

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD
UNAN-Managua/CIES

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud
Cohorte 2015-2018



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA



**Epidemiología molecular de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y
Plasmodium falciparum en Nicaragua de 2013 a 2020**

Tesis para optar al grado científico de: “Doctor en Ciencias de la Salud”

Autor: Betzabé Mara Rodríguez
MSc. Epidemiología

Tutor: Dra. Lilia González-Cerón
Docente e investigador
INSP México

Managua, Nicaragua, 4 junio de 2024.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN.....	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
ABREVIATURAS.....	IV
GLOSARIO	VI
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. ANTECEDENTES	5
III. JUSTIFICACIÓN	12
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
V. OBJETIVOS.....	16
VI. MARCO TEÓRICO.....	17
VII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	51
VIII. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADO	62
IX. ANALISIS DE RESULTADOS	98
X. CONCLUSIONES	110
XI. RECOMENDACIONES	111
XII. LIMITACIONES.....	112
XIII. BIBLIOGRAFIA	113
XIV. ARTÍCULOS	133
ANEXOS	134

INDICE DE TABLAS

No Tabla	página
Tabla 1 <i>Clasificación de los casos confirmados de paludismo, Nicaragua 2013-2020</i>	63
Tabla 2 <i>Distribución de casos autóctonos por SILAIS 2013-2020</i>	64
Tabla 3 <i>Clasificación de los tipos de casos de paludismo SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	67
Tabla 4 <i>Frecuencia de casos autóctonos por grupo de edad y sexo SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	72
Tabla 5 <i>Casos de paludismo por municipio y procedencia SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	74
Tabla 6 <i>Distribución de P. vivax y P. falciparum por municipio SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	75
Tabla 7 <i>Casos de paludismo en grupos étnicos por periodo de estudio, SILAIS Bilwi</i>	76
Tabla 8 <i>Casos P. vivax, P. falciparum y mixtas en grupos étnicos SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	77
Tabla 9 <i>Resumen de los casos brotes por SILAIS</i>	83
Tabla 10 <i>Genes pfert, pfdhfr y pfdhps en muestras de la RACCN y Chinandega 2016-2015</i>	86
Tabla 11 <i>Diversidad genética del pvmsp-1 de Nicaragua y otros sitios geográficos</i>	94

INDICE DE FIGURAS

Figura No	Página
Figura 1 <i>Estratos Norma Técnica Malaria 2014</i>	40
Figura 2 <i>Mapa de los estratos Nicaragua 2016</i>	41
Figura 3 <i>Mapa de los estratos Nicaragua 2019</i>	44
Figura 6 <i>Distribución de casos autóctonos por año y especie SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	68
Figura 7 <i>Distribución de los casos autóctonos por SILAIS 2013-2015</i>	69
Figura 8 <i>Distribución de los casos autóctonos por SILAIS 2016-2018</i>	69
Figura 9 <i>Distribución de casos autóctonos por SILAIS 2019-2020</i>	69
Figura 10 <i>Valores de temperatura y precipitación SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	78
Figura 11 <i>Valores de humedad y distribución casos autóctonos SILAIS Bilwi 2013-2020</i>	78
Figura 12 <i>Dinámica de los brotes causado por P. vivax y P. falciparum 2016-2020</i>	80
Figura 13 <i>Línea de base estudios genético P. falciparum</i>	85
Figura 16 <i>Amplificación de fragmentos de genes pfprt y pfmdr1 2018-2020</i>	88
Figura 17 <i>Amplificación de las subfamilias alélicas pfmsp1 y pfmsp2</i>	90
Figura 18 <i>Red de haplotipos de pvmsp1₄₂</i>	95
Figura 19 <i>Capacitación de Microscopistas en preparación de papel filtro</i>	96

RESUMEN

Nicaragua no logra avanzar a la etapa de pre-eliminación del paludismo debido al incremento sostenido de los casos desde 2015, con múltiples brotes detectados en distintos estratos epidemiológicos, causados por una o ambas especies de plasmodio, con este estudio pretendemos analizar los factores epidemiológicos y moleculares de los brotes causados por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* en Nicaragua de 2013 a 2020 para evaluar la presencia y dinámica de los brotes. Se analizaron 75,201 casos autóctonos de paludismo confirmados por microscopia a través de un estudio observacional de corte transversal, se revisaron, además, evaluaciones moleculares realizadas en el país en búsqueda de algunas señales genéticas en los plasmodios. Se encontró que en municipios con distinto estrato epidemiológico de 16 SILAIS se presentaron un total 149 brotes con 41,067 casos incrementándose durante el periodo 2015 - 2020. El SILAIS Bilwi fue el que más casos y brotes registró en todo el período, *Plasmodium vivax* fue la especie predominante. Además, la construcción de una línea basal con los estudios moleculares de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* realizados en las regiones con brotes mostró la presencia de algunas alteraciones genéticas en ambos plasmodios sin que estos genes afectaran el abordaje de la enfermedad. Un conjunto de aspectos epidemiológicos, ambientales y culturales dan a esta zona las condiciones para que la transmisión sea muy activa en ambos plasmodios, ocasionando incluso infecciones mixtas, manteniendo las aéreas endémicas con brotes y surgiendo brotes en otros lugares donde no había transmisión. Se identificaron algunas variaciones genéticas en ambos plasmodios, condición que no fue asociada con la resistencia, pero que podrían conferir al parásito mayor adecuación en la transmisión, por lo que se hace necesario desarrollar estudios genéticos más específicos y dar seguimiento a esta adecuación en evaluaciones posteriores y poder usar esta herramienta para avanzar con mayor conocimiento a la eliminación del paludismo en el país.

Palabras claves *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, brote, marcadores moleculares.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis.

A Dios Padre, Hijo y al Espíritu Santo

Que me guían, me fortalecen, quienes me cubrieron con su energía para terminar en medio de tantas situaciones inimaginables y hacerme ver que con su guía lo imposible se hace posible.

A mis padres Rafael y Rosita

A los que extraño físicamente pero su guía espiritual y consejos aún recuerdo, siendo un importante estímulo y guía para mí.

A mis hijos Carlos, Ernesto y Rafael

Que ya en otra etapa, siempre son mi inspiración para ser su guía, pero además me han inspirado por ver su tenacidad para vencer obstáculos y terminar desafíos.

A Marvin

Compañero, esposo, amigo, crítico, consejero en todos los momentos por todas sus buenas ideas que me han ayudado desde otra perspectiva a terminar esta importante etapa de mi vida.

A Yoquebeth y Cinthia

Mi hermanita y mi sobrina, quienes siempre su confianza y orgullo me animaron aún en los difíciles momentos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a

Dios

Por darme fuerzas aun cuando ya no había, inspiración en medio de la desesperación, perseverancia y esperanza para lograr terminar esta importante etapa de mi formación, por no soltar mi mano ni un instante. **Y a mi familia**, Por ser pacientes conmigo y creer que si podía con este reto

A mi tutora Dra. Lilia González-Cerón

Quien me brindó su apoyo como tutora cuando no tenía uno y me ha brindado sus conocimientos y guía con toda la paciencia que sólo a ella la caracteriza.

A la Dra. Socorro Gross

Por su generosidad y gran corazón, gracias por becarme y creer en nosotros los trabajadores del MINSA Nicaragua.

A las Dras. Sonia Castro y Martha Reyes

Por darme la oportunidad de hacer el doctorado y apoyarme en todo el proceso.

A mi amiga Dra. Ligia Lorena Ortega:

El verdadero valor de la amistad a prueba de tesis, compañera de doctorado y amiga.

Al Dr. Singh Prabhjot

Por sus valiosos consejos para enfocar mi informe

Al Dr. Sergio Gutiérrez y al Dr. Teodoro Tercero

Por sus valiosos aportes académicos, por su confianza, paciencia, guía y consejos

A la Lic. Keyla Dumas Sequeira

Por su valioso apoyo en mi trabajo, por brindarme su tiempo, el que necesitaba para terminar.

ABREVIATURAS

ADN:	Acido desoxirribonucleico
ARN:	Ácido Ribonucleico
AMI:	Iniciativa Amazónica contra la Malaria
CDC:	Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos
CNDR:	Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia
Col-Vol.:	Colaborador Voluntario
CSP:	Proteína de la Superficie del esporozoito, siglas en ingles
CQ:	Cloroquina
DPE:	Dirección de Prevención de Enfermedades
DGVSP:	Dirección General Vigilancia para la Salud Pública
DTI-R	Detección, Diagnóstico, Tratamiento, Investigación y Respuesta
ESAFC:	Equipo de Salud Familiar y Comunitaria
ETV:	Enfermedades Transmitidas por Vectores
FM:	Fondo Mundial de Lucha contra el SIDA, la Tuberculosis y la Malaria
GG:	Gota Gruesa
G6PD:	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GISI:	Grupos Integrales de Salud Intercultural
<i>glrup</i> :	Proteína rica en Glutamato
IEC:	Información, Educación y Comunicación
IES:	Índice de Exámenes de Sangre
IFA:	Índice Anual de <i>Plasmodium falciparum</i>
IVA:	Índice Anual de <i>Plasmodium vivax</i>
ILP:	Índice de Láminas Positivas
IPA:	Índice Parasitario Anual
MINSA:	Ministerio de Salud
MASIRAAN:	Modelo de Atención en Salud Intercultural de la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte
MOSAFC:	Modelo de Salud Familiar y Comunitario.

MOI	Multiplicidad de la infección
MS	Micro-Satélites
MSP:	Proteína de Superficie del Merozoíto
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
<i>P.f.</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P.v.</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa (siglas en inglés)
PDRM:	Pruebas de Diagnóstico Rápido para Malaria
PENM:	Plan Estratégico de la Respuesta Nacional a la Malaria
PQ:	Primaquina
RACCN:	Región Autónoma de la Costa Caribe Norte
RAAN:	Región Autónoma del Atlántico Norte Hoy RACCN
RAVREDA	Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a los Medicamentos Antimaláricos
SILAIS:	Sistema Local de Atención Integral en Salud
SNUS:	Sistema Nacional Único de Salud
SIVE	Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica
SP	Sulfadoxina y Pirimetamina
TCA	Terapia Combinada con base en Artemisinina

GLOSARIO

Criadero: Toda superficie que acumula agua, permanente temporal, donde la hembra del vector deposita sus huevos para que se desarrollen y completar su ciclo biológico (huevo, larva, pupa-adulto).

Criptozoíto: Parásito del paludismo que se desarrolla en las células de los tejidos antes de ingresar a los eritrocitos y da lugar a formas que invaden las células sanguíneas.

Esporogonia: Es una división múltiple de una espora o cigoto dando cada uno de los fragmentos origen a un esporozoíto.

Esporozoítos: Formas infectantes del parásito del paludismo, que corresponde al estadio final de la esporogonia del *Plasmodium* en el mosquito y se desarrollan en los ooquistes y cuando maduran estos parásitos se liberan al hemocele e invaden las glándulas salivales.

Esquizontes: Formas maduras de parásitos de la Malaria en las células hepáticas (esquizontes hepáticos) o en glóbulos rojos (esquizontes eritrocíticos) que están bajo división celular este proceso se le llama esquizogonia.

Gametocito: Forma sexuada y madura del *Plasmodium* o parásito de la Malaria presente en los glóbulos rojos del huésped, los cuales son infectivos para el mosquito.

Infección mixta: Paludismo causado por dos o más plasmodios, encontrado en el mismo paciente, confirmado la presencia de estos plasmodios por microscopia.

Merozoíto: Parásitos liberados en la corriente sanguínea cuando un esquizonte hepático se rompe, los merozoítos invaden entonces los glóbulos rojos.

Ooquiste: Es el estado de desarrollo donde surge el esporozoíto en el que después de la fertilización se produce un cigoto que se desarrolla sobre sí mismo y se encierra en una pared quística.

Prevalencia: Número total de los casos de enfermedad existentes en un momento dado en un grupo de población.

Pluviosidad: Cantidad de lluvia que recibe un sitio en un periodo determinado de tiempo.

Recaída o Recidiva: Es la aparición de parasitemia asexual en paludismo por *P. vivax* y *P. ovale* derivada de formas hepáticas persistentes. Las recidivas ocurren cuando la infección sanguínea ha sido eliminada, pero, los hipnozoítos persisten en el hígado y maduran a esquizontes hepáticos en intervalos variables del tiempo.

Parásito: Todo organismo que vive a expensas de otro, causándole daño.

***Plasmodium*:** Género de protozoarios *plásmidos* que comprende numerosas especies de parásitos de los glóbulos rojos del hombre y de diversos vertebrados. Tienen un alto grado de especialización parasitaria y su ciclo evolutivo es muy complejo. Son los agentes etiológicos del paludismo

I. INTRODUCCIÓN

El Paludismo continúa siendo un problema de salud pública a nivel mundial, de las enfermedades Tropicales, es la de mayor prevalencia (MINSA, 2013). Causada por parásitos del género Plasmodio que se transmiten de una persona a otra a través de la picadura de un mosquito hembra del género Anopheles (OMS, 2015).

