

educativo-comunicacional que incluye la difusión, aplicación y uso de los materiales de IEC elaborados y validados.

Para que sea exitoso este proceso, se recomienda utilizar estrategias de comunicación interpersonal (consejería, visita domiciliaria) acompañadas de estrategias grupales (sesiones demostrativas y otros talleres vivenciales, ferias, pasacalles, teatro, campañas escolares, comunales, distritales, regionales, entre otras). Simultáneamente, se buscará la intervención de los diferentes medios de comunicación (radio, televisión, prensa escrita) para reforzar los contenidos educativos que se desarrollan en los espacios interpersonal y grupal.

Para evaluar la eficacia de una intervención educativo-comunicacional, es deseable definir previamente algunas sedes piloto con las que se trabajará con fines de investigación, recogiendo una información basal de los comportamientos que se quieren modificar para contrastarlos con los comportamientos postintervención. Este tipo de estudios objetivizan los beneficios de la intervención y permiten hacer los ajustes del caso para su implementación a nivel nacional con las adaptaciones según las características regionales.

Por otro lado, si se quiere garantizar la sostenibilidad de la práctica de comportamientos y estilos saludables de vida, será preciso involucrar desde los inicios de la intervención la participación comprometida de la población y el trabajo coordinado con otros actores sociales de la región y de la localidad bajo un enfoque intersectorial e interinstitucional.

Es importante destacar que las intervenciones que promueven el cambio de comportamientos en salud deben considerar como estrategia fundamental el trabajo con el sector educación. A través de ese entorno de aprendizaje que es la

escuela, será factible promover comportamientos saludables de vida desde los niveles formativos de la personalidad: la niñez y la adolescencia. Recordemos que los cambios de comportamientos y actitudes son más factibles de alcanzar si se actúa en edades tempranas.

Esto presupone estar en condiciones de ofrecer, desde nuestro sector, herramientas educativas con contenidos de salud, alimentación y nutrición para docentes y otros facilitadores del proceso de transferencia educativa, así como materiales de carácter lúdico para escolares que puedan transformarse, gracias a la informática, en *software* educativo de carácter interactivo, como parte de un proyecto escolar integral de educación virtual en salud.

Todas estas actividades, obviamente, deberán estar sujetas siempre a un proceso de monitoreo y evaluación, a fin de ir perfeccionando en el camino, procedimientos y metodologías para asegurar la calidad y sostenibilidad de la intervención en el tiempo.

Esta labor constituye todo un desafío, pero en todo caso ha llegado el momento de unir voluntades y esfuerzos para mejorar y elevar la calidad de vida de nuestra población. Es su derecho y una responsabilidad social que tiene que asumirse a plenitud.

### **DETECCIÓN DE VIRUS INFLUENZA A/H5N1 MEDIANTE TRANSCRIPCIÓN REVERSA-PCR (RT-PCR)**

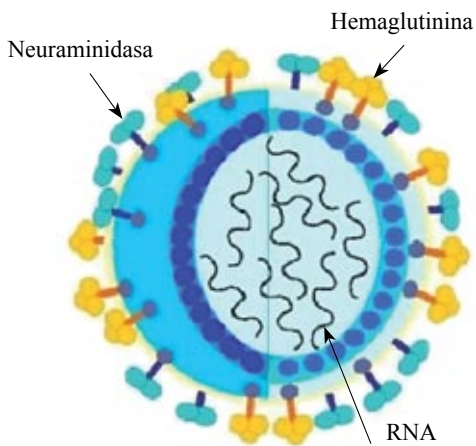
**Omar Cáceres<sup>1</sup>, Janet Otárola<sup>2</sup>,  
Maribel Huaranga<sup>2</sup>, Ivonne Torres<sup>2</sup>**

El virus influenza pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* y comprende tres tipos A, B y C; es un virus con envoltura cuyo genoma consiste en una molécula de RNA de ocho

<sup>1</sup> Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular. Instituto Nacional de Salud.

<sup>2</sup> Laboratorio de Virus Respiratorios.

segmentos individuales de polaridad negativa. La envoltura presenta dos glicoproteínas principales, la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA) (Figura 1) que son las responsables de generar la respuesta inmunológica del hospedero, además, las mutaciones puntuales que presentan sus respectivos genes son las responsables de la generación de los diferentes subtipos del virus influenza; hasta el momento existen 15 subtipos HA y nueve subtipos NA.



**Figura 1.** Virus de la influenza

Los subtipos A/H1N1, A/H2N2 y A/H3N2 causan infecciones respiratorias agudas en humanos, los dos primeros han sido asociados con epidemias y pandemias hasta fines de los años 60 (Kilbourne E. 2006), también a fines de la década de 1960 emergió el subtipo H3N2 en Hong Kong causando graves epidemias en el mundo.

