido reportadas como especies vecinas de arbovirus pone en alerta sobre la posibilidad de transmisión en la zona. Se concluye que la diversidad y abundancia de mosquitos en la zona de estudio es alta. Las características ecológicas, registros de casos de encefalitis en equinos y humanos más los reportes previos de capacidad vectorial de algunas de las especies registradas, permiten indicar que en la zona se pueden presentar brotes periódicos o estacionales del subtipo enzoótico del complejo de EEV y EEE.

[SPECIES OF ENZOOTIC MOSQUITO VECTORS OF EQUINE ENCEPHALITIS DURING OUTBREAKS IN PANAMA]

In an enzootic outbreak with arboviral transmission, it is very important to identify the mosquito vectors that are associated to know their ecology, the risk of transmis-

sion and to provide evidence to the public health authorities for the development of prevention strategies and control of the transmission of the vEE. The objective of this study was to identify the species of mosquitoes associated in the maintenance, and circulation of the enzootic subtype, its abundance and diversity in three regions. In this study, mosquitoes were captured in the dry and rainy season with CDC light traps with carbon dioxide and Trinidad No. 10 with animal bait (hamster) distributed in areas around homes and outside at 18 o'clock: 00 to 06:00 hours. The diversity indices of Simpson and Shannon-Wiener were estimated to compare the patterns of diversity and abundance of species in the selected sites. In 28 samplings, 4 868 mosquitoes were captured, distributed in 11 genera and 45 species. The capture and identification of the species *Culex (MeI) pedroi*, *Cx. (MeI) pedroi*, *adamesi*, *Cx. (MeI) crybda*, *Cx. (MeI) ocossa*, *Cx. (MeI) spissipes*, *Cx. (MeI) taeniopus*, *Cx. (MeI) vomerifer*, *Ae. scalaris*, *Ae. angustivittatus*, *C. venezuelensis*, *Cx. nigripalpus*, *Cx. declarator*, *M. titillans*, *M. pseudotitillans* and *Ps. ferox*. All these species have been reported as vector species of arboviruses put on alert about the possibility of transmission in the area. It is concluded that the diversity and abundance of mosquitoes in the study area is high. The ecological characteristics, plus previous reports of vector capacity of some of the registered species, indicate that seasonal or seasonal outbreaks of the enzootic subtype of the EEV and EEE complex may occur in the area.

Resumen: 44

EPIDEMIOLOGÍA DE CHIKUNGUNYA EN PANAMÁ, UN PAÍS ENDÉMICO PARA DENGUE

S. López-Vergès

Dpto. de Investigación en Virología y Biotecnología, IC-GES, Panamá, Panamá

El virus del Chikungunya (CHIKV), genotipo Asiático, fue introducido en las Américas en el 2013, y fue detectado en Panamá en mayo del 2014. Panamá es un país endémico para el virus del dengue (DENV) desde su reintroducción en el país en 1993, después de 35 años sin casos autóctonos reportados. DENV es el bovirus de mayor importancia en salud pública en el mundo; sin embargo, en los últimos años la emergencia mundial de CHIKV y del virus Zika (ZIKV), así

como los brotes de fiebre amarilla en África y las Américas, y de Marayo y Oropouche en esta última, muestran el gran potencial emergente de los arbovirus. Se presentará y la historia del DENV y del control de sus vectores mosquitos, principalmente *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus*, en Panamá. Igualmente analizaremos, con los datos existentes, cómo la alerta epidemiológica y la vigilancia pasiva de arbovirus logró detectar casos importados de CHIKV, y cómo la respuesta coordinada tuvo un papel en el hecho que Panamá no reportó un gran número de casos, y no hubo casos atípicos ni fatales, como fue en el caso en otros países de la región. La epidemiología de CHIKV desde su introducción hasta principios del 2018, permitirá discutir la necesidad de estudios multidisciplinarios con impacto a nivel transdisciplinario para poder tomar decisiones de salud pública basada en conocimientos para la detección de nuevos virus emergentes y su manejo.

[EPIDEMIOLOGY OF CHIKUNGUNYA IN PANAMA, AN ENDOMIC PAIN FOR DENGUE]

The Chikungunya virus (CHIKV), Asian genotype, was introduced in the Americas in 2013, and was detected in Panama in May 2014. Panama is an endemic country for the dengue virus (DENV) since its reintro-duction in the country. In 1993 and after 35 years without reported autochthonous cases. DENV is the most important arbovirus in public health in the world; However, in recent years the global re-emergence of CHIKV and the Zika virus (ZIKV), as well as outbreaks of yellow fever in Africa and the Americas, and Marayo and Oropouche in the latter, shows the great emerging potential of arboviruses and shows the importance of controlling the mosquito vectors, mainly *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*, in Panama. We will also analyze,

with the existing data, how the epidemiological alert and the passive surveillance of arboviruses managed to detect imported cases of CHIKV, and how the coordinated response could have played a role in reducing the number of reported cases, while there were atypical or fatal cases, as was the case in other countries in the region. The epidemiology of CHIKV from its introduction until the beginning of 2018, allowed the discussion needed for multidisciplinary studies with a transdisciplinary impact in order to make knowledge-based public health decisions for the detection of new emerging viruses and their management.

Resumen: 45

RIQUEZA DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) INCRIMINADOS EN LA TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES ZOONÓTICAS EN ARUZA - DARIÉN

M Santos¹, L Collado¹, A Valderrama¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud - Departamento de Investigación en Entomología Médica.

Las enfermedades transmitidas por mosquitos de la familia *Culicidae*, constituyen uno de los principales problemas de salud pública en las regiones tropicales. Los cambios ecológicos resultado de las actividades antropogénicas, favorecen la emergencia o re-emergencia de algunas enfermedades endémicas de la región. En este estudio se propuso determinar la riqueza de mosquitos distribuidos en esta zona de emergencia de equinecefalitis equina e identificar los vectores que han sido incriminados. El estudio se desarrolló entre el periodo del 2015 al 2017, en donde se seleccionaron cuatro parcelas de una hectárea con diferente vegetación. Las muestras de mosquitos se colectaron con trampas de luz CDC y se preservaron en hielo seco, para los análisis virológicos. Se identificaron 83 especies, de las cuales 15 se han incriminado como vectores de arbovirosis. Nueve especies se encontraron en los cuatro sitios de muestreo; el sitio de muestreo con mayor riqueza de especie fue la parcela de bosque maduro intervenido, encontrándose especies de importancia médica como *Culex spissipes*, *Culex pedroi*, *Culex adamesi*, *Culex ocossa*, *Culex vomerifer* y *Culex dunnii*, todos reportados como vectores de encefalitis equina; capturados tales como *Culex declarator*, *Culex coronator* mientras la parcela de pasto mejorado fue el sitio de muestreo con menor riqueza de especies, sin embargo se capturaron especies de interés como *Culex declarator*, *Culex coronator* y *Culex interrogator*, reportados como vectores del virus de la encefalitis de San Luis, no obstante tales como *Culex jubifer*, *Culex taeniopus*, *Culex Dirofilaria immitis* y el virus del Oeste del Nilo. La realización de este trabajo nos permitió además, identificar otras especies del subgénero Melanoconion como *Culex jubifer*, *Culex taeniopus*, *Culex crybda*, *Culex corniger*, *Culex erraticus*, relacionados con otros arbovirus de interés para la salud pública. La importancia de conocer estos vectores, es que nos permite establecer el riesgo de transmisión de las arbovirosis y aportar recomendaciones sobre la prevención, vigilancia y control a las autoridades en salud; por lo que se recomienda,

además, continuar con este tipo de estudios de vigilancia entomológica y la realización de nuevos estudios que nos permitan conocer los virus específicos que pudieran estar transmitiendo otras especies de mosquitos.