El Paludismo es reportado como endémico en más de 100 países por organizaciones mundiales de salud (García, *et al* 2013). La OMS estima que ocurren 241 millones de casos y que el 93% de estos, ocurren en la región africana, 627,000 muertes son causados por el Paludismo, este aumento causado probablemente por la pandemia de COVID-19 (OMS, 2020).

Desde el 2005 hasta 2011 se ha mantenido un fuerte apoyo internacional dirigido para actividades de prevención, control y eliminación del paludismo en muchos países endémicos de la enfermedad (OMS, 2012), lo que se tradujo en un evidente descenso del paludismo para los años 2012-2013 (OPS, 2013).

Una marcada reducción de los casos se experimentó en la década pasada en los países de Mesoamérica y la isla española, de 123,000 casos reportados en el 2000 a 14,798 en 2012, habiendo un pico epidémico en 2005 (ver anexo 1), en donde la especie *Plasmodium vivax* fue la predominante, pero con tendencia a la reducción (Herrera *et al.*, 2015).

En Latino América 19 de los 21 países endémicos reportaron presencia de casos autóctonos entre 2010-2016 una intensa campaña de control se mantuvo desde el 2005 al 2011(OPS, 2016), en 2015 se produce un incremento de los casos en ocho países; Haití, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Honduras, Costa Rica y Surinam la que se mantuvo hasta la semana 41 del 2020, en zonas endémicas como en donde no había habido casos de Paludismo por más de tres años (OPS, 2020).

Diversos factores han sido asociados a los brotes, como la resistencia o baja sensibilidad a los fármacos (Alves *et al.*, 2006), fallas de las pruebas de diagnóstico rápido, uso de tratamientos

poco efectivos, así como el retraso en la aplicación de medidas de control (Gamboa *et al.*, 2010). Otros factores son los eventos climáticos y la movilidad de poblaciones humanas (López *et al.*, 2012), así como la competencia vectorial o la propia genética del vector (González-Cerón *et al.*, 2020), la presencia de eventos especiales que han marcado la historia de la enfermedad y su relación de saber-poder (Blair, 2012).

Entender la epidemiología del paludismo, así como estudiar la participación de los factores biológicos, genéticos y ecológicos que determinan los brotes es esencial para avanzar hacia la eliminación de esta enfermedad (Ketesman *et al.*, 2016). Pero esto aún no ha podido realizarse en algunos países debido a los costos que implican estos estudios (Alves *et al.*, 2006). Una de las estrategias es pensar en estudios moleculares y obtener muestras al momento de los brotes para hacer las evaluaciones posteriormente y caracterizar el brote (Calzada *et al.*, 2015).

En Nicaragua el paludismo es una enfermedad de notificación obligatoria, *P. vivax* y *P. falciparum* son endémicas. El mayor porcentaje de casos es debido a *P. vivax* y la mayor carga de la enfermedad está ubicada en la zona del Atlántico Norte (MINSA-DPE, 2018). En todo el país se aplica tratamiento de primera línea a base de CQ y PQ. Esta última es administrada por tres días a los casos confirmados con *P. falciparum* y por 7 días a los casos confirmados con *P. vivax* y casos mixtos (MINSA-DPE, 2019b).

En el país se han detectado varios brotes de paludismo en zonas de distintos estratos epidemiológicos, causados por una o ambas especies del plasmodio (MINSA-DPE, 2018), esto ha dado lugar a que el país perdiera su condición de fase de control, debido al aumento de la magnitud de la endemia y de la condición de riesgo de las áreas geográficas, presentado actualmente cinco estratos, (MINSA-DPE, 2019a), OMS plantea estos cinco estratos para que los países puedan ajustar sus intervenciones e investigaciones del paludismo producto del incremento de casos en zonas endémicas y presencia de brotes en zonas donde no había casos por más de cinco años, esta nueva escala de estratificación en la que los sectores del país están divididos por la carga de la enfermedad con criterios de focos y presencia de casos permite además optimizar recursos (OMS OPS, 2019).

En Nicaragua se han realizado varios estudios genéticos en ambas especies de plasmodio, para *P. falciparum* se realiza la vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos con marcadores moleculares para identificar mutaciones que sugieran fármaco-resistencia (Sridaran *et al.*, 2014), se han evaluado marcadores que ayuden a identificar los polimorfismos asociados con la tolerancia a la CQ y la SP, detectados en los plasmodios locales e importados de *P. vivax* y *P. falciparum* (Jovel *et al.*, 2011). También se han analizado genes de importancia epidemiológica usando muestras sanguíneas infectadas con *P. vivax*, como los que codifican antígenos de los esporozoítos, *pvcsp* (González-Cerón *et al.*, 2013b), de fase sanguínea *pvmSP1-42* (Gutiérrez *et al.*, 2016), o moléculas involucradas en la resistencia a fármacos; los genes *pvdhfr* y *pvmDR1* (González-Cerón *et al.*, 2017 y 2020).

En este estudio se presenta la epidemiología de la población que fue la más afectada por el paludismo, la identificación de los brotes en el país y su dinámica, así como una línea basal de los genotipos que se han reportado en estudios moleculares realizados en las zonas afectadas por el paludismo en Nicaragua y explorar la relación de estos genes y las posibles causales de los brotes ocurridos de 2013 a 2020, los que nos permitirá dejar evidencia para posteriores estudios que incursionen a detalle en los factores que contribuyen a la persistencia del parásito y brotes en las zonas afectadas.

II. ANTECEDENTES

Muchos factores inciden en que el paludismo emerja o reemerja en una zona donde había o no transmisión, los brotes de paludismo han hecho retroceder los avances hacia la eliminación del paludismo en algunos países. Los estudios descriptivos han sido la forma de analizar y reportar el abordaje de los brotes de paludismo, ante la necesidad de controlarlos inmediatamente, a menudo, sólo quedan los datos generales de los casos y en pocas ocasiones se ha podido tomar muestras hemáticas en papel filtro para poder analizar estos brotes desde una perspectiva molecular.

Estudios realizados en Colombia, la República de Cabo Verde, Panamá, Ecuador y sobre todo en aquellos países que ya habían erradicado la enfermedad evidenciaron que los casos asintomáticos podrían contribuir con aparición de brotes de paludismo (Alvez *et al.*, 2006b). Otras situaciones que pueden contribuir a la presencia de brotes, pueden ser las migraciones humanas, las condiciones ambientales, y vectores transmisores (Calzada, *et al.*, 2015).

En una Investigación realizada durante un brote en Trujillo, Venezuela, lograron establecer que los casos de paludismo introducidos por las migraciones estaban relacionados con los brotes, ellos plantearon la necesidad de fortalecer la vigilancia preventiva como herramienta para prevenir brotes (Benítez *et al.*, 2004).

El uso de las herramientas moleculares para los estudios de brotes, ha abierto una puerta de oportunidades para la identificación, caracterización y el monitoreo de estos, conocimiento que es necesario para la toma de decisiones en la contención de los brotes (Obaldía *et al.*, 2015).

La diseminación de cepas de *P. falciparum* resistentes a los antipalúdicos, con genes de delección a la proteína que la reconocen por las pruebas rápidas, pueden establecerse y generar casos autóctonos con estas características (Khim *et al.*, 2005), evaluaciones moleculares encontraron que los linajes clonales del plasmodios encontrados en un brote eran los mismos que se obtenían en zonas donde el paludismo era endémico y que estas se podían mezclar con los parásitos autóctonos, expandiéndose y dificultando su control, aunque sugirieron más estudios moleculares para validar sus hallazgos (Sáenz *et al.*, 2015).

Otro aspecto importante es el paludismo ocurrido por recaídas o recidivas, el que es epidemiológicamente significativo y contribuyen a la persistencia de la transmisión de *P. vivax* (OMS, 2015b). Las recaídas o recidivas agudizan las labores de control y eliminación de la enfermedad, sobre todo, si no se tiene este aspecto contemplado dentro de la vigilancia epidemiológica o en países que reciben personas de zonas endémicas con este parásito (Herrera *et al.*, 2015).

Los países que son paso de migraciones humanas deberían incorporar al sistema de alerta epidemiológica, la vigilancia de personas que vienen de países endémicos o que han tenido episodios de paludismo causados por *P. vivax* con la finalidad de detectar prontamente casos sospechosos de recaída y poder evitar la re emergencia del paludismo o el ingreso de cepas con condiciones genéticas que pueden comprometer la condición del país o los esquemas de medicación establecido (Plain *et al.*, 2018).

Estudios han demostrado que *P. vivax* ha sido causante de algunos brotes debido a las recaídas, ocasionado en algunos casos un significativo número de casos graves, aun que no fatales, por lo que debería ser considerado incorporar herramientas diagnósticas moleculares que puedan identificar casos o brotes ocasionados por este tipo de cepas y así proporcionar más evidencia científica al respecto (Quintero *et al.*, 2015).

Investigar la variabilidad genética de los parásitos de plasmodio, para identificar la fuente de introducción, el linaje de estos, verificando si los brotes tienen una misma fuente u origen, si estos parásitos presentan características genéticas importantes que puedan comprometer sistemas de abordaje terapéutico o el diagnóstico en zonas donde se usan pruebas rápidas, es uno de los retos (Baldeviano *et al.*, 2015).

El uso de marcadores moleculares en un estudio con muestras de un brote en Perú, demostró ser de gran utilidad al poder comprobar que los parásitos de *P. falciparum* causantes de este brote tenían el mismo linaje que los reportados en Brasil, estos poseían triple mutación en el gen *pfcr1*, se trataba de una cepa que presentaba genes de resistencia a los antipalúdicos y al evaluar la dinámica de estos comprobaron que esta cepa estaba presente en otro brote del mismo

país, por lo que ellos concluyen que esta cepa se pudo desplazar por la migraciones durante el pico de trasmisión (Baldeviano *et al.*, 2015).

En un análisis de la diversidad genética de *P. falciparum* en 76 muestras colectadas durante un brote en Iquitos a través del marcador molecular *glurp*, permitió encontrar un total de 8 genotipos, por lo que los investigadores pudieron concluir que esta diversidad contribuyó, junto a las condiciones climáticas, epidemiológicas y otros aspectos propios de los pacientes, en el incremento de la trasmisión (Hijar *et al.*, 2002).

En Nicaragua se realizó una evaluación, en muestras diagnosticadas con *P. falciparum*, de los genes polimórficos de la *mssl*, *mss2* y *glurp*, en 45 muestras hemáticas, 34 del 2011 y 11 del 2012, procedentes del SILAIS Bilwi de los municipios, Waspán, Puerto Cabezas y Prinzapolka y del SILAIS Las Minas de los municipios Siuna. Rosita y Bonanza, resultando muestras con genotipos policlonales para *mssl*, para el caso de *mss2*, las muestras sólo amplificaron para el alelo 3D7, por lo que se concluyó que no había mucha diversidad y para el caso del gen *glurp* asociado al polimorfismo, marcador usado para identificar infecciones nuevas de recrudescentes, amplificó sólo una variante, lo que podría sugerir que todos los casos eran productos de nuevas infecciones, pero se hace necesario evaluar otros marcadores para confirmar esto, ver detalles anexo 13, figura 32 (MINSA-CNDR y CDC, 2012 datos no publicados).

Los marcadores moleculares son una valiosa herramienta, para encontrar situaciones genéticas que pueden vincularse a la trasmisión del paludismo (Joy *et al.*, 2008), contribuyendo la detección de nuevas cepas del plasmodio y la introducción de casos nuevos (Spanakos *et al.*, 2013), así como la identificación de las recaídas mediante la homología genética de las infecciones primarias en las infecciones recurrentes, especialmente en zonas hipo-endémicas (González-Cerón *et al.*, 2013a), además, estas herramientas moleculares pueden ayudar a identificar variaciones en las poblaciones de parásitos y compatibilidad con vectores que lo pueden hacer más competente en la trasmisión de determinado plasmodio (González-Cerón *et al.*, 2020).

Se han realizado estudios en parásitos de Honduras y Nicaragua sobre la vigilancia molecular en zonas endémicas mediante la identificación de mutaciones relacionadas con la

resistencia de *P. falciparum*, a los antipalúdicos. Honduras inicia con estos estudios desde el 2004, resguardando muestras en papel filtro desde ese año (Jovel *et al.*, 2011).