A partir del año 2002 emergió un nuevo subtipo denominado A/H5N1 (Webster R. *et.al.* 2006), muy virulento y de elevada mortalidad y que principalmente afecta a las aves migratorias; pronto el virus infectó a las aves de granja que tuvieron contacto cercano con las aves infectadas, tiempo después de su aparición (a fines del 2003) se reportaron los primeros casos de infección en humanos, principalmente en traba-

jadores de granjas de aves de diferentes países del sudoeste de Asia (Webster R. *et.al.* 2006). Conforme fueron pasando los años, se han ido reportando casos humanos en diversos países de Europa, Asia y África.

El virus se transmite entre aves a través de aerosoles, los casos humanos fueron debido a la exposición constante que tuvieron con aves infectadas por lo que se puede decir que el contagio es accidental pues el hombre, hasta el momento, no es un hospedero definitivo. La elevada inestabilidad genética del virus hace que el riesgo de una transmisión hombre a hombre sea cuestión de tiempo.

Ante este panorama y dada la elevada mortalidad del virus H5N1 y su rápida diseminación, se ha generado una gran preocupación a nivel mundial de modo que muchos países han adoptado medidas de prevención y control para evitar que el virus de la "gripe aviar" ingrese. Ante esta situación el Ministerio de Salud del Perú ha puesto en marcha un plan de contingencia contra la gripe aviar, que permitirá la vigilancia y la detección temprana de este virus en caso se dé su ingreso.

El Instituto Nacional de Salud, como centro de referencia nacional encargado de la investigación y diagnóstico de enfermedades infecciosas, ha adoptado diversas medidas orientadas a enfrentar el posible ingreso de este subtipo, entre ellas la detección temprana de la infección este virus, utilizando técnicas moleculares.

Para lograr este objetivo se ha estandarizado la técnica de Transcripción Reversa acoplado a la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR) para la detección temprana y específica de virus H5N1, en un trabajo conjunto entre el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular y el Laboratorio de Virus Respiratorios del INS.

A partir de 140 uL de virus H5N1 inactivado proveniente de un kit de hemoaglutinación para

este virus, se extrajo el ARN viral utilizando el kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) siguiendo el procedimiento descrito por el fabricante. De igual modo se extrajo RNA humano proveniente de un donador sano.

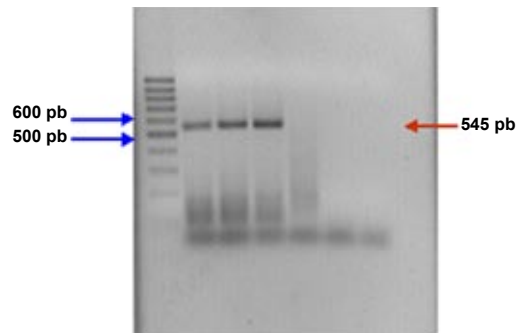
El RT-PCR se realizó de acuerdo a lo reportado por Lee M.S. *et.al.* 2001, pero con modificaciones; después de varios ensayos de estandarización se estableció la transcripción reversa utilizando el kit *SuperScript II* (INVITROGEN) siguiendo las instrucciones del fabricante, utilizándose para ello 10 pmoles de concentración final del primer H5F, 1uL del RNA viral y 100U de la transcriptasa reversa en 25uL de volumen final de la reacción.

Para el PCR siguiente se utilizó 1,5 pmoles de cada uno de los *primers* (H5F y H5R), *buffer* de PCR 1X, 2mM de magnesio, 1mM de DNTPs, 1U de enzima DNA polimerasa y 2 uL del cDNA generado para un volumen final de 25 uL de reacción.

El RT fue realizado a 42 °C por 45 minutos luego del cual la enzima fue inactivada a 70 °C por 15 minutos. Los parámetros del PCR fueron los siguientes. 95 °C por 10 min, 35 ciclos de 95 °C por 30 s (denaturación), 50 °C por 40 s, (*annealing*) y 72 °C por 40 s (extensión), finalmente una extensión final de 72 °C por 10 min.

Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, luego del cual el gel fue teñido con bromuro de etidio (1ug/mL) y finalmente, los productos fueron visualizados en un transiluminador UV.

Se obtuvo una amplificación exitosa de 545 pb a partir de un ARN viral cuya concentración fue de 78ng. El PCR es específico pues no hubo amplificación con ARN humano (100ng) por lo que podría ser de gran utilidad para detectar la presencia del virus a partir de muestras humanas (Figura 2).