[MOSQUITO DIVERSITY (DIPTERA: CULICIDAE) ASSOCIATED TO TRANSMISSION OF ZOONICAL DISEASES IN ARUZA - DARIEN]

Diseases transmitted by mosquitoes of the *Culicidae* family are one of the main public health problems in tropical regions. The ecological changes resulting from anthropogenic activities favor the emergence or re-emergence of some endemic diseases in the region. In this study it was proposed to determine the variety of mosquitoes distributed in this endemic zone of equine encephalitis and identify the vectors that have been incriminated. The study was carried out between the period of 2015 to 2017, on four plots of one hectare each, with different vegetation. Mosquito samples were collected with CDC light traps and preserved in dry ice for virological analyzes. We identified 83 species, of which 15 have been incriminated as vectors of arbovirosis. Nine species were found in the four sampling sites; The sampling site with the highest species richness was the mature forest plot, with species of medical importance such as *Culex spissipes*, *Culex pedroi*, *Culex adamesi*, *Culex ocossa*, *Culex vomerifer* and *Culex dunni*, all reported as vectors of equine encephalitis; while the grass plot was the sampling site with the lowest species richness, however species of interest were captured such as *Culex declarator*, *Culex coronator* and *Culex interrogator*, reported as vectors of the St. Louis encephalitis virus, *Dirofilaria immitis* and the West Nile virus. The realization of this work also allowed us to identify other species of the subgenus Melanoconion such as *Culex jubifer*, *Culex taeniopus*, *Culex crybda*, *Culex corniger*, *Culex erraticus*, related to other arboviruses of interest for public health. The importance of knowing these vectors is that it allows us to establish the risk of transmission of arboviruses and provide recommendations on prevention, surveillance and control to health authorities; so it is recommended, in addition to continue with this type of studies of entomological surveillance and the realization of new studies that allow us to know the specific viruses that may be transmitting other species of mosquitoes.

Resumen: 46

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNIDADES DISCRETAS DE TIPIFICACIÓN (UDTs) DE TRYPANOSOMA CRUZI EN DIDELPHIDOS CAPTURADOS EN DIFERENTES REGIONES DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

V Pineda¹, M Collins¹, P González¹, N Gottdenker², C Riggs¹, M Perea¹, K González¹, JE Calzada¹, B Armien¹, A Saldaña¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Department of Veterinary Pathology, University of Georgia, Athens

Antecedentes: La enfermedad de Chagas es causada por el *Trypanosoma cruzi* el cual se transmite a los humanos por el contacto con chinches triatominos. Estos parásitos están adaptados a varias especies de mamíferos silvestres (zarigüeyas, perezosos, primates, mapaches, armadillos y roedores) que actúan como reservorios. Sin embargo, las zarigüeyas son los reservorios silvestres más importantes, debido a ciertas características ecológicas (omnívoros, prolíficas y sumamente adaptables). Pueden acercarse a las viviendas humanas actuando como vehículo entre áreas silvestres y peri domésticas, siendo entonces un importante factor de riesgo. En Panamá existen reportes sobre zarigüeyas infectadas con *T. cruzi*, sin embargo, no se conoce su distribución geográfica, las tasas de infección según su ubicación y su papel como reservorio silvestre de este hemoflagelado. Objetivo: Detectar y caracterizar las UDTs de *T. cruzi* en didelphidos de diferentes áreas geográficas de la República de Panamá. Metodología: Las extracciones de ADN se realizaron a partir de una muestra de sangre de didelphidos capturados durante los últimos 3 años en diferentes regiones del país. Para la detección de *T. cruzi* se empleó la región del minicírculo del cinetoplasto (kDNA). La genotipificación de unidades discretas de tipificación (UDT) fue realizada por la amplificación de los genes mini-exón, 18S y 24S rRNA. Resultados: Se analizaron 210 didelphidos: 201 *Didelphis marsupialis*, 5 *Metachirus nudicaudatus* y 4 *Phylnader* NA. La genotipificación de unidades discretas de tipificación (UDT) fue realizada por la amplificación de los genes mini-exón, 18S y 24S rRNA. Resultados: Se presentaron infeciones por *T. cruzi* y *T. rangeli*. Se analizaron las 91 muestras positivas empleando marcadores genéticos como mini-exón, 18S y 24S rRNA. Inicialmente se ha encontrado (17.5%) co-

mo Tc1 y (2.1%) como TcII/IV/VI. Conclusiones: Se confirma la alta frecuencia de infección por *T. cruzi* en didelphidos (43.3%), hasta el momento se conoce un 17.5% presenta TcI y 2.1% presenta TcII/TcV/TcVI. Esta es la primera vez que se reporta un UDTs diferente a TcI en Panamá.

[DETECTION AND IDENTIFICATION OF DISCRETE TYPIFICATION UNITS (DTU) OF TRYPANOSOMA CRUZI IN DIDELPHIDS CAPTURED IN DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC OF PANAMA]

Background: Chagas disease is caused by *Trypanosoma cruzi*, which is transmitted to humans by contact with triatomine bugs. These parasites are adapted to several species of wild mammals (opossums, sloths, primates, raccoons, armadillos and rodents) that act as reservoirs. However, opossums are the most important reservoirs, due to certain ecological characteristics (omnivores, prolific and highly adaptable). They can approach human dwellings acting as a vehicle between wild and peri-domestic areas, being then an important risk factor. In Panama there are reports of opossums infected with *T. cruzi*, however, its geographical distribution, infection rates according to its location and its role as a wild reservoir of this hemoflagellate are not known. Objective: To detect and characterize *T. cruzi* DTU in didelphids from different geographical areas of the Republic of Panama. Methodology: DNA extraction was performed from a blood sample of didelphids captured during the last 3 years in different regions of the country. For the detection of *T. cruzi*, the region of the kinetoplast minicircle (kDNA) was used. Genotyping of discrete typing units (DTU) was performed by amplifying the mini-exon, 18S and 24S genes rRNA. Results: 210 didelphids were analyzed: 201 *Didelphis marsupialis*, 5 *Metachirus nudicaudatus* and 4 *Phylnader* opossum by kDNA PCR for the detection of *T. cruzi*. The analyzes indicate that 91/210 (43.3%) of the samples presented infection by *T. cruzi* and 8/210 (3.8%) *T. rangeli*. Will the 91 positive samples be analyzed using genetic markers such as mini-exon, 18S and 24S rRNA. Initially it was found (17.5%) as Tc1 and (2.1%) as TcII / IV / VI. Conclusions: The high frequency of infection by *T. cruzi* in didelphids (43.3%) is confirmed, until now 17.5% have TcI and 2.1% have TcII / TcV / TcVI. This is the first time that a different UDTs have been reported to TcI in Panama.