Estos estudios de vigilancia molecular tienen como objetivo detectar genes en los plasmodios, que puedan mostrar mutaciones relacionados con la resistencia a los medicamentos, más competentes o que puedan alterar su detección en las pruebas rápidas, para tal fin, muestras hemáticas en papel filtro de pacientes con diagnóstico confirmado por microscopia para *P. falciparum* las que son enviadas al laboratorio supra regional en Honduras, encargado de realizar estos análisis a las muestras colectadas en todos los países de Centro América, con estos estudios se ha encontrado que es una de las pocas regiones con poblaciones de parásitos única, *P. falciparum* sensible a la CQ (OMS, CDC & USAID, 2010).

En Nicaragua se han realizado estudios moleculares desde 2005 en zonas endémicas primero como investigación y luego incorporada a la vigilancia de la fármaco-resistencia en *P. falciparum*, para lo cual, se han estado resguardando muestras en papel filtro desde ese año (Venkatachalam *et al.*, 2013)

En un estudio donde se analizó la diversidad del *P. falciparum* en muestras de Nicaragua y Honduras usando MS, detectaron baja diversidad y poca diferenciación entre parásitos de la región misquita de ambos países. Sin embargo, en un grupo de muestras de un municipio del SILAIS Las Minas de Nicaragua se detectó una sub-población de *P. falciparum* distinta a la de la región misquita, que ellos explican, es causado por un fenómeno de endogamia por falta de flujo genético, pero que es necesario hacer más estudios moleculares para comprobar este hallazgo (Larrañaga *et al.*, 2013).

En una investigación para monitorear mutaciones asociadas a la fármaco-resistencia en 37 muestras de *P. falciparum* y 64 muestras de *P. vivax* correspondiente a los años 2004, 2006 y 2009 procedentes del Hospital Escuela de Tegucigalpa y de hospitales regionales de zonas con alta transmisión en Honduras, encontraron mutaciones 76T para *pfert* y 86Y para *pfdmr1* asociadas con la CQ y SP en dos muestras de pacientes con paludismo importado, 35 presentaron alelos sensibles a CQ y SP, para el caso de *P. vivax*, 3 pacientes presentaron mutaciones en

pvmr1 y *pvdhfr* debida, según los investigadores, a ocurrencia natural de cambios genéticos, ya que en el país no se usa mefloquina ni artesunato, encontraron a demás polimorfismos genéticos asociados al tolerancia a CQ y SP a lo que los investigadores dicen que podría deberse al uso rutinario del trimetoprim /sulfametoxazol, pera la gran mayoría de las muestras fue sensible al tratamiento que se usa en el país (Jovel *et al.*, 2011).

En Nicaragua se realizó un estudio en 55 muestras de *P. falciparum* procedentes del SILAIS Las Minas de los años de 2005 al 2011 con los marcadores *pfcr1*, *pfdhps* y *pfahr*, se encontró que 52 muestras amplificaron el alelo CVMNK, considerado de tipo silvestre, dando bases para reportar que aún circulaban en el país parásitos sensibles a la CQ y PQ, pero se encontraron alelos asociados a la resistencia a CQ y SP (CVIET, CIRNI, CNCNI y SGKAA.) en tres muestras del 2005, pero dentro de la investigación epidemiológica se pudo constatar que todos los pacientes habían respondido al tratamiento, ver detalles en anexo 13 tablas 30-32 (Sridaran *et al.*, 2014).

En la zona de occidente de Nicaragua desde el 2005, se iniciaron investigaciones en *P. vivax* donde es endémico, pero se presentaron y establecieron casos de *P. falciparum*, se colectaron muestras de ambas especies, iniciando la vigilancia a los antipalúdicos en este plasmodio en 2011 con cuatro sitios centinelas en esta zona (Minsa PENM 2014).

En un estudio para evaluar la CSP de *P. vivax* en muestras hemáticas procedentes del SILAIS Chinandega del pacífico de Nicaragua de 2006 y 2007, usando PCR-RFLP, en todas las muestras se encontró la variante VK210, sugiriendo mayor susceptibilidad para el vector *An. albimanus* y al analizar los subtipos obtenidos de las secuencias CSP, las variantes VK210a de Nicaragua eran muy similar a las de México, ver detalles en anexo 13, tabla 33 y figura 33, (González-Cerón *et al.*, 2013b).

En los países de Mesoamérica el tratamiento para el paludismo continúa siendo CQ y PQ desde 1950, estudios para monitorear la resistencia a estos antipalúdicos son necesarios, uno de estos es la evaluación del número de copias del gen resistente a múltiples fármacos *Pvmdr*, con este gen se pueden detectar cambios en los nucleótidos que pueden dar alertas a los programas o

componentes para la vigilancia de los antipalúdicos, se realizó una evaluación del polimorfismo del gen *pvm₁* en 228 muestras hemáticas en papel filtro de pacientes con *P. vivax*, de las que 165 resultaron aptas para los análisis moleculares, 89 procedentes Nicaragua de laboratorios centinelas, del noroeste de la Costa del Pacífico de 2006-2007 y de la RACCN de los años 2011-2012; de México se evaluaron 74 muestras del sur de México de 2011 a 2012, en el análisis del polimorfismo del fragmento del gen *pvm₁* (444–580_{nt 1330–1740}) y (923–1105_{nt 2767–3315}), se detectaron dos cambios en los nucleótidos (1,330-1,740) uno sinónimo, estas mutaciones son conocidas también como mutaciones silenciosas y una mutación no sinónima, en las muestras de noroeste de Nicaragua se observaron cambios en los residuos 500 (D → N) ver detalles en anexo 13 , tabla 34 (González-Cerón *et al.*, 2017).

El cambio del residuo 529, fue muy frecuente en las muestras de sur de México y del Noreste de Nicaragua, por lo que los investigadores concluyen que Nicaragua presentó haplotipos *pvm₁* divergentes, es decir con dos organismos o más con antepasado en común, aún que no se encontró que estas alteraran la terapia, los investigadores sugieren este marcador como una herramienta más en la vigilancia de este plasmodio, además se pudo apreciar al construir la red de haplotipos que había una diversificación de genes muy similar a la de otros países de la región mesoamericana ver detalles en anexo 13, tabla 34 y figura 34 (González-Cerón *et al.*, 2017).

El gen de la dihidrofolato reductasa del *P. vivax* (*pvdhfr*) es usado como marcador para buscar resistencia a la Pirimetamina en *P. vivax*, para evaluar este gen se realizó un estudio comparativo con resultados de muestras hemáticas en papel filtro de *P. vivax* procedentes de México y Nicaragua; 85 muestras de México de 2008 al 2010 y 100 muestras procedentes de Nicaragua de la vigilancia a los antipalúdicos de 2011-2012, de un brotes ocurrido en 2012 y del pacífico con muestras de 2006-2007 y los resultados de países de Latino América. De las muestras de México y Nicaragua, 73 y 78 respectivamente resultaron aptas para los análisis moleculares, en las que no se observó sustitución de amino ácidos en México y Nicaragua comparados con el resultado de otros países de Latino América en la que, si se observó estas sustituciones, ver detalles en anexo 13, tabla 35 (González-Cerón *et al.*, 2020).

Nicaragua después de haber logrado una reducción significativa de más del 70% de los casos de paludismo en 2011, la que continuó así hasta el 2014, ver anexo 2, con un control de la transmisión local del plasmodio con indicadores malario-métricos aceptables lograron incluir a Nicaragua en la lista de países con potencial de eliminar el Paludismo E-20, ver anexo 3. Durante el 2015 aumenta el reporte de brotes de paludismo, la mayoría ubicados en el Atlántico Norte en los municipios del estrato III (Puerto Cabeza, Waspán, Prinzapolka, Rosita y Siuna, principalmente causados por *P. vivax*, generando incremento sostenido en el número de casos y como consecuencia el país perdió su estatus E-20 (MINSA-DPE, 2016).

Durante el 2015 se presentaron brotes en muchos municipios que se encontraban en estrato I, que después de la investigación epidemiológica fueron registrados como autóctonos, lo que originó un cambio en su condición a estrato II (MINSA DPE,2015). En los SILAIS Rio San Juan y Bluefields con municipios en estrato I, zona con mucho tránsito de personas que venían de áreas donde la malaria es endémica, reportaron en ese año dos brotes causados por *P. vivax* (MINSA SILAIS RACCS, 2015).

Nicaragua reportó en el 2016, un incremento de los casos de paludismo de hasta un 816% causados en su mayoría por *P. vivax*, ver anexo 4, (OPS, 2017). Para el 2017 reportó 10,988 casos, en su mayoría ubicados en la RACCN, en 2019 mostró una leve disminución en el número de casos con respecto al año anterior registrando 9,358 casos (OMS, 2020).

La OMS en 2019 plantea una nueva estrategia para abordar el paludismo de acuerdo a la intensidad de la trasmisión y a la estratificación del riesgo en cualquier condición epidemiológica debido al incremento de la enfermedad en muchos países, donde plantea que la eliminación es un proceso continuo y propone dejar de utilizar los términos de control, pre-eliminación y eliminación presentando una estrategia técnica mundial contra el paludismo 2016-2030, ver anexo 5, aplicable a países donde la enfermedad es endémica o donde se vigila la reintroducción (OMS, 2019), en su informe del 2020 OMS declara que hay 87 países donde el paludismo es endémico Nicaragua figura entre estos países registrando 13,219 casos confirmado en el 2019 y 23,942 casos confirmado en el 2020 (MINSA, 2020),

III. JUSTIFICACIÓN

Nicaragua en el año 2011 logró una importante reducción en la incidencia de los casos mucho debido a las acciones dirigidas a la implementación del diagnóstico oportuno en menos de 48 horas, tratamiento inmediato y completo, desarrollo de unidades diagnósticas más cercanas a las poblaciones con altos índices de paludismo. También a las acciones de prevención dirigidas a la población como las entregas de mosquiteros y las acciones de control vectorial, eliminación criaderos y control del vector trasmisor de las dos especies (*P. vivax* y *P. falciparum*) que circulan en el país.

Sin embargo y pese a que las acciones antes mencionadas están ejecutándose, en el 2012 se incrementaron los casos en zonas con transmisión o zonas endémicas de Nicaragua, ubicada en el Atlántico Norte del país, esto se agravó aún más cuando se presentaron brotes durante el 2015-2018. Ocurriendo un incremento significativo de casos autóctonos confirmados por microscopia en 2015, casi tres veces más de los que se reportaron en el 2011, registrándose 15,934 casos para el 2018, con lo que se marcó un retroceso en la fase de control del Paludismo en el país.

Muchos de los municipios que presentaron estos brotes estaban en estrato I, clasificación que da OMS a municipios que tiene de tres o cinco años de no presentar ningún caso autóctono. Además, estos municipios se encontraban en proceso de certificación (municipio libre de paludismo) y el incremento de casos, obligó a cambiar la condición de estratificación el riesgo de transmisión aumentó y los municipios fueron clasificados en estrato II, donde los casos han dejado de ser importados y pasan a ser autóctonos en la zona.

En evaluaciones realizadas por OMS a Nicaragua, encuentra que el registro de los casos de paludismo así como la investigación de los brotes, es una gran debilidad en el país, esto se ha ido superando en los últimos años, pero aún continúa siendo un problema para el MINSA, mucho es debido a que la información no es recolectada correctamente, no es almacenada completa, no es verificado el dato por falta de personal antes de ingresarlo a la base de datos y otros factores que son propios de cada zona, siendo difícil para muchos epidemiólogos de los SILAIS dejar la evidencia del abordaje y las acciones de contención del brote porque su principal tarea es detener

los casos, de esa forma a veces no logran dejar evidencia de las acciones tomadas para la contención y los problemas que enfrentaron para detenerlo.

Organizar la información existente de los casos de paludismo ocurridos durante el período de estudio 2013-2020, en base a criterios establecidos por OMS y por la norma nicaragüense para identificar brotes, así como hacer una evaluación epidemiológica molecular de estos, identificando las zonas donde estos brotes han estado ocurriendo en el país y generar una línea de base de estudios moleculares realizados en el país en ambas especies de plasmodio es uno de los retos planteados en este estudio.

Mejorar la calidad de las muestras hemáticas en papel filtro colectada y preservada en las unidades para realizar los estudios moleculares del país, ha sido una sugerencia del laboratorio que realiza las evaluaciones de la fármaco resistencia al *P. falciparum*, por lo que dentro de este estudio se capacitó al personal encargado de la toma de las muestras hemáticas del Ministerio de Salud y del sector privado de las zonas donde ha habido aumento de casos, en la preparación, manejo y toma de muestras hemáticas en papel filtro con procedimientos operativos estandarizados (POEs).

Identificar los brotes, su ubicación y caracterizar los aspectos epidemiológicos, así como elaborar una línea de base de las mutaciones, haplotipos y sus frecuencias en genes o moléculas de interés en *P. vivax* y *P. falciparum*, de forma que puedan ser evaluada la presencia y frecuencia en los brotes y nos permita conocer la epidemiológica molecular y la dinámica de los brotes lo que representa el primer estudio de este tipo en el país.