**Figura 2.** Amplificación de la porción HA1 del gen de la hemaglutinina (HA) de 545 pb del virus Influenza H5N1. Carril 1: Marcador de peso molecular 100 pb; Carril 2: RNA viral (78ng); Carril 3: RNA viral (156ng); Carril 4: RNA viral (234 ng); Carril 5: RNA humano (100ng); Carril 6: Control de sistema del RT (sin RNA); Carril 7: Control de sistema de PCR (Sin cDNA)

Finalmente el Instituto Nacional de Salud cuenta, a partir de ahora, con una nueva metodología molecular para detectar temprana y específicamente la presencia del virus Influenza H5N1, que se suma a las otras diferentes metodologías que ya posee (Hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta) para diagnosticar la presencia de los otros subtipos del virus de la influenza humana.

Actualmente el Instituto Nacional de Salud cuenta con el Laboratorio de Microbiología y Biomedicina, que agrupa diversos laboratorios donde se investigan patógenos de bioseguridad II, y pronto inaugurará un área de bioseguridad III donde se manejarán patógenos de elevada virulencia como por ejemplo, el virus influenza H5N1.

El procedimiento descrito por primera vez en el país así como el Laboratorio de Microbiología y Biomedicina, coloca la INS a la vanguardia de la investigación en enfermedades infecciosas en la región.

## Bibliografía

- Kilbourne E. D. Influenza pandemics of the 20th century. 2006. Emerging infectious Diseases 12(1): 9-14
- Lee M.S; Chang P.C; Shien J.H; Cheng M.C and Shieh H.K. 2001. Identificaction and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. J. Virol. Methods 97: 13-22
- Webster R.G; Peiris M; Chen H and Guan Y. 2006. H5N1Outbreaks and enzootic influenza. Emerging infectious Diseases 12(1): 3-8

## ABORDANDO LA PROBLEMÁTICA DE LA SALUD INDÍGENA

### Javier Vargas H.

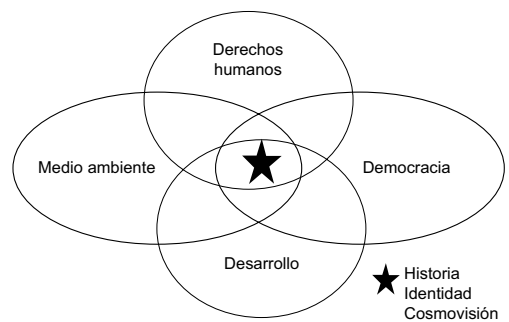
El Perú es un país pluricultural en el que los pueblos indígenas de la región andina y amazónica van recobrando poco a poco su derecho a la inclusión y a ser considerados actores sociales. En la actualidad, la población indígena de la Amazonía peruana está compuesta por 42 pueblos indígenas que habitan en 11 regiones del país y 118 distritos, en su gran mayoría de extrema pobreza.

La situación de salud de estas comunidades es sumamente deficiente. Según documentos de la Municipalidad Distrital del Río Tambo, actualmente gobernado por un alcalde asháninka, se calcula que la tasa de mortalidad infantil es superior a 100 por cada 1000 nacidos vivos y la desnutrición infantil alcanza al 80%. De acuerdo con su diagnóstico, la presencia de servicios de salud en la zona no se traduce en una mejora de la situación de salud de los indígenas, debido principalmente a la implementación de un modelo "occidentalizado", que no reconoce ni incorpora a la medicina tradicional, ni a los agentes de salud asháninkas, creando una brecha entre el personal de salud y la población.

Según Rocío Rojas (1) de la Organización Panamericana de la Salud, los indicadores de sa-

lud convencionales son insuficientes para evaluar cabalmente las condiciones de vida de los pueblos indígenas, especialmente porque no contribuyen al análisis de los potenciales individuales y colectivos que les permiten a estos pueblos sobrevivir en circunstancias adversas. En esta perspectiva, considera necesario incorporar nuevos paradigmas que complementen los marcos conceptuales utilizados en la búsqueda de respuestas a las necesidades de los pueblos indígenas en materia de salud. La Dra. Rojas refiere: *en la vida de los pueblos indígenas, los principales referentes son la cultura y las concepciones, percepciones, valores e insumos, generados por su cosmovisión para el mantenimiento y restauración de su bienestar.*

La investigadora de la OPS propone que la investigación incorpore nuevas dimensiones de análisis de la problemática de salud indígena, puesto que ésta es un eje que atraviesa los derechos humanos, la democracia, el desarrollo, el medio ambiente y la comprensión de la cultura, así como, la identidad y cosmovisión de estos pueblos a partir de una nueva aproximación a la historia.



Fuente: Rojas Almeida, Rocío. Crecer sanitos. OPS 2003

**Figura 1.** Abordaje multidireccional de la problemática indígena.

El Instituto Nacional de Salud, atento a los signos de los tiempos, ha convocado en el "VII Concurso Nacional para Proyectos de Investigación con impacto en la Salud Pública del país, año 2006"; el abordaje de la problemática indígena.