Resumen: 47

TIPIFICACIÓN DE MULTILOCUS DE LEISHMANIA EN DIFERENTES AISLADOS DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

V Vásquez¹, A Saldaña^{1,2}y F Samudio^{1,2}

¹Instituto conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud;

²Universidad de Panamá

La leishmaniasis tegumentaria es la segunda parasitosis transmitidas por vectores de mayor prevalencia en nuestro país. En Panamá la leishmaniasis tegumentaria es la forma clínica más común que causa ulceras en las partes expuestas del cuerpo y dependiendo de la gravedad deja cicatrices o compromete el tracto orofaríngeo de por vida. Esta enfermedad es causada por varios parásitos del género *leishmania* spp. siendo la especie *Leishmania panamensis* la responsable de un 80% de los casos de Leishmaniasis en nuestro país. Sin embargo, otras especies del subgénero *Viannia* como *L. guyanensis*, *L. brasiliensis*, *L. naiffi* circulan en menor frecuencia y también son responsables de la forma cutánea de la enfermedad. La estructura poblacional de este parásito es heterogénea formado por clones con características biológicas diferentes y cepas híbridas resultado de la recombinación de diferentes especies del mismo género. Entre los atributos biológicos inherentes de estas cepas se encuentran diferentes respuestas al tratamiento, capacidad de evasión a la respuesta inmune, patogenicidad y virulencia lo cual amerita el estudio exhaustivo de la estructura poblacional del parásito en cualquier escenario epidemiológico de modo que se puedan tomar las medidas de control y vigilancia pertinente. Por tal motivo, desarrollamos un estudio cuyo propósito principal es estudiar la estructura poblacional de Leishmanias del subgénero *Viannia* en Panamá mediante la técnica de multilocus Typing (MLST) para lo cual seleccionamos cuatro genes nucleares esenciales (Aconitasa, Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, Glucosa fosfato Isomerasa y Alanino amino transferasa) para evaluarlos utilizando 100 aislados de *Leishmania* spp. procedentes de diferentes áreas geográficas del país. La determinación inicial de especie de estos aislados se realizó mediante la estandarización de un PCR que tiene como diana molecular el citocromo b de estos parásitos. Los resultados preliminares indican que la mayoría de los aislados son de *L. panamensis* aunque también se encontraron en baja frecuencia *L. guyanensis* y *L. brasiliensis*. Los resultados de la evaluación del gen de

aconitasa señalan varias diferencias en composición nucleotídica de este gen en *L. panamensis* que lo hacen un fuerte candidato para evaluar la estructura poblacional de esta especie de *Leishmania* mediante MLST.

[TYPIFICATION OF MULTILOCUS OF LEISHMANIA IN DIFFERENT ISOLATES OF THE REPUBLIC OF PANAMA]

Tegumentary leishmaniasis is the second parasitic disease transmitted by vectors of greater prevalence in our country. In Panama, tegumentary leishmaniasis is the most common clinical form that causes ulcers on the exposed parts of the body and depending on the severity leaves scars or compromises the oropharyngeal tract for life. This disease is caused by several parasites of the genus *Leishmania* spp. being the *Leishmania panamensis* species responsible for 80% of cases of Leishmaniasis in our country. However, other species of the subgenus *Viannia* such as *L. guyanensis*, *L. brasiliensis* and *L. naiffi* circulate less frequently and are also responsible for the cutaneous form of the disease. The population structure of this parasite is heterogeneous and formed by clones with different biological characteristics resulting from the recombination of different species of the same genus. Among the inherent biological attributes of these strains are different responses to treatment, ability to evade the immune response, pathogenicity and virulence, which warrant the exhaustive study of the population structure of the parasite in any epidemiological scenario so that measures can be taken of control and monitoring. For this reason, we developed a study whose main purpose is to evaluate the population structure of Leishmanias of the subgenus *Viannia* in Panama using the Typing multilocus technique (MLST) for which we selected four essential nuclear genes (Aconite, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, Glucose phosphate Isomerase and Alanino amino transferase) for 100 isolates of *Leishmania* spp. coming from different geographical areas of the country. The initial determination of the species of these isolates was carried out by means of the standardization of a PCR that has as a molecular target the cytochrome b of these parasites. Preliminary results indicate that most of the isolates are *L. panamensis* although *L. guyanensis* and *L. brasiliensis* were also found in low frequency. The results of the evaluation of the aconitase gene indicate several differences in the nucleotide composition of this gene in *L. panamensis* that make it a strong candidate to

evaluate the population structure of this *Leishmania* species by means of MLST.

Resumen: 48

CHIKUNGUNYA EN PANAMÁ: PRIMERAS DETECCIONES Y PATRÓN INUSUAL DE CIRCULACIÓN

Y Díaz¹, J P Carrera¹, D Arauz¹, J Cisneros¹, L Cerezo², A Valderrama¹, B Armién¹, B Moreno¹y S. López-Vergès¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud.

²Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud de Panamá.

Chikungunya (CHIKV) es un patógeno transmitido por mosquitos, endémico de África y el sur de Asia hasta 2006. En las Américas, el virus inició circulación por las islas del Caribe en diciembre de 2013. En Panamá los primeros 2 casos febriles fueron detectados en mayo de 2014, el primero fue importado desde Haití y el segundo se detectó desde República Dominicana. Luego de varios casos importados, el primer caso autóctono se dio en agosto de 2014. Se detectó el RNA viral y se aisló el virus a partir del suero de pacientes infectados. El análisis filogenético reveló que el virus pertenecía al genotipo Asiático, clado del Caribe y que se relacionaba con cepas de las islas del Caribe, China y Filipinas. Este virus fue reportado en un brote limitado en la ciudad de Panamá y 2015. Con el objetivo de determinar porque Panamá tuvo pocos casos comparado con los países vecinos, realizamos un análisis epidemiológico y vectorial de los casos reportados en Panamá desde mayo 2014 a julio 2015. Un total de 413 casos sospechosos de CHIKV fueron reportados. La tasa de incidencia fue de 0.5 y 0.7 por 100,000 habitantes en 2014 y 2015 respectivamente. Durante este periodo, 38.6% de los casos fueron autóctonos y presentaron rash y artralgia como síntoma predominante. Las tasas de incidencia de CHIKV y DENV fue de 1:306 y 1:34 respectivamente. El análisis filogenético de los segmentos E1/E2, indican que todas las cepas durante esos brotes fueron del genotipo Asiático y se relacionaban con cepas de otros países del continente que circularon en el mismo periodo. El análisis estadístico vectorial, muestra que los índices de infestación fueron bajos y medios en los sitios donde se detectaron los primeros casos.

CHIKV circuló en el país. El entrenamiento clínico, de laboratorio y de control vectorial en períodos previos a la detección de los primeros casos, permitió una buena captación y detección oportuna de los casos, así como una intervención rápida. Es posible que los niveles de infestación bajos y medios puedan explicar en parte el bajo número de infección de CHIKV en Panamá.

[CHIKUNGUNYA IN PANAMA: FIRST DETECTIONS AND UNUSUAL SPREADING PATTERN]

Chikungunya (CHIKV) is a mosquito-borne pathogen, endemic to Africa and southern Asia until 2006. In the Americas, the virus began circulation in the Caribbean islands in December 2013. In Panama, the first 2 febrile cases were detected in May 2014, the first was imported from Haiti and the second from the Dominican Republic. After several imported cases, the first autochthonous case occurred in August of the same year. Viral RNA was detected and the virus was isolated from the serum of infected patients. The phylogenetic analysis revealed that the virus belonged to the Asian genotype, clade of the Caribbean and that it was related to strains from the Caribbean islands, China and the Philippines. This virus caused explosive epidemics of fever, rash and polyarthralgia in countries such as Colombia, the Dominican Republic and Puerto Obaldía, near the border with Colombia in 2015. In order to determine why Panama had few cases compared to neighboring countries, we conducted an epidemiological and vectorial analysis report in Panama from May 2014 to July 2015. A total of 413 suspected cases of CHIKV were reported. The incidence rate was 0.5 and 0.7 per 100,000 inhabitants in 2014 and 2015 respectively. During this period, 38.6% of the cases were autochthonous and presented rash and arthralgia as the predominant symptom. The incidence rates of CHIKV and DENV were 1: 306 and 1:34 respectively. The phylogenetic analysis of the segments E1 / E2, indicate that all the strains during these outbreaks were of the Asian genotype and were related to strains from other countries. The vectorial statistical analysis shows that the indices of infestation were low and medium in the places where CHIKV circulated in the country. The clinical training, laboratory and vector control in periods prior to the detection of the first cases, allowed a good and timely

detection of cases, as well as a rapid intervention. It is possible that low and medium infestation levels may explain in part the low number of CHIKV infection in Panama.