Este estudio brinda al componente de vigilancia, un registro de como los brotes se han distribuido a lo largo de la línea del tiempo y espacio, los aspectos epidemiológicos de la zona con mayor carga de la enfermedad y presencia de brotes, una línea de base de los genotipos encontrados en estudios realizados en el país, que puedan apoyar en temas como la persistencia y la transmisión de la enfermedad, para entender, intervenir y abordar los brotes desde la perspectiva epidemiológica y molecular como una herramienta más para las acciones de intervención de la enfermedad y los aspectos que pudieron contribuir en el aumento de los casos

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Nicaragua alcanzó una reducción de los casos de más del 70% en 2011, en 2015 se registra un aumento de los casos, la ocurrencia de brotes y no poder controlarlos impidiendo la reducción, así como la introducción de nuevos casos en municipio donde no habían sido reportados por más de cinco años, fueron algunas de las causas por lo cual se pierde la condición de fase de control en el país, muchas de las cuales pueden ser generadas por condiciones epidemiológicas de la población en riesgo, propias del huésped, los vectores o por condiciones genética del parásito.

En el país se están llevando investigaciones moleculares en los dos plasmodios que circulan, en *Plasmodium falciparum* para poder detectar si presenta mutaciones que ocasionen resistencia a los antipalúdicos y en *Plasmodium vivax* evaluar la genética del parásito, lo que se ha observado es que ambos han sido agentes causales de los brotes de paludismo en Nicaragua.

Una explicación puede ser que algunas condiciones epidemiológicas incrementan la frecuencia de algunos de estos genotipos más adaptados a los vectores de la región y que pueden potenciar la deriva genética y genotipos con mayor adecuación encontrados en *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* dando lugar a la aparición de brotes posiblemente con polimorfismos en genes de resistencia a fármacos, capaces de evadir la respuesta inmune o de mayor transmisibilidad por los vectores locales,

El propósito de este estudio es conocer e identificar condiciones epidemiológicas de los brotes, su ubicación, así como generar una línea de base de genotipos del parásito, encontradas en los lugares del país donde se presentaron brotes de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* de manera que puedan generar bases para estudios donde se puedan correlacionar estos aspectos con el riesgo de la aparición de brotes de paludismo.

Lo que nos permite formalizar la **Pregunta de investigación**:

¿Cuál es la Epidemiología Molecular de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en Nicaragua de 2013 a 2020?

Preguntas Sistematizadas

- ¿Cuáles son las características epidemiológicas de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* de 2013 a 2020?
- ¿Cuál es la dinámica de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020?
- ¿Cuál es la línea de base de los genotipos encontrados en *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* a partir de los resultados de estudios moleculares y vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos realizados en Nicaragua durante 2013 a 2020?

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar la epidemiología molecular de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en Nicaragua de 2013 a 2020.

Objetivos específicos

1. Determinar las características epidemiológicas de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* de 2013 a 2020.
2. Establecer la dinámica de los brotes causados por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020.
3. Generar línea base de los genotipos encontrados en *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* a partir de los resultados de estudios moleculares y vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos realizados en Nicaragua durante 2013 a 2020

VI. MARCO TEÓRICO

1. Generalidades del Paludismo

El paludismo o la Malaria, es una enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos protozoarios del género *Plasmodium*, que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*. Es una enfermedad prevenible y curable, la palabra paludismo proviene del latín “palud” pantano o fiebre de los pantanos (OMS, 2019).

Los plasmodios invaden inicialmente el hígado y luego los eritrocitos, la enfermedad se caracteriza por la aparición súbita de fiebre, puede presentar, además, cefalea, escalofrío y sudoración profusa. Estos síntomas son intermitentes y generalmente aparecen 10 a 15 días después de la picadura del mosquito hembra infectada del género *Anopheles* (Chaparro et al., 2013).

2. Biología del plasmodio

Etiología del plasmodio

Más de 120 especies de protozoos del género *Plasmodium* tienen capacidad de infectar a mamíferos, pájaros y reptiles, este parásito se transmite al hospedador definitivo mediante la picadura de mosquitos hembras del género *Anopheles* (García, 2017). Cinco especies de parásitos del género *Plasmodium* causan las infecciones humanas, cuatro de ellas ampliamente distribuidas: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* de las cuales *P. falciparum* es la responsable de la presentación clínica más grave y de mayor incidencia en casos fatales y junto a *P. vivax* representan los grandes desafíos de salud pública en cuanto al control y la eliminación del Paludismo (Quintero et al., 2015).

A nivel mundial *P. vivax* concentra el 53% de la carga de la enfermedad en la región de Asia Sudoriental, con la mayoría reportada por la India (47%), en la región de las Américas el *P. vivax* es el parásito predominante representando el 75% de los casos de paludismo, en el continente Africano el *P. falciparum* es el que predomina representando el (99.7%) de los casos, y este plasmodio está distribuido en la Región de Asia Sudoriental (50%), Mediterráneo Oriental (71%) y Pacífico occidental (65%), *P. falciparum* es el que produce mayor mortalidad entre estas dos especies de paludismo (OMS, 2019).

P. ovale predomina en la África subsahariana, en el caso de *P. malariae* es menos frecuente que los anteriores y se localiza en las zonas templadas y subtropicales, recientemente se ha reportado una nueva especie de plasmodio, *P. knowlesi*, infectando humanos, especialmente en la zona de Malasia y Borneo (Hortelano *et al.*, 2010). La infección en humanos se confirmó a través de su morfología, una nueva especie de plasmodio estaba infectando al humano *P. knowlesi* (Brasil *et al.*, 2017). Incorporándose a la lista de los plasmodios que infectan al hombre, aunque sólo se ha reportado en Asia (Barber *et al.*, 2017), es identificada como una transmisión zoonótica, porque es endémica en los primates que habitan las selvas de Asia (Cox-Singh, 2008).

Luego de su descubrimiento en humanos muchos estudios han llegado a la conclusión de que el paludismo causado por *P. knowlesi* no es una enfermedad emergente sino que estaba siendo mal diagnosticada (Wesolowski *et al.*, 2015), debido a la similitud morfológica de este plasmodio con *P. malariae* y *P. falciparum*, dificultó su identificación microscópica, lo que derivó en un sub registro de este plasmodio en los países donde se ha presentado, ver anexo 9 (Martínez & Blair, 2012), sólo se pudo identificar a través de la PCR, ya que utiliza cebadores específicos, aún no se sabe si es una especie potencialmente fatal, ya que no se han reportado muertes debido a este plasmodio (Setiadi *et al.*, 2016).

En Centroamérica *P. vivax* es el plasmodio que más predomina 95%, (OPS, 2013) el resto corresponde a *P. falciparum*, encontrándose casos esporádicos de *P. malariae* (Rodríguez *et al.*, 2011)

En las Américas es muy poca la información que se tiene de la frecuencia de las infecciones mixtas, los reportes entregados por los países se basan en las especies que predominan, esto es debido a que la técnica de referencia es la microscopia, la observación microscópica de co-infecciones requiere de mucha experiencia técnica, así como de equipos en muy buen estado, entre otras limitantes para la detección de ambas especies por microscopia, además casi siempre una especie supera en número a la otra, cuando ambas están infectando a una persona y esta es diagnosticada en base al primer plasmodio encontrado, no registrando la infección mixta, que es de importancia para el manejo clínico, por esto se consideran que hay una sub estimación en el reporte de los casos mixtos (Carmona-Fonseca & Arango, 2012)

Taxonomía del plasmodio

El agente causal del paludismo es un protozoo perteneciente al Reino: Protista o Protozoa Phylum: *Apicomplexa*, Clase *Aconoidasida*, Orden *Haemosporida*, Familia *Plasmodiidae*, Genero *Plasmodium*, Especie: *falciparum*, *vivax*, *ovale*, *malariae* y más recientemente *kwnolesi*, la característica que lo define son las roptrias y micronemas que son complejas estructuras apicales, las cuales participan en la entrada del parásito al eritrocito y desaparecen en las etapas que no son invasivas. Confiriéndole la capacidad de infectar mamíferos, pájaros y reptiles (Becerril, 2014).

Ciclo biológico del plasmodio

Los parásitos causantes del paludismo tiene muchos estadios durante el ciclo biológico necesarios para completarlo (Botero & Restrepo, 2012), los estadios sexuales o gametocitos, son de gran importancia epidemiológica y salud pública, responsables de la transmisión, infección al vector y continuidad del ciclo, debido a que estos estadios no causan síntomas en el hospedero, lo hace un eslabón importante en la transmisión de la enfermedad (Harris *et al.*, 2010), además estos parásitos podrían tener características genéticas como la resistencia a los antimaláricos, que podrían limitar el accionar de los mecanismos de control si no identifican ya que pueden ser propagados por el vector (Khim *et al.*, 2005).

El ciclo del plasmodio es un ciclo complejo, involucra dos fases y dos huéspedes diferentes, uno que se desarrolla en el mamífero o el hombre (hospedero intermediario) llamado ciclo esquizogónico o asexual y el otro se desarrolla en el mosquito (huésped definitivo), llamado ciclo esporogónico o sexual, ver anexo 8 (CDC, 2020).

Ciclo esquizogónico o asexual.

El ciclo asexual del paludismo da lugar cuando una mosquita del género *Anopheles* infectada con parásitos de plasmodio, durante una ingestión de sangre, inocula esporozoítos en el huésped humano (Becerril, 2014). En esta fase exoeritrocítica los esporozoítos se desarrollan en células del hígado de 1-2 semanas, esta etapa no genera síntomas en el humano (Botero & Restrepo, 2012).

La etapa madura del parásito en el hígado es conocida como esquizogonia exoeritrocítica, la célula hepática parasitada se divide en tantas unidades hasta que la célula huésped se rompe liberando los nuevos parásitos llamados merozoítos hepáticos, una vez liberados estos merozoítos hepáticos en el torrente sanguíneo son capaces de invadir los eritrocitos (Sequeira *et al.*, 2017).

Los parásitos de *P. vivax* y *P. ovale* pueden persistir en el hígado como una etapa latente conocida como hipnozoítos y causar recaídas al invadir el torrente sanguíneo semanas o incluso años después (CDC, 2020).

Ciclo esporogónico o sexual.

La división de los parásitos en el vector, un mosquito hembra del género *Anopheles* se conoce como ciclo esporogónico o sexual este da inicio cuando el vector pica a una persona infectada, los gametocitos, masculino y femenino (microgameto y macrogameto) son ingeridos por el *Anopheles* durante una ingestión de sangre, los gametos al encontrarse en el sistema digestivo del vector, los microgametos se ex flagelan los microgametocitos (OMS, 2014).

Los flagelos microgametos fertilizan los macrogametos generando una célula llamada cigoto, la que se alarga y se vuelve móvil, esta fase es conocida como oocineto, luego atraviesa e invaden la pared del intestino medio del mosquito y se transforman a ooquistes o oocisto, fase en la que el parásito se multiplica adquiere una estructura fusiformes denominados esporozoítos, al madurar se liberan los parásitos que invaden las glándulas salivales del mosquito para luego ser inoculado en un huésped humano (CDC, 2020).

El tiempo necesario para que se complete el ciclo biológico del parásito en el mosquito, es decir, desde que el mosquito hembra ingiere la sangre infectada hasta que puede transmitir el paludismo, varía dependiendo de la especie, la temperatura y la humedad del ambiente, pero es generalmente de 7 a 21 días (OMS, 2014).

Mecanismos de invasión del plasmodio

Los mecanismos de invasión del plasmodio han sido estudiados, desde el movimiento o desplazamiento que el esporozoíto presenta del hospedero invertebrado al vertebrado, hasta los

tres mecanismos que el merozoíto utiliza para invadir células, como son; el contacto inicial, la reorientación y la invasión, todos han derivado en que las proteínas de superficies del esporozoíto y del merozoíto son responsables de estos mecanismos y debido a estos mecanismos es que es una proteína que es vista como posible candidata para desarrollar una vacuna antipalúdica (Barry *et al.*, 2015).

Algunos mecanismos de infección están asociados a la proteína CSP, esta ha sido investigada para ver la dinámica evolutiva del parásito, posee una región repetitiva central y dos dominios conservados RI y RII, para los que se han descrito dos fenotipos para *P. vivax* VK210 y VK247, se ha encontrado a esta proteína como multifuncional ya que tiene que ver con la maduración del esporozoíto, la invasión de las glándulas salivales en el vector y la invasión de hepatocitos en el humano, además está vinculada a la proteína de superficie del oocineto y asociada a la infectividad del parásito a los mosquitos *Anopheles pseudopuntipennis* y *Anopheles albimanus* (González-Cerón *et al.*, 2013b)

Fisiopatología del plasmodio

La fisiopatología y las manifestaciones clínicas del Paludismo están estrechamente ligadas a la especie de parásito, ciclo de vida y la inmunidad del hospedero (Botero & Restrepo, 2012), los síntomas clásicos son provocados por moléculas con capacidad de activar macrófagos que inducen la producción de citoquinas pro inflamatorias TNF-ALFA con fragmentos de glicosilfosfatidilinositol (GPI) del parásito, activado por la salida del vector, los merozoítos, el esquizonte y por la adherencia de la zona apical del merozoíto que se unen a los receptores de membrana de los eritrocitos (Vásquez & Tabón, 2012).