Resumen: 49

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE DENGUE EN PANAMÁ :25 AÑOS DE CIRCULACIÓN

Y Díaz¹, M. Chen-German¹, J Cisneros¹, E Quiroz², B Moreno¹, J P Carrera¹, L Cerezo³, A.O. Martinez-Torres², L Moreno³, I B de Mosca³, B Armien¹, R Chen⁴, N Vasilakis⁴, S. López-Vèrges¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

²Universidad de Panamá, ³ Ministerio de Salud de Panamá

⁴. Universidad de Galveston en Texas.

Los datos filogenéticos de Dengue en la región Centroamericana, se basan en las secuencias generadas por Nicaragua y algunas islas del Caribe, poco se conoce acerca de la distribución geoespacial del Dengue en Panamá. En este estudio, analizamos retrospectivamente los datos epidemiológicos obtenidos de la vigilancia del Dengue los pasados 25 años en Panamá y la filogenia del gen de la proteína de envoltura (E) de aislados del virus obtenidos de suero de pacientes infectados. Se obtuvieron secuencias de los cuatro serotipos de Dengue de 1994 a 2017. Cuatro árboles filogenéticos se generaron con Maximum Likelihood, modelo GTR+I+gamma, usando MEGA7. En el análisis estadístico, las relaciones univariadas y multivariadas se expresaron en odds ratio (ORs), usando regresión logística, en donde los valores P; <0.05 fueron considerados significantes. Este análisis estadístico se realizó con STATA14.1. Desde la re-emergencia en 1993 del Dengue en Panamá, se han registrado 67,834 casos, de los cuales el 2.9% (1,974) han sido dengue hemorrágico y 73 defunciones. La incidencia fue mayor en el grupo de 10-19 años. Un alto porcentaje de casos fueron confirmados por laboratorio (68.0%), de 1999 a 2017. Desde entonces varios brotes epidémicos se han dado, destacando el brote de 2011, con un CFR de 0.44, el más alto en la región centroamericana y el cual se relacionan con la introducción del serotipo 2. Los cuatro serotipos del virus han circulado caracterizándose por el reemplazamiento de las cepas de DENV-1 pertenecen al genotipo V y forman varios clusters con cepas de otros países de la región dependiendo del año de circulación. Las cepas de DENV-2 pertenecen al genotipo Asiático-Americanano,

siendo relevante la mutación encontrada en las cepas introducidas en 2010 y que se relacionan con el brote de 2011. DENV-3 y DENV-4, pertenecen a los genotipos III y II respectivamente. En conclusión, las cepas de Dengue en Panamá, genéticamente son diversas y se relacionan con cepas de diversas partes del continente, sugiriendo una continua re-introducción de estas desde Suramérica, el Caribe y América Central.

[MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF DENGUE IN PANAMA: 25 YEARS OF SURVEILLANCE]

The phylogenetic data of Dengue in the Central American region are based on the sequences generated by Nicaragua and some Caribbean islands. Little is known about the geospatial distribution of Dengue in Panama. In this study, we retrospectively analyzed the epidemiological data obtained from the surveillance of Dengue for the past 25 years in Panama and the phylogeny of the envelope protein gene (E) of virus isolates obtained from serum from infected patients. Sequences of the four Dengue serotypes from 1994 to 2017 were obtained. Four phylogenetic trees were generated with Maximum Likelihood, model GTR + I + gamma, using MEGA7. In the statistical analysis, the univariate and multivariate relationships were expressed in odds ratio (ORs), using logistic regression, where the P values; <0.05 were considered significant. This statistical analysis was performed with STATA14.1. Since the 1993 re-emergence of Dengue in Panama, 67,834 cases have been registered, odds ratio (ORs), using logistic regression, where the P values; <0.05 were considered significant. This statistical analysis was performed with STATA14.1. Since the 1993 re-emergence of Dengue in Panama, 67,834 cases have been registered, of which 2.9% (1,974) have been dengue hemorrhagic and 73 deaths. The incidence was greater in the group of 10-19 years. A high percentage of cases were confirmed by laboratory (68.0%), from 1999 to 2017. Since then several epidemic outbreaks have occurred, highlighting the 2011 outbreak with a CFR of 0.44, the highest in the Central American region and which they are related to the introduction of serotype 2. The four serotypes of the virus have circulated characterized by the replacement of the strains of DENV-1 belong to genotype V and form several clusters with strains from other countries of the region depending on the year of circulation. The strains of DENV-2 belong to the Asian-American genotype, being relevant the mutation found in the strains introduced in 2010 and related to the outbreak of 2011. DENV-3 and DENV-4 belong to genotypes III and II respectively. In conclusion, the strains of Dengue in Panama are genetically diverse and are related to strains from different countries.

rent parts of the continent, suggesting a continuous re-introduction of these strains from South America, the Caribbean and Central America.

Resumen: 50

DEPENDENCIA DE LOS ARBOVIRUS POR FACTORES CELULARES: UNA OPORTUNIDAD PARA IDENTIFICAR DIANAS ANTIVIRALES

Y. Llamas-González¹, D Campos¹, S Navarro¹, M Sugasti¹ y

J González-Santamaría^{1,2}

¹Grupo de Biología Celular y Molecular de Arbovirus, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá,

²Dirección de Investigación, Universidad Interamericana de Panamá, Panamá

Los arbovirus son virus transmitidos por artrópodos y en los últimos años, algunos de ellos han provocado importantes epidemias a nivel local o regional. Este es el caso de los virus Chikungunya, Zika y dengue, que han sido bastante estudiados. Por otro lado, hay virus como Mayaro, Una y Punta Toro, cuya biología y patogénesis no ha sido caracterizada en profundidad. Los virus son patógenos intracelulares obligados que dependen de la maquinaria biosintética de las células que infectan para replicarse eficientemente. En este sentido, los virus son capaces de activar distintas vías de señalización celular o blo-quear los mecanismos de defensa celular, lo que al final favorece su replicación. Es por ello, que el bloqueo de vías de señalización o factores celulares con compuestos químicos, es una herramienta que podría permitir la identificación de posibles blancos antivirales de amplio espectro. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto antiviral de una serie compuestos químicos que bloquen la actividad de diversos factores celulares. Para llevar a cabo esto, analizaremos la producción de partículas virales mediante la técnica de formación de placas en los sobrenadantes de células infectadas en presencia o ausencia de los compuestos químicos y evaluaremos la síntesis de proteínas virales mediante immunoblot.

Nuestros resultados apuntan a que la inhibición de factores celulares con los compuestos químicos, provoca una disminución significativa en la producción de partículas virales y en la síntesis de proteínas de los virus.

[DEPENDENCE OF ARBOVIRUS BY CELLULAR FACTORS: AN OPPORTUNITY TO IDENTIFY ANTIVIRAL TARGETS]

Arboviruses are viruses transmitted by arthropods and in recent years, some of them have caused major epidemics at the local or regional level. This is the case of the Chikungunya, Zika and Dengue viruses, which have been well studied. On the other hand, there is serological or virological evidence that indicates the circulation of other viruses such as Mayaro, Una and Punta Toro, whose biology and pathogenesis has not been characterized in depth. Viruses are obligate intracellular pathogens that depend on the biosynthetic machinery of the cells they infect to replicate efficiently. In this sense, viruses are capable of activating different cellular signaling pathways or blocking cell defense mechanisms, which in the end favors their replication. That is why the blocking of signaling pathways or cellular factors with chemical compounds is a tool that could allow the identification of possible anti-virals. The objective of this work is to evaluate the antiviral effect of a series of chemical compounds that block the activity of various cellular factors. To carry out this, we will analyze the production of viral particles by means of the technique of plaque formation in the supernatants of infected cells in the presence or absence of the chemical compounds and we will evaluate the synthesis of viral proteins by immunoblot. Our results suggest that the inhibition of cellular factors with chemical compounds causes a significant decrease in the production of viral particles and in the synthesis of virus proteins.

Resumen: 51

NUEVA TÉCNICA MOLECULAR PARA DETECTAR EL GEN NSP4 DEL VIRUS CHIKUNGUNYA

L Sáenz¹, M Chen Germán¹, B Henríquez¹, D Araúz¹, Y Díaz¹,

B Moreno A¹, A Valderrama¹, F Samudio¹, S López-Verges¹.

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá.

El virus Chikungunya (CHIKV) es un Alfavirus, familia Togaviridae; que se detectó por primera vez en Panamá en mayo 2014 y circuló al mismo tiempo que el virus del Dengue (DENV) que es endémico a nuestro país. Ambos virus causan síntomas similares por lo

tanto, la confirmación por laboratorio es crucial para identificar el agente causal y cualquier nueva introducción. Al momento de la introducción de CHIKV en Panamá, nos percatamos que las RT-PCR en tiempo real según los protocolos del CDC no lograban detectar todos los casos positivos. Por lo cual, se decidió realizar la detección de CHIKV por la RT-PCR genérica del género Alfavírus (CHIKV, virus de la Encefalitis equina Venezolana, virus Madariaga, virus Mayaro, etc.) en tiempo final complementando con la secuenciación de los fragmentos amplificados. Esta técnica es sensible, sin embargo toma tiempo y es más costosa, por lo tanto no es viable para un programa de vigilancia a largo plazo. Es importante implementar herramientas moleculares específicas y sensibles capaces de detectar una carga viral baja. Desarrollamos un ensayo RT-PCR en tiempo real basado en la amplificación específica del gen de polimerasa de ARN de CHIKV (NSP4), analizando todos los genomas completos de CHIKV descritos en América disponibles en el GenBank. Además, hemos construido un vector que contiene el gen nsp4 de CHIKV para poder cuantificar el mínimo de copias que pueda detectar esta nueva técnica y comparar su sensibilidad con relación a las anteriores. Esperemos que esta técnica pueda detectar una copia de genoma viral mostrando alta sensibilidad, lo que ayudaría a la detección de este virus en pocas cantidades tanto en muestras de pacientes como en mosquitos vectores.

[NEW MOLECULAR TECHNIQUE TO DETECT THE NSP4 GENE OF CHIKUNGUNYA]

The Chikungunya virus (CHIKV) is an Alphavirus, family *Togaviridae*; which was detected for the first time in Panama in May 2014 and circulated at the same time as the Dengue virus (DENV) that is endemic to our country. Both viruses cause similar symptoms therefore, confirmation by laboratory is crucial to identify the causative agent and any new introduction. At the time of the introduction of CHIKV in Panama, we realized that real-time RT-PCR according to CDC protocols failed to detect all positive cases. Therefore, it was decided to perform the detection of CHIKV by the generic RT-PCR of the genus Alfavírus (CHIKV, Venezuelan equine encephalitis virus, Madariaga virus, Mayaro virus, etc.) in final time, complementing the sequencing of the amplified fragments. This technique

is sensitive, takes time and is more expensive; therefore, it is not viable for a long-term surveillance program. It is important to implement specific and sensitive molecular tools capable of detecting a low viral load. We developed a real-time RT-PCR assay based on the specific amplification of the CHIKV RNA polymerase gene (NSP4), analyzing all the complete genomes of CHIKV described in America available in GenBank. In addition, we have constructed a vector containing the nsp4 gene of CHIKV in order to quantify the minimum number of copies that this new technique can detect and compare its sensitivity with respect to the previous ones. Hopefully this technique can detect a viral genome copy showing high sensitivity, which would help the detection of this virus in small quantities in both patient samples and mosquito vectors.

Resumen: 52

FIEBRE AMARILLA Y VIGILANCIA PASIVA DE ARBOVIRUS EN PANAMÁ

Y Y Diaz L

Depto. de Investigación en Virología y Biotecnología ICGES

Históricamente, Panamá ha sido escenario de importantes avances en la medicina tropical para el control de Arbovirosis donde se destaca el control del virus de la fiebre amarilla durante la construcción del Canal de Panamá, la cual estableció las bases para el control vectorial como herramienta principal en la erradicación de esta enfermedad en las Américas. A pesar de que Panamá es el punto que delimita la zona de riesgo de infección por fiebre amarilla en las Américas, los últimos casos del ciclo urbano fueron reportados en 1905; y de fiebre amarilla selvática en 1974. Desde entonces, otros Arbovirus de los géneros: *Alphavirus*, *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus* y *Flavivirus* han sido detectados. Mediante la técnica de RT-PCR tiempo final, usando cebadores genéricos y el aislamiento viral como prueba *gold standard* para la identificación viral, se pudieron detectar los primeros casos importados y autóctonos de Chikungunya y Zika. A partir de enero de 2014 todas las muestras negativas por RT-PCR tiempo real para Dengue fueron testadas para la detección de *Alphavirus*, *Phlebovirus* y *Flavivirus*. En mayo de 2014 fueron reportados dos casos importados de Chikungunya, mediante RT-PCR para

Alphavirus. En agosto del mismo año, esta vigilancia pasiva, identificó los primeros casos autóctonos por Chikungunya. La detección temprana de estos casos permitió la intervención efectiva de las autoridades de salud lo cual contuvo una probable epidemia de ese virus. La vigilancia pasiva para *Flavivirus* permitió detectar en 2015 los primeros casos de Zika en la región de Guna Yala y el posterior brote epidémico en Puerto Obaldía. Otros Arbovirus, con sintomatología similar a Dengue, también han sido captados por estos métodos. La circulación del virus Punta Toro, un *Phlebovirus*, se ha encontrado en 2009, 2014, 2017 y 2018, asociada siempre a un aumento en los casos de Dengue. Esto pone en manifiesto la necesidad de estudios vectoriales para conocer si otro vector, diferente a las chiras, está transmitiendo este virus. Hasta la fecha no se conocen casos severos ni con manifestaciones neurológicas u otras secuelas causadas por este virus. Actualmente, la vigilancia pasiva de Arboviruses en Panamá ha testado 10403 muestras para los cuatro géneros descritos anteriormente. En la zona de Yala and Panama East), se han procesado aproximadamente 800 (60%) muestras negativas por Dengue, Zika y Chikungunya preventores de estas zonas, y en ninguno de los casos se ha detectado la circulación del virus de la fiebre amarilla.

[YELLOW FEVER AND PASSIVE SURVEILLANCE OF ARBOVIRUS IN PANAMA]

Historically, Panama has been the scene of important advances in tropical medicine for the control of Arbovirosis, where yellow fever virus control during the construction of the Panama Canal established the basis for vector control as the main tool in the eradication of this disease in the Americas. Although Panama is the point that delimits the zone of risk of infection by yellow fever in the Americas, the last cases of the urban cycle and jungle yellow fever were reported in 1905 and 1974, respectively. Since then, other Arboviruses of the genera: *Alphavirus*, *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus* and *Flavivirus* have been detected. RT-PCR technique, with generic primers and viral isolation as a 'gold standard' test for viral identification of the first imported and native Chikungunya and Zika cases. As of January 2014, all negative RT-PCR samples for Dengue were tested for *Alphavirus*, *Phlebovirus* and *Flavivirus*. In May 2014, two imported cases of Chikungunya were reported by RT-PCR for *Alphavirus*.

of the same year, this passive surveillance identified the first indigenous cases by Chikungunya. The early detection of these cases allowed the effective intervention of the health authorities which contained a probable epidemic of that virus. The passive surveillance for *Flavivirus* allowed to detect in 2015 the first cases of Zika in the region of Guna Yala and the subsequent epidemic outbreak in Puerto Obaldía. Other Arboviruses, with symptoms similar to Dengue have also been captured by these methods. The circulation of the Punta Toro virus, always associated with an increase in Dengue cases. This highlights the need for vector studies to reveal if another vector, different from the chiras is transmitting this virus. To date there are no known severe cases or neurological manifestations or other sequelae caused by this virus. Currently, the passive surveillance of Arbovirus in Panama has tested 10,403 samples for the four genera described above. In the zone of risk for the transmission of this virus (Darién, Emberá-Wounaan, Kuna Yala and Panama East), approximately 800 (60%) negative samples have been processed for Dengue, Zika and Chikungunya from these areas, and in none of the Cases have been detected circulation of yellow fever virus.