Los factores asociados al desarrollo de complicaciones del paludismo empiezan cuando el plasmodio inicia a consumir las proteínas del glóbulo rojo, como la hemoglobina, durante este proceso el parásito cambia las propiedades de transporte de la membrana del eritrocito, expone antígenos de superficie e inserta nuevas proteínas derivadas del parásito (Camargo & González, 2011).

La severidad del paludismo está directamente ligada al tipo de plasmodio y a la concentración parasitaria y esto es más evidente en el caso del *P. falciparum*, quien presenta procesos fisiopatológicos, más complejos y graves, en los casos graves por este plasmodio las

alteraciones producidas se deben principalmente a los fenómenos de cito-adherencia y secuestro de los hematíes parasitados, sin embargo, todos los parásitos que causan paludismo al hombre dañan las células rojas (Becerril, 2014).

La cito-adherencia ocurre mediante la exportación y anclaje de proteínas parasitarias en la membrana del glóbulo rojo, formando protuberancias electro-densas llamadas *knobs*, estas concentran la proteína de membrana (PfEMP1) de *P. falciparum* (Vásquez & Tabón 2012) a la que se le adjudica la variación antigénica, el secuestro o la unión de glóbulos rojos parasitados al endotelio capilar de órganos profundos, el sistema capilar de pulmón, corazón, intestino, médula ósea y riñón, lo que sugiere que la alteración en estos órganos puede ser provocada durante el desarrollo de trofozoítos y esquizontes, debida a la caída del aporte de oxígeno, glucosa, acidosis y disfunción celular (Becerra, 2015), todo esto genera obstrucción vascular causando el paludismo grave y esto es únicamente producido por *P. falciparum* (Puente *et al.*, 2005).

Este mecanismo de cito-adherencia hace que el flujo sanguíneo sea lento generando hipoxia, aumento local de citocinas, glucólisis anaeróbica y acidosis láctica, revelando en él su alta virulencia al infectar al humano (Becerra, 2015), relacionada a este mecanismo de adherencia y secuestro esta su gran capacidad de multiplicación (Vásquez & Tobón, 2012).

Características clínicas

Las características clínicas del paludismo dependen de la especie de Plasmodio, la densidad de parásitos y del estado inmunitario del huésped (MINSA DPE, 2016).

Condiciones como el estado inmune de la persona y la genética del parásito, pueden causar la presencia en gran número de infecciones asintomáticas y bajas parasitemias (Harris *et al.*, 2010). La mayoría de estas infecciones no son detectadas por técnicas como la microscópica o las pruebas rápidas, sin embargo, el desarrollo de la inmunidad en el hombre es lenta y está determinada por el tiempo de estadía en las zonas endémicas (Botero & Restrepo, 2012).

Las manifestaciones clínicas que se producen en las personas con paludismo son similares a otros procesos de infección generalizada, como fiebre, malestar general, cefalea, náuseas y

vómitos, por lo que en esta etapa difícilmente se sospecha de una infección producida por parásitos del género *Plasmodium*, el paludismo menos complicado es causado con frecuencia por *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*, prácticamente toda la mortalidad del paludismo es vinculada al *P. falciparum*, esto debido a que pueden causar, adherencia al epitelio endotelial y conducen a un amplio espectro de síntomas en el humano (OPS, 2014), desde casos asintomáticos, anemia grave, complicaciones metabólicas, insuficiencia renal edema pulmonar hasta el paludismo cerebral que conlleva a la muerte del huésped humano están ligadas al *P. falciparum* (Harris *et al.*, 2010).

El período de incubación, inicia cuando entran los esporozoítos al hígado luego de un período, que va a depender de la especie del parásito, pasa a las células rojas y termina cuando aparecen los síntomas, los que son provocados por la ruptura de un gran número de eritrocitos que albergan esquizontes y estos liberan merozoítos al torrente sanguíneo y es cuando ocurren los accesos palúdicos y pueden durar entre 10 a 14 días si es por vía vectorial, pero si es por transfusión puede durar entre 48 a 72 horas (MinSalud, 2013).

Fases del cuadro clínico:

La OPS, en su informe del 2014 divide en tres fases para explicar el cuadro clínico.

Primera fase, el paciente presenta intensos escalofríos que pueden durar entre 15 minutos a una hora. La persona puede adoptar posición fetal, hacer castañar los dientes y precisa se le abrigue, todo esto causado por los intensos escalofríos, al revisar los signos del paciente este presenta presión baja, pulso acelerado, dolor de cabeza, náuseas y vómito.

Segunda fase, la temperatura puede llegar a los 41°C, se presenta el estado febril característico del paludismo, estas fiebres pueden prolongarse hasta seis horas, presentando en el transcurso delirio y una intensa sed.

Tercera y última fase, se caracteriza por una sudoración profusa o abundante, la temperatura baja rápidamente, algunas veces a menos de lo normal. Esta fase tarda de 2 a 4 horas, en las cuales el paciente presenta debilidad y postración.

La duración total del paroxismo, incluyendo la recuperación del paciente es de 8 a 20 horas y los síntomas presentados varían de acuerdo con la especie de *Plasmodium* y al estado del huésped (OPS, 2014).

El paludismo se ha distinguido de otras fiebres por la naturaleza intermitente regular de sus escalofríos y fiebre, *P. vivax* y *P. falciparum* fueron descritos como agentes etiológicos del paludismo terciario, con fiebres cada 48 horas, *P. malariae*, como paludismo cuaternario por su ciclo eritrocítico de 72 horas (Calero & Velásquez, 2019).

Inmunidad

La inmunidad parcial o clínica se logra después de varios años de infección, es de corta duración, desaparece seis meses después de haber dejado de estar en contacto con el parásito, esta inmunidad está presente en individuos adultos de más de 30 años, el desarrollo de la inmunidad al paludismo requiere de múltiples infecciones o multiplicidad de la infección (MOI), en la personas que viven donde el paludismo es endémico, esta inmunidad se desarrolla muy lento, no se conserva para toda la vida, generando durante este proceso que el sistema inmune pueda hacerle frente al plasmodio sin eliminarlo, manteniendo al parásito en las fases asexuales en muy bajo número o en fases sexuales que no causan fiebre, pudiendo convertir al huésped en un trasmisor asintomático (Miller *et al.*, 2013).

A pesar de que no se consigue una protección o inmunidad completa, esta condición de inmunidad parcial reduce el riesgo de que la infección cause enfermedad grave, algunas personas con grados de inmunidad llegan a “controlar” al parásito presentándolo en bajas cantidades o sólo en sus formas sexuales las que no producen síntomas (Cardona *et al.*, 2019).

La susceptibilidad es universal, en regiones de alta endemia de paludismo, las personas adultas pueden presentar múltiples infecciones a lo largo de su vida que induce cierta inmunidad o resistencia adquirida a la enfermedad clínica, si bien la MOI está relacionada con lugares endémicos, en estos puede variar dependiendo del tipo de infecciones policlonales o monoclonales, usualmente está ligada a infecciones con más de un alelo en un sólo episodio de

paludismo (Sondo *et al.*, 2020). El número mínimo de clones determinado por locus con el mayor número de alelos del parásito presente en el paciente, es el indicador del MOI (Alarcón, 2016).

Un estudio realizado en Perú por Rodríguez y colaboradores en 2007, da evidencia de que la inmunidad adquirida por MOI la vuelve un factor de riesgo en la transmisión, ellos encontraron que *P. vivax* sensible al tratamiento convencional causaba muchas recaídas y presentaba los mismo alelos en cada evento, observaron que había casas en que los familiares habían tenido paludismo constantemente, algunos encontrándose asintomáticos, condición que podía deberse por la MOI, que mantenía la parasitemia en las personas en niveles bajos o sólo con presencia de gametocitos en circulación, concluyendo que los casos asintomáticos podían ser parcialmente responsables del mantenimiento de la transmisión de la enfermedad.

El plasmodio en el humano estimula los linfocitos CD4+ y CD8+, células NK y macrófagos, la participación de los linfocitos T, en las personas que están en áreas endémicas, hace que desarrollen y mantengan por algún tiempo esta inmunidad, los linfocitos TCD4+ generan una inmunidad protectora contra los estadios asexuales en los eritrocitos y los linfocitos T CD8+ para los parásitos intrahepáticos (Miller *et al.*, 2013).

El mecanismo de adherencia del parásito se ha planteado como una estrategia de supervivencia en el *P. falciparum*, con el que impide el paso por el bazo para evitar la destrucción del parásito en el eritrocito, además con este mecanismo puede protegerse de que el sistema inmunitario lo reconozca, ya que se cubre de eritrocitos que no están infectado logrando un efecto inmuno-modulador que inhibe a las células dendríticas (Miller *et al.*, 2013).

La relación antigénica del *P. vivax* con el sistema Duffy para establecer una infección en los glóbulos rojos y causar la enfermedad es directamente proporcional, carecer de esta proteína o receptor de quimiocinas lo haría un efecto protector innato al paludismo, mejor conocido como fenotipo Duffy negativo, por lo que el merozoíto no puede unirse a la superficie de la membrana eritrocitaria y por consiguiente, no se produce la infección, siendo un aspectos genéticos a considerar, un ejemplo de esta protección está en las poblaciones negras, en la que la mayoría de

las personas carece de este factor y con frecuencia no presentan infecciones por *P. vivax* en altas tasas (Zúñiga *et al.*, 2019).

Otro aspecto a considerar es la deficiencia de la G6PD la que provoca daño irreversible al destruir a los eritrocitos cuando hay sustancias oxidativas interactuando cuando los pacientes son tratados con antipalúdicos ya que el tratamiento del paludismo presenta este tipo de sustancias, así como el mismo estrés que provoca el parásito en los hematíes al destruirlos, provocando anemia en el paciente, que puede ser exacerbada cuando las personas infectadas presentan deficiencia de G6PD (Bastidas-Pacheco *et al.*, 2017).

Tratamiento

El tratamiento del paludismo es efectivo cuando se aplica correctamente y consiste en la eliminación rápida y completa del parásito, tanto del que está en circulación como sus formas durmientes en el hígado, para evitar que la enfermedad evolucione a su forma grave y ocasione la muerte del huésped o complicaciones adyacentes como son la anemia (OMS, 2018).

El tratamiento para *P. vivax*, *P. falciparum* y *P. malariae* consiste en la administración de una combinación de Cloroquina y Primaquina para zonas donde se no ha detectado resistencia a estos medicamentos. Algunos países presentan un tratamiento acortado en el uso de la Primaquina con concentraciones del fármaco mayores que la administrada durante los 14 días, en las mujeres embarazadas los medicamentos que se pueden administrar de forma segura durante todo el embarazo son Quinina, CQ, Proguanil, Pirimetamina y Sulfadoxina- Pirimetamina, se utiliza la quinina como el tratamiento más efectivo para eliminar el *P. falciparum* resistente a la CQ (OMS, 2018).

En los pacientes que presentan paludismo resistente, se usan los derivados de la artemisinina combinado con tratamientos como la piperquina, lumefantina y la mefloquina actúan disminuyendo la biomasa parasitaria y permiten además eliminar parásitos residuales con la finalidad de evitar la recrudescencia (Venanzi & López-Vélez, 2016).

En Nicaragua *P. vivax* y *P. falciparum* son especies endémicas, el tratamiento de primera línea es a base de Cloroquina las que se administra por tres días y una dosis de Primaquina a los casos confirmados con *P. falciparum* para eliminar gametocitos y por 7 días de PQ a los

confirmados con *P. vivax* y casos mixtos para eliminar hipnozoítos (MINSAs, 2019), en los casos de las mujeres embarazadas con *P. vivax* confirmado se administra CQ por tres días y después del parto 7 días de PQ, en el caso de *P. falciparum* confirmado son tres días de CQ y después del parto un día de PQ (MINSAs DPE 2019)

En Nicaragua el tratamiento está bajo la responsabilidad exclusiva del MINSAs quien garantiza el tratamiento específico de paludismo (oral o parenteral) completo, supervisado y en boca, según el esquema establecido en la norma nicaragüense del paludismo. Se administra tratamiento antipalúdico únicamente a personas con diagnóstico positivo confirmado mediante microscopia, en todos los casos diagnosticados con *P. vivax*, el tratamiento ambulatorio se administra en boca estrictamente supervisado por el personal de salud (MINSAs, 2013).

Los pacientes diagnosticados con *P. falciparum*, son ingresados a la unidad de salud de mayor resolución para su manejo, tratamiento y vigilancia hasta completar el esquema adecuado y garantizar la eliminación de parásitos en sangre para ser dados de alta. En caso de brote el ingreso se valorará a través de una clasificación de riesgo del paciente y accesibilidad, los pacientes que sean diagnosticados con paludismo mixto se tratarán como caso de *P. vivax* y será hospitalizado (MINSAs DPE, 2019).

Resistencia a las drogas antipalúdicas

Mecanismo de acción de Cloroquina

La CQ aumenta el pH en las vacuolas digestivas del parásito y acelera el metabolismo de los fosfolípidos, el *P. falciparum* ha logrado generar cepas que evaden esta situación haciéndolo resistente a la CQ y a la hidroxicloroquina. La quinina actúa rápidamente sobre los esquizontes sanguíneos en los gametos de *P. malariae* y *P. vivax*, no actúa sobre gametocitos maduros de *P. falciparum* ni en las formas exoeritrocíticas de los plasmodios *P. malariae* y *P. vivax* (Venanzi & Vélez, 2016).

El objetivo del tratamiento en el paludismo causado por *P. vivax* y *P. ovale*, es curar la infección en los estadios sanguíneo y hepático (cura radical), para evitar el recrudecimiento y las

recaídas, las dosis de medicamentos son elementos claves en cuanto a la adherencia al tratamiento, para tal fin las dosis deben ser ajustadas al peso de cada paciente, para eliminar parásito (Venanzi & Vélez, 2016).

Resistencia a Cloroquina:

La resistencia de *P. falciparum* a la CQ ocurre por un mecanismo de exo-flujo incrementado del fármaco en las vesículas del parásito de forma que este se desintoxica de la CQ (Pulcini *et al.*, 2015), aunque las bases genéticas que favorecen la resistencia del protozoario a la droga no han sido definidas, si se han encontrado genes asociados a la resistencia (Baldeviano *et al.*, 2015). La mayoría de las infecciones por *P. falciparum* resistentes requieren de otras alternativas terapéuticas. El *P. falciparum* resistente a CQ actualmente se presenta en casi todos los países con endemia a este plasmodio, excepto Haití, México, República Dominicana, Argentina, Paraguay, Centroamérica, al oeste del canal de Panamá, Mauricio y Egipto (OPS, CDC & USAID, 2010).

Se reportó cepas de *P. vivax* resistentes a CQ por primera vez desde 1989 en Papúa Nueva Guinea, se ha descrito recrudescencia o fracaso a esta profilaxis el día 28 del *P. vivax* en 21 países, algunos como África, Centro y Sudamérica, Papúa-Nueva Guinea, Indonesia, India, Myanmar y Vanuatu entre otros, sin embargo sólo nueve de estos países pudieron verificar al menos un verdadero caso de resistencia a la CQ, en la que encontraron con concentraciones de CQ más desetil-cloroquina (DCQ) de 100 ng/ml en sangre total el día del fracaso, estos países fueron: Brasil, Etiopía, Indonesia, Islas Salomón, Malasia, Myanmar, Papúa Nueva Guinea, Irán, Jaya, Perú y Tailandia, el resto de países no pueden concluir sobre la resistencia ya que no confirmaron la concentración en sangre, algunos aspectos de la resistencia del *P. vivax* a la CQ podrían ser explicados por la poca captación o rápida excreción de la droga, pero son mecanismos que no se han estudiado completamente (OMS, 2016).

La resistencia de *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi* a medicamentos antipalúdicos no está bien descrita las infecciones causadas por estas tres especies se consideran generalmente sensibles a la CQ (MinSalud, 2020).

Hasta la fecha sólo un estudio ha reportado resistencia de una cepa a la CQ en *P. malariae*, reportado en 2008, por Cox-Singh y colaboradores en un estudio realizado en Indonesia, pero todos los estudios en otros países han llegado a la conclusión que no se han podido identificar poblaciones de parásitos resistentes a la CQ, probablemente porque aún no se cuenta con marcadores moleculares para identificar resistencia a la CQ (OMS, 2016b).

Resistencia a Primaquina:

La acción de la PQ en la eliminación de los hipnozoítos no es muy clara, es usada porque la concentración que alcanza con el esquema de 14 días es efectiva en la eliminación de recaídas en aprox. el 80% de los casos. Esta se concentra 10 veces más en el hígado que en otros órganos. Asia y África han reportado resistencia del *P. falciparum* a la quinina, mefloquina y halofantrina (Abdallah *et al.*, 2015).

El aumento de las dosis de PQ podría acarrear mayores problemas ya que podría estar implicado en la disminución de la sensibilidad a la quinina y de la proteína reguladora de la membrana de las vacuolas digestivas del parásito (Nelson *et al.*, 2019). La resistencia del *P. falciparum* a la quinina, ocurre por la mutación puntuales en los genes *Pfprt* y *Pfmdr1*, algunos estudios han reportado tolerancia y resistencia de cepas de *P. vivax* a la PQ en Oceanía y Tailandia (Ndiaye *et al.*, 2020).

Aunque la resistencia a este fármaco esté descrita desde hace mucho tiempo por investigadores de Brasil a principios de siglo XX (Rischkowsky *et al.*, 2010), su diseminación parece limitada, probablemente debido a su breve tiempo de vida y su alta eficacia (Daniels *et al.*, 2008). Incluso en las zonas donde la resistencia es presente (en particular sureste asiático), la resistencia es de bajo grado y el fármaco es efectivo, aunque su actividad sea retardada o disminuida (Mita, 2010).

Tipos de Resistencia a Drogas Antipalúdicas

En una publicación emitida por OPS-CDC y USAID en el 2010 caracterizó la resistencia a los antipalúdicos de acuerdo con la respuesta del parásito al tratamiento:

Parcial o RI, hay eliminación de la parasitemia, se eliminan los síntomas, seguido de un recrudescimiento dentro de los siguientes 28 días después de inicio del tratamiento.

Media o RII, hay una disminución en la parasitemia (con o sin síntomas) sin eliminación de la parasitemia, incrementándose más rápidamente que en RI.

Alto Nivel o RIII, no hay disminución de la parasitemia ni la sintomatología

Polimorfismo genético del plasmodio

Genética del parásito y hospedero

Años de convivir el parásito con el hospedero humano, ha generado que este haya evolucionado con el objetivo de aminorar la respuesta inmunológica y ocasionar cronicidad de la infección sanguínea adecuándose a la presión de selección, sólo los parásitos más aptos sobreviven (Hijar *et al.*, 2002), confiriéndoles ciertas propiedades genéticas a las nuevas generaciones del *Plasmodium*, como resultado del azar, tales como resistencia a los antipalúdicos, mutaciones en la proteína PFHRP II del parásito (Jove *et al.*, 2011), así como la presencia del antígeno Duffy, condición del hospedero, que favorece la entrada del merozoíto de *P. vivax* al eritrocito (Harris *et al.*, 2010).

Estudios genéticos del parásito se han llevado desde que el plasmodio ha mostrado resistencia a los medicamentos (Hijar *et al.*, 2002), es a través de evaluaciones moleculares que se pudo detectar como algunos parásitos de *P. falciparum* lograron desarrollar y pasar a nuevas generaciones un gen que elimina o borra la proteína que son usadas en las PDR para diagnóstico del paludismo (Daniels *et al.*, 2008), una vez que el plasmodio entra en la sangre del humano, para adaptarse cambia genéticamente, la presencia de grupos de parásitos del mismo linaje con características como la resistencia explicaría la amplia distribución de la resistencia a la SP en algunas regiones (Mita, 2010).

Los estudios genéticos alcanzaron mayor versatilidad cuando las muestras hemáticas pudieron ser puestas y extraída de papel filtro, la obtención de material genético a través de este mecanismo, ha dado una gran ventaja para realizar estudios moleculares a la hora de investigar una enfermedad, implementándose con éxito las técnicas de amplificación de segmentos del ADN a través de la técnica de PCR, resultando una forma fácil y rápida de transportar y

almacenar muestras de sangre para evaluaciones posteriores, sin embargo su manejo exige mantener estándares de calidad para obtener buenos resultados a la hora de aislar este material genético, factor a tomar en cuenta para la validez de estos (Zurita & Rebollo, 2006).

Con las muestras hemáticas en papel filtro se pueden realizar estudios moleculares o vigilancia, así como diagnóstico donde el acceso es difícil, debido a que estas muestras no necesitan ser transportadas en red fría, ocupan poco espacio en el almacenamiento como lo requieren los tubos con sangre completa y pueden ser usadas para evaluaciones moleculares de interés en salud pública y epidemiológicos posteriores (Zurita & Rebollo, 2006).

El uso de papel filtro para transportar muestras hemáticas para estudios en el campo de la investigación del paludismo ha facilitado la obtención de resultados más robustos de los parásitos que están circulando o causando brotes, así como evidenciar la presencia de parásitos que puedan presentar genes de resistencia a los antipalúdicos, genes borrados como el caso de las PDR y si esta muestra es almacenada en condiciones adecuadas pueden ser usadas años después en estudios posteriores de interés para los países (Venkatachalam *et al*; 2013).

Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares son entidades genéticas que manifiestan polimorfismos heredables (Alcántara, 2007), estos son una herramienta importante para estudios de evolución, ecología, biomedicina y estudios de diversidad, herramientas que ayudan a encontrar alteraciones en el genoma a nivel de bases nitrogenadas (Godoy, 2009).

Existen varios tipos de marcadores moleculares, algunos de los más usados son los Micro Satélites (MS) estos son polimorfismo que se repiten en Tandem, que se utilizan para localizar y aislar genes de interés (Heledd *et al.*, 2017). Los puntos de mutación de los marcadores moleculares de resistencia a CQ en *P. falciparum* deben ser bien identificados ya que unos puntos tienen mayor asociación a la resistencia que otros puntos de ese mismo marcador, de encontrar resistencia a CQ, debe aconsejarse un manejo cuidadoso de esta terapia con otros plasmodios como el *P. vivax*. (Antony *et al.*, 2016).

La mayoría de los marcadores moleculares se basan en la comprensión actual de la inmuno-patogénesis del paludismo, existen algunos con los que se estudian o investigan los mecanismos de daño e inflamación de los tejidos, con el objetivo de reducir la carga de la enfermedad o re direccionar las actividades y las estrategias terapéuticas, intensa investigación se ha centrado en la identificación de predictores fiables de la exposición, la susceptibilidad a la infección y el desarrollo de complicaciones graves durante la malaria. Aunque los marcadores más prometedores se basan en la comprensión actual de la inmuno-patogénesis de la malaria, algunos también se centran más ampliamente en los mecanismos de daño e inflamación de los tejidos (Andrade & Barral-Netto, 2011).

La OMS ha recomendado realizar vigilancia de genes resistencia en *P. falciparum* aplicando marcadores moleculares (SNPs) *Pfcr1*, *Pfdhfr* y *Pfdhps* y para la exclusión de segmentos de repetidos de los genes *pfhrp2* and *pfhrp3* (*pfhrp2/3*) que codifican proteínas usadas en las pruebas rápidas (OMS, 2019).

El gen que sintetiza la proteína dihidrofolato reductasa del *P. vivax* (*pvdhfr*) es usado como marcador para buscar resistencia a la Pirimetamina en *P. vivax*, pero aún continúan evaundo su uso como herramienta en la vigilancia delo *P. vivax*.

Investigadores de Perú realizaron un estudio realizado en parásitos de *P. falciparum* evidenció la prevalencia de los genes *pfhrp2* and *pfhrp3* (80%) entre pacientes asintomáticos (Daniels *et al.*, 2008), la OMS ha recomendado vigilar estos dos marcadores en países con fronteras donde se ha reportado la supresión del *pfhrp2*, desarrollando encuestas o estudios que sirvan como líneas de base para determinar la prevalencia de estos genes (*pfhrp2/3*), debido a que los datos de estudios realizados en 28 países donde han reportado que >5% de las supresiones en *pfhrp2*, causan falsos negativos en los resultados de las pruebas rápidas (OMS, 2019).

La epidemiología molecular puede ser una herramienta útil en los procesos de eliminación del paludismo evidenciando linajes que puedan adaptarse rápidamente y causar brotes de paludismo (Okoth *et al.*, 2016), esta herramienta puede ser empleada en muchas investigaciones como dilucidar la estructura de la población de *P. falciparum*, estimar su diversidad alélica, la

multiplicidad de infecciones (MOI) y los patrones evolutivos del parásito, con el objetivo de apoyar a los programas de los países en el control o eliminación la enfermedad (Ndiaye *et al.*, 2020).