Resumen:53

AISLAMIENTO DE LEPTOSPIRA PATÓGENA SPP. EN AGUA DE PLUMA DE LA RESIDENCIA DE UN PACIENTE POSITIVO POR LEPTOSPIROSIS EN LA PROVINCIA DE COCLÉ, PANAMÁ

Y.Samudio¹, D. Moreno¹, F Ruiz¹, E. Tejeira¹, L. Samudio¹, Domicio Espino².

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud -Epidemiología Región de Coclé.

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de potencial epidémico, principalmente después de lluvias fuertes, causada por una bacteria del género *Leptospira* el cual incluye especies patogénicas y saprofitas. Las especies que son patógenas para el hombre y los animales son capaces de producir infecciones potencialmente mortales de los riñones, el hígado, el cerebro, los pulmones y/o el corazón. Hay dos maneras comunes de contraer la leptospirosis: Al beber o tener contacto con agua o tierra que haya sido contaminada por orina o líquidos corporales de animales infectados. Al estar expuesto a orina o líquidos corporales de animales infectados. En este estudio se

pretendía detectar la presencia de Leptospiras patógenas en las muestras de agua de la residencia de un paciente diagnosticado positivo por leptospirosis mediante la técnica de microaglutinación (MAT), enviadas por Epidemiología de la región de Coclé como posible fuente de infección. El procedimiento consistía en inocular 1000 µl de la muestra de agua, previamente filtrada a través de filtros Nalgene® de membrana estéril de 0.2 µm, en 5mL de medio líquido Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) enriquecido e incubado a 30°C. Los cultivos fueron examinados semanalmente bajo microscopía de campo oscuro en búsqueda de la presencia de espiroquetas. Al cabo de 2 semanas se demostró la presencia de espiroquetas características de Leptospira. Para confirmar que las espiroquetas observadas eran Leptospiras patógenas se le realizo el método de PCR punto final. Se utilizaron cebadores específicos para Leptospira patógena dirigidos a amplificar un fragmento de 423 pb del gen LipL32 único y altamente conservado en la Leptospira patógena. Los resultados confirmaron que las espiroquetas vistas en el cultivo eran Leptospira patógena.

Como conclusión este estudio resalta la importancia de llevar a cabo estudios más profundos sobre la prevalencia de Leptospira patógenas spp., en agua de consumo humano y/o recreacionales cerca de pacientes positivos con leptospirosis, como posibles fuentes de infección e integrar la vigilancia de Leptospira en futuros programas de salud pública para áreas recreativas de agua dulce.

[ISOLATION OF PATHOGENIC LEPTOSPIRA spp. IN FOSIT WATER FROM THE RESIDENCE OF A POSITIVE PATIENT IN THE PROVINCE OF COCLÉ, PANAMA]

Leptospirosis is a zoonotic disease of epidemic potential, mainly after heavy rains, caused by a bacterium of the genus *Leptospira* which includes pathogenic species and saprophytes. Species that are pathogenic to humans and animals are capable of producing life-threatening infections that affect the kidneys, liver, brain, lungs and / or heart. There are two common ways to contract leptospirosis: drinking or having contact with water or soil that has been contaminated by urine or body fluids of infected animals, or exposed to urine or body fluids of infected animals. The aim of this study was to detect the presence of pathogenic Leptospiras in water samples from the residence of a patient diagnosed positive for leptospirosis using the microagglutination (MAT) technique. The procedure consisted of inoculating 1000 µl of

the water sample, previously filtered through Nalgene® sterile membrane filters of 0.2 µm, in 5 ml of liquid medium Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) enriched and incubated at 30°C . The cultures were examined weekly under dark field microscopy in search of the presence of spirochetes. After 2 weeks the presence of spirochetes characteristic of Leptospira was demonstrated. To confirm that the spirochetes observed were pathogenic Leptospiras, the endpoint PCR method was performed. Specific primers for pathogenic Leptospira were used to amplify a fragment of 423 bp of the unique and highly conserved LipL32 gene in the pathogenic Leptospira. The results confirmed that the spirochetes seen in the culture were pathogenic Leptospira. In conclusion, this study highlights the importance of carrying out more in-depth studies on the prevalence of pathogenic Leptospira spp., in human consumption water and / or recreational near positive patients with leptospirosis, as possible sources of infection and integrate the surveillance of Leptospira in future public health programs for recreational areas of fresh water.

Resumen:

SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DEL VIRUS ZIKA EN PANAMÁ

D Araúz

Departamento Nacional de Epidemiología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud y Ministerio de Salud.

El virus de Zika es un flavivirus, familia *Flaviviridae*, transmitido por mosquitos que se identificó por vez primera en macacos (Uganda, 1947). Posteriormente, en 1952, se identificó en el ser humano en Uganda y la República Unida de Tanzania. En marzo de 2015 Brasil notificó un gran brote de enfermedad exantemática que rápidamente se identificó como consecuencia de la infección por el virus de Zika, después de lo cual el virus se propagó rápidamente a través de Américas. En Panamá se registraron los primeros casos de enfermedad exantemática asociada a Zika en noviembre del 2015 en la región de Guna Yala, en el este de Panamá, frontera con Colombia. Durante el inicio de este brote los pacientes presentaron principalmente fiebre y exantema, además de uno de los siguientes síntomas: cefalea, artralgia, mialgia o conjuntivitis. La caracterización inicial se realizó mediante rRT-PCR específica para Flavivirus seguido de secuenciación donde se pudo identificar al

virus del Zika como causante de este brote. En el año 2015 tuvimos un total de 39 casos de Zika, distribuidos principalmente en el área de Guna Yala. A finales de diciembre del 2015 el virus Zika se fue dispersando rápidamente hacia el área metropolitana de la ciudad, causando pequeños brotes en el área de San Miguelito y Panamá Oeste. Durante el 2016, aparecen los primeros casos de microcefalia (5 casos) y Guillain Barré (3 casos) asociados a el virus Zika, se registraron un total de 771 casos de Zika, de los cuales 48 corresponden a mujeres embarazadas. Para el año 2017 los casos de Zika empiezan a disminuir teniendo un total de 457 casos; pero el virus se dispersó hacia el interior del país, encontrándose la provincia de Los Santos en el segundo lugar con más casos, se observaron además 47 embarazadas positivas, 2 casos de Guillain Barré y 12 recién nacidos con microcefalia asociada a Zika y 7 madres positivas cuyo producto presentaban microcefalia u otra malformación. Durante el 2018 sólo se detectaron un total de 83 casos de Zika, de los cuales 2 eran mujeres embarazadas, cinco presentaron microcefalia y dos casos de síndromes neurológicos asociados a Zika. Las áreas de mayor prevalencia son el área metropolitana de la ciudad, Panamá Oeste y la provincia de Herrera las de mayor incidencia. Hasta la semana 22 del 2019 solo tenemos 5 casos positivos por Zika, sin embargo, creemos que esto se debe a que el paciente acude tarde a la consulta, la carga viral de Zika es muy baja o en su gran mayoría (80%) los casos son asintomáticos. Los datos presentados son una recopilación de los resultados obtenidos por parte del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, en conjunto con el Departamento de Epidemiología del MINSA.

[EPIDEMIOLOGICAL SITUATION OF ZIKA VIRUS IN PANAMA]

Zika virus is a flavivirus, family *Flaviviridae*, transmitted by mosquitoes that was first identified in macaques (Uganda, 1947). Later, in 1952, he identified himself as a human being in Uganda and the United Republic of Tanzania. In March 2015, Brazil reported a large outbreak of rash that was quickly identified as a result of Zika virus infection, after which the virus spread rapidly throughout the Americas. In Panama, the first cases of Zika-associated rash disease were registered in November 2015 in the Guna

Yala region, in eastern Panama, bordering Colombia. During the onset of this outbreak patients presented mainly fever and rash, in addition to one of the following symptoms: headache, arthralgia, myalgia or conjunctivitis. The initial characterization was performed by rRT-PCR specific for Flavivirus followed by sequencing where the Zika virus could be identified as the cause of this outbreak. In 2015 we had a total of 39 cases of Zika, distributed mainly in the area of Guna Yala. At the end of December 2015, the Zika virus spread rapidly towards the metropolitan area of the city, causing small outbreaks in the San Miguelito and Panama Oeste area. During 2016, the first cases of microcephaly (5 cases) and Guillain Barré (3 cases) associated with the Zika virus appear, a total of 771 cases of Zika were registered, of which 48 correspond to pregnant women. By 2017, Zika cases begin to decrease with a total of 457 cases; but the virus spread to the interior of the country, being the province of Los Santos in the second place with more cases, there were also 47 positive pregnant women, 2 cases of Guillain Barré and 12 newborns with Zika-associated microcephaly and 7 positive mothers whose product presented microcephaly or other malformation. During 2018, only a total of 83 cases of Zika were detected, of which 2 were pregnant women, five had microcephaly and two cases of neurological syndromes associated with Zika. The areas with the highest prevalence are the metropolitan area of the city, Panama Oeste and the province of Herrera, with the highest incidence. Until the 22th week of 2019, we only have 5 positive cases for Zika; however, we believe that this is because the patient delays getting medical care. Zika's viral load is very low or the vast majority (80%). cases are asymptomatic. The data presented are a compilation of the results obtained by the Gorgas Memorial Institute for Health Studies, together with the Department of Epidemiology of the MINSA.

Resumen:55

ANÁLISIS METAGENÓMICO DE COMUNIDADES DE BACTERIAS ASOCIADAS A ROEDORES DE PANAMÁ.

G García^{1,4}, D. Gonzalez¹, M. Ávila², E. López³, J. Salazar¹, T. Salinas¹, P. González¹, L. Mejía^{3, 4}, B. Armién¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud,

²Ministerio de Salud, ³INDICASAT-AIP, ⁴Universidad de Panamá.

El análisis metagenómico basado en técnicas de secuenciación de ADN de nueva generación (NGS) se ha aplicado a la caracterización taxonómica y funcional de comunidades microbianas en diferentes ecosistemas.

Estas técnicas se han aplicado recientemente a la investigación de agentes infecciosos asociados a hospederos humanos y animales. Los animales silvestres, particularmente los roedores, son considerados los principales reservorios de patógenos responsables de numerosas enfermedades zoonóticas emergentes en humanos y otras especies animales. En Panamá no existen estudios que permitan conocer la diversidad de especies y composición taxonómica de comunidades de bacterias presentes en poblaciones de roedores. En este sentido, el análisis metagenómico de bacterias basado en NGS provee una herramienta útil para la identificación taxonómica rápida de bacterias presentes en roedores. El objetivo de este estudio fue realizar un análisis metagenómico de comunidades de bacterias asociadas a seis especies de roedores de Panamá usando NGS de amplicones del gen que codifica para ADNr 16S, a fin de establecer un listado de taxones bacterianos y estimar la diversidad y abundancia relativa de bacterias de cada especie de roedor. Para los análisis moleculares, se extrajo ADN de bazo de 49 roedores recolectados en ocho localidades del país y se amplificó con cebadores universales las regiones V5 y V6 del gen 16S. Los amplicones fueron secuenciados empleando la plataforma Illumina MiSeq y las secuencias resultantes se analizaron bioinformáticamente con el programa QIIME. Se logró secuenciar amplicones de un total de 24 roedores y se generaron un total de 387,038 secuencias de 250pb. Los dos Phyla de bacterias más abundantes fueron Firmicutes y Proteobacteria. Se detectaron los siguientes géneros con potencial zoonótico cuya abundancia relativa varió desde 0.1% hasta 64.9%: *Bacillus*, *Bartonella*, *Clostridium*, *Coxiella*, *Dermatophilus*, *Francisella*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rickettsia*, *Serratia*. En conclusión, este estudio ha mostrado la presencia de bacterias que poseen potencial zoonótico en poblaciones de roedores en Panamá y ha permitido generar información para prever futuros riesgos de transmisión o brotes de enfermedades transmitidas por roedores entre humanos y diversos hospederos animales. Además servirá como base para trabajos posteriores en otros hospederos.

[METAGENOMIC ANALYSIS OF COMMUNITIES OF BACTERIA ASSOCIATED WITH ROEDORES DE PANAMA]

Metagenomic analysis based on new generation DNA sequencing techniques (NGS) has been applied to the taxonomic and functional characterization of microbial communities in different ecosystems. These techniques have recently been applied to the investigation of infectious agents associated with human and animal hosts. Wild animals, particularly rodents, are considered the main reservoirs of pathogens responsible for numerous emerging zoonotic diseases in humans and other animal species. In Panama there are no studies that allow to know the diversity of species and taxonomic composition of bacteria communities present in rodent populations. In this sense, the metagenomic analysis of bacteria based on NGS provides a useful tool for the rapid taxonomic identification of bacteria present in rodents. The objective of this study was to perform a metagenomic analysis of bacterial communities associated with six species of Panama rodents using NGS of amplicons of the gene that encodes 16S rDNA, in order to establish a list of bacterial taxa and estimate the relative diversity and abundance of bacteria from each species of rodent. For molecular analyzes, spleen DNA from 49 rodents collected in eight locations in the country was extracted and regions V5 and V6 of the 16S gene were amplified with universal primers. The amplicons were sequenced using the Illumina MiSeq platform and the resulting sequences were analyzed bioinformatically with the QIIME program. Amplicons of a total of 24 rodents were sequenced and a total of 387,038 250 bp sequences were generated. The two most abundant bacteria Phyla were Firmicutes and Proteobacteria. The following genera with zoonotic potential were detected whose relative abundance varied from 0.1% to 64.9%: *Bacillus*, *Bartonella*, *Clostridium*, *Coxiella*, *Dermatophilus*, *Francisella*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rickettsia*, *Serratia*. In conclusion, this study has shown the presence of bacteria that have zoonotic potential in rodent populations in Panama and has allowed the generation of information to anticipate future risks of transmission or outbreaks of rodent-borne diseases among humans and various animal hosts. It will also serve as a basis for further work in other hosts.

Resumen:56

DISTRIBUCIÓN TEMPORO-ESPACIAL DE LA INFECCIÓN POR HANTAVIRUS POR FULVESCENSES DE OLIGORYZOMYS EN AGUA BUENA, PANAMA

B Armién¹, PL Ortiz², P Gonzalez¹, A Cumbre¹, A Rivero²,

M Avila³, AG Armén⁴, F Koster⁵, G Glass⁶

¹Gorgas Memorial Institute for Health Studies, ²Climate Center, Meteorology Institute, ³Ministry of Health ⁴University of Minnesota, ⁵Lovelace Respiratory Research Institute, ⁶The Emerging Pathogens Institute and Department of Geography .