Los estudios epidemiológicos moleculares son importantes en la vigilancia del paludismo (Khim *et al.*, 2005), sobre todo en *P. falciparum* y *P. vivax*, los que han causado en muchos países retrocesos en los procesos de control y eliminación debido a muchas mutaciones que han conferido a la especie capacidad adaptativa a tal punto que pueden volver a establecerse hasta en lugares donde ya había sido eliminada (Knudson *et al.*, 2020), los programas nacionales de paludismo pueden obtener una valiosa información con la vigilancia molecular, entre ellas la identificación de cepas con mutaciones que puedan afectar la reducción de los casos y la efectividad de los fármacos entre otros (Pulcini *et al.*, 2015).

El gen *pfmdr1*, se ha propuesto para monitorear la resistencia a la CQ, aunque su asociación no está clara, se han descrito las mutaciones en los sitios 86Y *pfmdr1* y 76T *pfcr1*, para el hallazgo de cepas presuntamente resistentes y en conjunto con el *Pfcr1* que está fuertemente ligado con la resistencia a la CQ podría ser una herramienta de apoyo en la discusión de cambios en el abordaje terapéuticos (Fontecha *et al.*, 2021), Con el uso de gen *Pvmdr*, se pueden detectar cambios en los nucleótidos al evaluar el número de copias que codifica la proteína transmembrana de la vacuola del parásito, la que de presentar mutaciones puede impedir el paso de los antipalúdicos estos hallazgos puede dar alertas en el monitoreo de los antipalúdicos (González-Cerón *et al.*, 2017).

La proteína 42 de la superficie del merozoíto del *P. vivax* (PvMSP1-42), antígeno de la fase asexual del *P. vivax* implicado en la invasión de los reticulocitos, podría ser considerada como un marcador sensible para evaluar el control de la transmisión del paludismo (Gutiérrez *et al.*, 2016).

Los marcadores *pfmsp1*, *pfmsp2* y *glurp*, por su alto polimorfismo se han usado como herramienta para evaluar la multiplicidad de la infección, la diversidad genética, diferenciar tipos de infecciones, *pfmsp1* es un gen que ayuda a identificar infecciones múltiples al amplificar los alelos MAD20, K1, RO33 *pfmsp2* se asocia con la diversidad genética con la amplificación de los alelos IC, FC27 y 3D7 y *glurp*, es un marcador de gran utilidad para diferenciar recaídas de

nuevas infecciones, porque es capaz de medir la variabilidad en la frecuencia alélica amplificada, que va de los de los 550-1000pb, aun que es necesario hacer más estudios sistemáticos en áreas endémicas (Mwingira *et al.*, 2011).

El antígeno más abundante en *P. falciparum* es la proteína de la superficie del merozoíto (MSP), estas son una familia de proteína llamadas *PFMSP1* y *PFMSP2* que están ancladas con Glicosilfosfatidilinositol (GPI), estos tiene un papel importante en el ciclo del parásito, de acuerdo a muchos estudio estas proteínas tiene un importante papel en el ciclo de vida del parásito, ya que participan en la unión de este con el eritrocito invadiéndolos a través de las vía dependiente o independiente del ácido siálico (Sathishkumar *et al.*, 2022).

La evaluación de la diversidad genética a través de los genes como *mssl*, *mss2* y *glurp* en *P. falciparum* es una valiosa herramienta, sobre todo en los países que enfrentan la migración como uno de los riesgos de transmisión, la variabilidad genética es reguladora de la transmisión, la severidad de la infección y la eficacia de las vacunas, por lo que su evaluación es importante para ajustar las medidas de control y la vigilancia (Patgiri *et al.*, 2019), son genes que se han estudiado mucho como el caso del *mssl*, que además de estar presente en todas las especies de plasmodio, se relacionan con la invasión del plasmodio a los glóbulos rojos (Rodríguez *et al.*, 2010), los genes *mssl* y *glurp*, han mostrado mucha utilidad al evaluar infecciones múltiples y diferenciar infecciones recurrentes de nuevas infecciones con lo que los vuelven útiles en el sistema de vigilancia del paludismo (Barrera *et al.*, 2010).

Epidemiología del paludismo

El paludismo está ampliamente distribuido en las zonas tropicales, la cadena epidemiológica inicia con un huésped infestado con plasmodio, el vector competente para la transmisión y un huésped susceptible, sumando aspectos como el clima, la temperatura, la altura, humedad relativa y las precipitaciones juegan un papel importante para que este mecanismo de transmisión sea efectivo (MINSa 2014), el período de incubación del plasmodio varía según la especie *P. falciparum* 7 a 14 días, *P. vivax* y *P. ovale* 8 a 14 días o meses y *P. malariae* varía entre 7 y 30 días (Calero *et al.*, 2019).

3. Conceptos epidemiológicos de la enfermedad, definición casos según normativa 114, 2019. (MINSA DPE, 2019a, p. 12-14)

Definición de caso de paludismo según diagnóstico y sintomatología

Caso asintomático:

“Persona que está infectada por el plasmodio, pero no tiene manifestaciones clínicas de la infección. Es un portador del parásito y reservorio de la enfermedad, hay evidencia de laboratorio mediante diagnóstico microscópico de Gota Gruesa (GG), prueba de diagnóstico rápido de malaria (PDRM) o en casos especiales, mediante métodos moleculares como la PCR, Reacción en Cadena de la Polimerasa” (MINSA DPE, 2019a, p. 12)

Caso sospechoso:

“Persona que procede de una zona endémica de paludismo y presenta fiebre, acompañada o no de escalofríos, sudoración profusa, después de un lapso sin fiebre puede repetirse el ciclo de fiebre, escalofrío y sudoración profusa, dolor de cabeza, dolor en el cuerpo y malestar general, cuya característica es que después de un lapso sin fiebre puede repetirse el ciclo de fiebre, escalofrío y sudoración en días alternos, fiebre de cada 48 horas cuando la enfermedad es ocasionada por *P. vivax*, *P. falciparum* o *P. ovale* y cada 72 horas cuando es ocasionada por *P. malariae*” (MINSA DPE, 2019a, p. 12).

Caso confirmado:

“Persona, con o sin síntomas, en quien se confirma la presencia de parásitos de alguna de las especies de *Plasmodium*, en sangre periférica, mediante el diagnóstico microscópico (GG), PDRM o métodos moleculares, como la PCR” (MINSA DPE, 2019a, p. 12).

Definición de caso de paludismo según procedencia

Caso autóctono:

Caso confirmado de malaria con infección adquirida en el territorio nacional, es decir, que no procede de otro país (MINSA DPE, 2019, p.12).

Caso importado:

Caso confirmado de paludismo con infección adquirida fuera del país (MINSA DPE, 2019, p.12).

Caso introducido:

Caso que sucede a un caso importado de paludismo conocido, cuando se puede probar que constituye el primer eslabón de transmisión local (MINSA DPE, 2019, p.12).

Caso inducido:

Caso de paludismo que ocurre por transfusión de sangre a otra forma de inoculación parenteral como trasplante de órganos, por ejemplo, pero no a la transmisión natural por el mosquito (MINSA DPE, 2019, p.12).

Caso críptico:

Caso de paludismo donde la investigación epidemiológica no pudo determinar el mecanismo de adquisición del parásito (MINSA DPE, 2013, p. 22).

Definición de caso según recurrencia de la infección de paludismo**Recaída:**

“Reaparición de parásitos en estadios asexuados en pacientes con infección tratada causada por *P. vivax* y *P. ovale*, surgida a partir de los hipnozoítos, procedentes del hígado; las recaídas pueden presentarse de 2 semanas hasta más de 12 meses” (MINSA DPE, 2019a, p. 12).

Recrudescencia:

“Reaparición de una parasitemia de formas asexuadas después de un tratamiento antipalúdico, debido a la eliminación incompleta de formas eritrocíticas asexuadas con el mismo o los mismos genotipos que causaron la enfermedad original. La recrudescencia puede sugerir la aparición de resistencia a los medicamentos antipalúdicos” (MINSA DPE, 2019a, p. 13).

Re-infección:

“Infección nueva que aparece después de una primo infección; puede distinguirse de una recrudescencia por el genotipo del parásito, que en muchos casos (pero no siempre) es distinto al del parásito responsable de la infección inicial” (MINSA DPE, 2019a, p. 13).

Definición de caso según gravedad de la infección**Caso de paludismo no grave:**

“Infección sintomática con presencia de parásitos en sangre periférica de cualquier especie de *Plasmodium*, sin signos de severidad y/o evidencia de disfunción en órganos vitales” (MINSA DPE, 2019a, p. 13).

Caso grave de paludismo:

“Paciente con diagnóstico parasitológico de malaria que presenta una o más de las características clínicas o de laboratorio descritas en el manual de Paludismo” (MINSA DPE, 2019a, p. 13).

Casa malárica: “vivienda donde se identifican factores determinantes de la transmisión de paludismo, entorno ecológico favorable y donde se presentan casos de manera recurrente” (MINSA DPE, 2019a, p. 13).

Definición de términos para la identificación de resistencia por la recurrencia de la infección según OPS**Recaída o recidiva:**

El término recaída o recidiva es empleado para nombrar el mecanismo de reactivación de los hipnozoítos de *P. vivax* o *P. ovale* que se encuentran en las células hepáticas, iniciando el ciclo nuevamente del parásito, el que puede ocurrir poco después de la infección (6 a 12 meses) o más de un año, después del primer episodio. En ciertos casos, también puede deberse a una infección mixta que ha pasado desapercibida y tratada bajo esquema de tratamiento para *P. falciparum*, también son debida a un tratamiento mal administrado, no completo o abandonado (OPS, 2018).

Re-infección:

Es la infección de una persona con la misma u otra cepa del plasmodio diferente al primer episodio, y no representa resistencia al tratamiento, esto es muy usual en zonas endémica y puede ocurrir de la cuarta a sexta semana de la primera infección, la que usualmente es confirmada mediante la secuenciación demostrando que los alelos de la cepa responsable son diferentes de la cepa del episodio anterior (OPS, 2018).

Recrudescencia:

Este es el verdadero fracaso terapéutico que puede deberse a un tratamiento que puede tener un componente de mala calidad, la dosis o duración del tratamiento insuficientes, una mala adherencia, absorción disminuida por vómitos o diarreas, metabolismo aumentado por otros fármacos o por la resistencia del parásito a los antipalúdicos. Esto ha de confirmarse con estudios clínicos, pruebas de susceptibilidad *in vitro* o mediante marcadores genéticos de resistencia (OPS, 2018).

Umbral epidémico del paludismo (brotos)

Los brotes de paludismo casi siempre están acompañados de condiciones ambientales como períodos de intensas lluvias seguidos de períodos secos y calurosos, incrementando la población de vectores que contribuyen a la aparición y propagación de casos, los brotes también son atribuido a las migraciones de poblaciones por tránsito o actividades laborales, donde personas llevan el parásito de un lugar a otro, debida a esta movilidad se dificultan algunas medidas de acciones dirigidas al control de focos y la vigilancia activa, que están orientadas evitar la introducción de cepas con características distintas a las autóctonas del país entre otros aspectos (Calero *et al.*, 2019).

Definición Brote**Según OPS**

“Aparición de un caso o de un número de casos adquirido localmente de infección mayor del esperado en un determinado momento y lugar según.” (OPS, 2018).

En la zona de alta transmisión las epidemias son comunes. En el caso de los municipios con transmisión interrumpida de la malaria, su reacción ante un caso debe ser como en un brote

Según normativa nicaragüense 114

“Es el aumento inusual en el número de casos relacionados epidemiológicamente, de aparición súbita, de diseminación localizada en un espacio y durante un período de tiempo” (MINSAs DPE, 2019a, p. 11)

Definición de Estrato

La OMS define estratificación como “la clasificación de las zonas geográficas o las localidades según determinantes epidemiológicos, ecológicos, sociales y económicos para orientar las intervenciones relacionadas con el paludismo”, es una herramienta en la toma de decisiones, en la planificación operacional que permite orientar los recursos y acciones en las áreas que concentran la mayor carga de enfermedad y acciones de prevención del restablecimiento de la transmisión en las áreas que han logrado interrumpir la transmisión, es un proceso dinámico que conlleva a analizar la información periódicamente y establecer formas diferentes de intervención para cada estrato (OMS, 2019).

Definición de Estrato de acuerdo con el riesgo de adquirir paludismo

“zona geográfica que comparte factores determinantes de la receptividad, el riesgo de importación de parásitos y la transmisión de la malaria”, puede ser los municipios o las zonas que tiene o comparte características comunes donde se utilizan los focos palúdicos para agrupar estas zonas. (MINSAs DPE, 2019b, p. 14).

Estratos: Municipio o zonas que reúnen y comparte caracteres comunes y que se integran con otros para la clasificación de una entidad territorial.