En Panamá, el síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) se debe a una infección con el virus Choclo, que se transmite por la rata de arroz (*Oligoryzomys fulvescens*). La infección por hantavirus es endémica en las zonas rurales del centro-oeste de Panamá, un área caracterizada por una combinación muy dinámica de agricultura de subsistencia e industrial. Esta región contiene una de las prevalencias más altas de anticuerpos contra el hantavirus (16-62%) en humanos en el continente, pero con baja mortalidad (17%) en la población afectada. Las personas se infectan dentro y alrededor del área del hogar. La evidencia apunta al aumento y la naturaleza dinámica de la actividad agrícola en esta región como las causas principales del aumento de la infección por hantavirus en humanos en Panamá. Este estudio se realizó con una alta resolución temporal-espacial que captura mejor la rapidez con la que cambian las abundancias de las poblaciones de reservorios, alterando este aspecto de la propagación zoonótica de patógenos. Prácticamente, los resultados demuestran un desafío importante en el monitoreo o predicción de brotes de enfermedades zoonóticas a nivel de poblaciones de reservorios.

Estas poblaciones están sujetas a fluctuaciones en el tiempo (tanto dentro como entre años). Las poblaciones mismas están geográficamente restringidas, incluso dentro de su rango más amplio. Los hábitats adecuados para los roedores pueden cambiar, pero son poco conocidos. Nuestros resultados son valiosos para comprender la dinámica del hantavirus en Panamá y en muchos otros países de Norte a Sudamérica en los que los hantavirus son endémicos en las

poblaciones de huéspedes.

[TEMPORAL-SPACIAL DISTRIBUTION OF RODENT-BORNE HANTAVIRUS INFECTION BY OLIGORYZOMYS FULVESCENTS IN THE AGUA BUENA REGION - PANAMA]

In Panama, hantavirus pulmonary syndrome (HPS) is due to infection with the Choclo virus, which is transmitted by the rice rat (*Oligoryzomys fulvescens*). Hantavirus infection is endemic in rural, Central-West Panama, an area characterized by a very dynamic combination of subsistence and industrial agriculture. This region contains one of the highest hantavirus antibody prevalence (16-62%) in humans on the continent, but with low mortality (17%) in the affected population. People become infected in and around the household area. Evidence points to the increase in and dynamic nature of agricultural activity in this region as the primary causes of increased hantavirus infection in humans in Panama. This study was conducted on a high spatio-temporal resolution that better captures how rapidly the abundances of reservoir populations shift-altering this aspect of zoonotic spillover of pathogens. Practically, the results demonstrate an important challenge in monitoring or predicting zoonotic disease outbreaks at the level of reservoir populations. These populations are subject to fluctuations over time (both within and among years). The populations themselves are geographically restricted, even within their broader range. Suitable habitats for rodents may change but are poorly understood. Our results are valuable to understand hantavirus dynamics in Panama and the many other countries from North to South America in which hantaviruses are endemic in host populations.

Resumen:57

DETECCIÓN DE ENFERMEDAD POR HANTAVIRUS MEDIANTE EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

J. Salazar¹, T. Salinas¹, G. González¹, J. Castillo¹, Y. Mendoza¹, Y. Zaldivar¹, J.M. Pascale¹, B. Armén¹

¹Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

El *Hantavirus* fue detectado en Panamá en el año 2000 durante brote en la Península de Azuero donde pacientes presentaban una neumonía atípica caracterizada por insuficiencia respiratoria, fiebre y trombocitopenia, por lo que se requirió una prueba para el adecuado diagnóstico diferencial. La infección por hantavirus se puede detectar mediante pruebas serológicas en conjunto con el análisis clínico que solicite el médico, sin embargo el diagnóstico molecular es capaz de determinar, en muestras agudas, la presencia del virus Choclo, *Hantavirus* circulante en Panamá y que causa Síndrome Cardiopulmonar por *Hantavirus* (SCPH) o Fiebre por *Hantavirus* (FH). En el año 2016 se publicó la Guía para el Manejo de la Enfermedad por *Hantavirus* en Panamá para fortalecer la vigilancia epidemiológica y entre otras cosas, sensibilizar al sistema para la detección temprana de la enfermedad. Objetivo: Presentar el proceso de diagnóstico que realiza el ICGES para responder de manera oportuna las solicitudes del personal médico que se encuentra a cargo de pacientes con un diagnóstico clínico dudoso y que proceden de áreas de riesgo de transmisión del *Hantavirus*. Metodología: Para el diagnóstico serológico se utilizan dos técnicas, un kit de ELISA IgM comercial contra *Hantavirus* y la técnica de Inmunoblot mediante tiras con proteína N de virus Sin Nombre, que se produce en el ICGES. Para el diagnóstico molecular se utiliza PCR tiempo final que consiste en una RT-PCR y una Nested PCR específica para virus Choclo. Se recurre a la secuenciación en algunos casos especiales. Resultados: Las pruebas de laboratorio junto con la Guía de Manejo de la Enfermedad por *Hantavirus* en Panamá han ayudado a detectar la enfermedad de manera oportuna mediante el diagnóstico médico/clínico y de manera precisa mediante el diagnóstico de laboratorio. El Inmunoblot (IgM-IgG), técnica serológica confirmatoria, tras ser mejorada y estandarizada en los últimos años ha logrado una mejor visualización del resultado, siendo utilizada también para detectar anticuerpos IgG en roedores capturados en áreas donde se dan casos en humanos y detectar el posible lugar de transmisión del virus. Conclusión: Tener un método de diagnóstico fiable y rápido es esencial a la hora de determinar un brote. La sensibilización del personal de salud juega un papel importante para que la información de prevención llegue a las poblaciones con riesgos potenciales de la transmisión del *Hantavirus*.

[HANTAVIRUS DISEASE DETECTION THROUGH THE LABORATORY DIAGNOSIS]

Hantavirus was detected in Panama in 2000 during an outbreak in the Azuero Peninsula where patients presented atypical pneumonia characterized by respiratory failure, fever and thrombocytopenia, so a test was required for proper differential diagnosis. Hantavirus infection can be detected by serological tests in conjunction with the clinical analysis requested by the doctor; however, the molecular diagnosis is able to determine, in acute samples, the presence of Choclo virus, circulating *Hantavirus* in Panama and causing Cardiopulmonary Syndrome by *Hantavirus* (SCPH) or *Hantavirus* Fever (HF). In 2016, the Guide for the Management of *Hantavirus* Disease in Panama was published to strengthen epidemiological surveillance and among other things, sensitize the system for the early detection of the disease. Objective: Here, we present the diagnostic process carried out by ICGES to respond in a timely manner to the requests of medical personnel who are in charge of patients with a doubtful clinical diagnosis and who come from areas of risk of transmission of *Hantavirus*. Methodology: For the serological diagnosis, two techniques are used, a commercial IgM ELISA kit against *Hantavirus* and the Immunoblot technique using strips with N-protein of Unnamed virus, which is produced in ICGES. For the molecular diagnosis, end-time PCR is used, which consists of an RT-PCR and a specific PCR for Choclo virus. Sequencing is used in some special cases. Results: Laboratory tests together with the *Hantavirus* Disease Management Guide in Panama have helped to detect the disease in a timely manner through medical / clinical diagnosis and precisely through laboratory diagnosis. The Immunoblot (IgM-IgG), confirmatory serological technique, after being improved and standardized in recent years has achieved a better visualization of the result, being also used to detect IgG antibodies in rodents captured in areas where human cases occur and detect possible place of transmission of the virus. Conclusion: Having a reliable and fast diagnostic method is essential when determining an outbreak. Awareness of health personnel plays an important role so that prevention information reaches populations with potential risks of *Hantavirus* transmission.