Foco palúdico:

“Zona definida y circunscrita situada en un área que es o ha sido palúdica y en la que se dan los factores epidemiológicos y ecológicos necesarios para la transmisión de la malaria, estos pueden ser activos, residuales y eliminados, estos tiene que ver con la transmisión local y el tiempo de ocurrencia, para los de transmisión local en el último año se agrupan a los focos palúdicos activos, residuales no han tenido en el último año y eliminado estos no tienen transmisión local en los últimos tres años”. (MINSAs DPE, 2019b, p. 14).

Clasificación de los focos de paludismo

“Activos, se han detectado casos autóctonos durante el año calendario en curso, Residuales, el último caso autóctono se detectó en el año calendario anterior o hasta 3 años antes y Eliminados: sin casos autóctonos por 3 o más años” (MINSa DPE, 2019b, p. 14).

Interrupción de la transmisión

El MINSa implementa la estrategia Detección, Diagnóstico, Tratamiento, Investigación y Respuesta o mejor conocida como la Estrategia DTI-R para establecer la interrupción de la transmisión del paludismo y prevenir su introducción (MINSa DPE, 2019b).

Antecedentes de estratificación

Todos los países de América usan o han usado el IPA que consiste en el número de casos de paludismo microscópicamente confirmados, registrados en un año entre cada 1000 habitantes, para la estratificación de áreas en alto, mediano y bajo riesgo con el objetivo de reportar de forma estandarizada sus datos epidemiológicos (OMS-OPS, 2019).

Figura 1

Estratos Norma Técnica Malaria 2014

ESTRATO I	ESTRATO II	ESTRATO III
<ul style="list-style-type: none">• Municipios libres de paludismo sin casos autóctono (IPA cero en los últimos 3 años previos con buena vigilancia de febriles). : 0 casos autóctonos en los últimos 3 años	<ul style="list-style-type: none">• Municipios con muy baja transmisión de paludismo con casos autóctonos (IPA <1 por cada 1,000 habitantes por año) IPA ≤ 1 en los últimos 3 años.	<ul style="list-style-type: none">• Municipios con alta transmisión de paludismo (IPA >de 1 por cada 1,000 habitantes en cualquiera de los últimos tres años) IPA > de 1 en los últimos 3 años.

Fuente: MINSa DPE 2014

La figura 1 se muestra las condiciones de transmisión para caracterizar los estratos en los municipios por cada 1,000 habitantes según el IPA para estratificar el Paludismo por municipios, esquema propuesto por OMS y que se retoma en la Norma nicaragüense.

Elementos para la identificación de Brote

Se detallan los elementos que brinda la norma técnica nicaragüense de paludismo para identificar brotes, según la definición, condiciones de estratificación del riesgo, IPA y el mapa de la ubicación de estratos, que se utilizaron para poder ubicar los municipios con brotes.

Requisitos para la identificación de brote por estratos

Para la clasificación de los casos de 2013-2018

En los estratos I y II: un caso autóctono es equivalente a un brote. Si no se presentan más casos en un período de 15 a 30 días, el brote debe reportarse como controlado y cerrado, Si el caso es clasificado con fuente de infección de otro lugar distinto al lugar de residencia de la persona de otro municipio en estrato I o II, el origen del brote está a expensas de la procedencia del caso positivo (MINSA DPE, 2014).

En estrato III: “el aumento en el número de casos semanal encima del 3er cuartil en base a los últimos 5 años por dos semanas consecutivas se clasificará como un brote”, ver figura 1 y 2, (MINSA DPE, 2014).

Figura 2

Mapa de los estratos Nicaragua 2016



Fuente: DPE-MINSA 2016

En la figura 2 se muestran como estaban distribuidos los estratos I en amarillo, II en verde y III en rojo, según estratificación por la Norma Técnica Nicaragüense de la Malaria identificados así hasta el 2018.

Para la clasificación de los casos de 2019-2020

Estratos 1, 2 y 3:

La identificación de un caso autóctono es equivalente a un brote, si después de la detección del primer caso no se presentan más casos en un período de 4 semanas, el brote debe reportarse como controlado y cerrado. El origen del brote está determinado por la procedencia del caso positivo o la posible fuente de infección (MINSA DPE, 2019b, p. 22).

Estratos 4 y 5:

Un aumento en el número de casos semanal encima del 3er cuartil (percentil 75) en base a los últimos 5 años por dos semanas consecutivas se clasificará como un brote (MINSA DPE, 2019b, p. 22).

Medidas de respuesta en caso de brote epidémico de paludismo

Para Nicaragua el abordaje de los brotes se realizará según estratificación de riesgo, establecido por la Norma técnica de Malaria; “en las zonas de alta transmisión las epidemias son comunes, en el caso de los municipios con transmisión interrumpida de la malaria, su reacción ante un caso debe ser como en un brote” (MINSA DPE, 2019b, p. 22).

Estratificación actualizada para la orientación de las actividades de intervención.

En Centroamérica, el IPA fue usado antes del 2018 para identificar y clasificar estratos en el marco de la eliminación del paludismo dado para los países de Mesoamérica bajo la iniciativa EMMIE, con la idea de organizar áreas prioritarias de trabajo o para orientar las actividades de intervención, sin embargo, la estratificación de municipios a partir del IPA fue un paso intermedio antes de la estratificación de localidades y hasta los focos que es hasta donde se ha llegado ahora (OMS-OPS, 2019).

La OMS resalta

“En el contexto epidemiológico actual el IPA municipal no tiene mayor utilidad en la estratificación en las Américas por los siguientes motivos: En países donde se ha interrumpido la transmisión en muchos territorios o donde el número de casos es muy bajo, el valor del IPA ofrece muy poca orientación para estratificar. El IPA no permite identificar las zonas sin malaria que tienen un alto potencial malariogénico (receptivas y vulnerables), elemento imprescindible

para prevenir el restablecimiento de la transmisión. El IPA tampoco es de utilidad porque lo que orienta sobre la estrategia de vigilancia local es el número absoluto de casos por localidad (o unidad de salud) y no el riesgo municipal. Adicionalmente, la heterogeneidad y focalización de la malaria al interior de los municipios no permite que el IPA municipal oriente en la identificación de las localidades que más contribuyen a la transmisión” (OMS OPS, 2019, p. 16).

Estratificación actual del paludismo en Nicaragua

“El MINSA en su documento normativo explica sobre la estratificación:

La estratificación es un ejercicio local basado en el análisis de la magnitud de la endemia y de la condición de riesgo de las áreas geográficas. Es un proceso dinámico que dependerá de la calidad de la vigilancia de casos y la capacidad de establecer procesos sistemáticos para monitorear la receptividad (presencia de vectores) y el riesgo de importación del parásito (también conocido como vulnerabilidad), que debe realizarse de manera anual a nivel de municipio para el país. Una vez se ha estratificado el país, se planificarán las intervenciones en función del estrato” (MINSA-DPE, 2019a, p. 15).

Estrato según el riesgo de paludismo:

“Zona geográfica que comparte factores determinantes de la receptividad, el riesgo de importación de parásitos y la transmisión de la malaria” (MINSA DPE, 2019a, p. 14).

Se han definido los siguientes:

Estratos	Descripción
Estrato 1	No receptivo.
Estrato 2	Receptivo sin casos autóctonos y sin riesgo de importación del parásito. Incluye focos eliminados, sin casos importados o sin inmigración desde territorios endémicos.
Estrato 3	Receptivo, sin casos autóctonos, y con riesgo de importación del parásito. Incluye focos eliminados, con casos importados o con inmigración desde territorios endémicos.
Estrato 4	Receptivo, con casos autóctonos. Incluye focos activos con menos de 3 casos por unidad de salud por semana y focos residuales.

Estrato 5 Receptivo, con casos autóctonos. Incluye focos activos con más de 3 casos por unidad de salud por semana, ver figura 3 y en anexo 11 tabla 14, (MINSa DPE, 2019a, p. 16).

Figura 3

Mapa de los estratos Nicaragua 2019



Fuente: DPE, Componente Nacional de Malaria MINSa 2019

En la figura 3 se presenta el mapa de estratificación de los municipios con los criterios que OMS brindó a los países para caracterizar los cinco estratos del riesgo y que se adoptaron en Nicaragua a partir del 2019.

La información que se necesita para estratificar municipios, según la normativa 154 de 2019 plantea que debe haber información de los casos autóctonos de paludismo de los últimos 3 años, para identificar zonas históricas y actuales de paludismos (MINSa DPE, 2019b).

Percepción del riesgo

La percepción del riesgo de contraer el paludismo dependerá del grado de endemia de la enfermedad en el país, en países donde ha habido una reducción significativa o han alcanzado la eliminación de la enfermedad, deja de ser percibida como un riesgo de salud pública y esto es uno de los elementos para que la enfermedad vuelva a emerger ya que los elementos para que la enfermedad vuelva a establecerse no han desaparecido completamente, además los trabajadores de la salud no vinculan los síntomas como un caso de paludismo, de forma que el diagnóstico deja de ser oportuno y el abordaje terapéutico de pacientes podría no ser adecuado (Lu *et al.*,2014).

Mecanismo de transmisión

La transmisión se ve afectada por el clima, las migraciones, la geografía y a menudo coincide con la estación de lluvia (Botero & Restrepo, 2012).

El paludismo es transmitido cuando un mosquito hembra del género *Anopheles* infectada pica al hombre e inyecta los parásitos, el horario de picadura es entre el anochecer y el atardecer, durante el día generalmente reposan reduciendo el riesgo de transmisión a estas horas (Campuzano & Blair, 2010). Otras formas de infección han sido reportadas como las transfusiones de sangre fresca o de componentes sanguíneos infectados que contienen *Plasmodium*, así como el riesgo de infección en los accidentes con agujas contaminadas por el plasmodio en estas transfusiones sanguíneas (Kesteman *et al.*, 2016).

Es importante indicar que la reemergencia de la enfermedad en algunos países puede ocurrir por diferentes factores, entre ellos, cambios en el control de los programas de paludismo, aspectos biológicos del huésped humano, migraciones, casos asintomáticos, el vector, el parásito, cambios en el medio ambiente y desarrollo de genes para resistencia tanto en el vector como en los parásitos (Abad *et al.*, 2019).

Muchos estudios han observado que la ocurrencia de brotes incluso en zonas donde no había casos por varios años puede ser debida al desplazamiento de personas con el parásito a zonas donde se encuentra el vector transmisor (Benítez *et al.*, 2004).

Factores que favorecen la transmisión

Existen factores que han hecho difícil el control del paludismo, como las migraciones, la cultura, cambio climático, características socioeconómicas, demográficas y epidemiológicas (Blanco & García, 2016), otros aspectos que favorecen el establecimiento y la transmisión de la enfermedad son la mala calidad de las viviendas, presencia de criaderos cercanos a la vivienda entre otros (Kesteman *et al.* 2016), estas condiciones pueden propiciar que se presenten brotes de paludismo no sólo en áreas endémicas, sino en aquellas que incluso han sido declaradas con anterioridad libres de la enfermedad (Hijar *et al.*, 2002). Otro aspecto para el éxito de la transmisión a considerar son las condiciones genéticas del parásito y la compatibilidad con sus vectores (González-Cerón *et al.*, 2010).

Características socioeconómicas de los países como la migración, trabajo informal y otras actividades pueden ser factores que permitan la circulación de personas infectadas con plasmodio a diferentes zonas del país, expandiendo la enfermedad a zonas incluso donde no había casos, pero de tener las condiciones climáticas estarían dando la oportunidad para el establecimiento del paludismo (Salas *et al.*, 2021).

P. vivax es genéticamente más diverso, porque tiene poblaciones menos estructuradas que *P. falciparum*, lo que indica que *P. vivax* puede ser un parásito más antiguo en el hombre y menos susceptible a identificar sus puntos débiles, debido a esta condición el *P. vivax* ha logrado mantenerse en mayor número frente a otras especies, en zonas con alta transmisión el *P. vivax* aumentaría la tasa de recombinación entre clones distintos con las nuevas infecciones y con las recaídas garantiza estos clones como hipnozoítos latentes que pueden ser transportada por las personas que migran o se movilizan, por lo tanto, las recaídas y la recombinación posterior entre estos clones mantendrían una alta diversidad incluso en temporadas de transmisión vectorial baja (Barry *et al.*, 2015).

Aspectos Socioeconómicos.

Las actividades socioeconómicas de un país pueden incidir en el desplazamiento de personas a lugares en búsqueda de fuentes de trabajos para mejorar su situación económica (Cardona-Arias, 2019). Nicaragua es un país agrícola, ganadero y pesquero, por estas actividades económicas hay mucha movilización a los departamentos del país donde se desarrollan estas actividades (Benítez *et al.*, 2016), la migración de personas en busca de trabajo en plantaciones y zonas pesqueras los ponen en alto riesgo de la transmisión ya que estas son zonas palúdicas (Piñeros, 2010).

Las actividades mineras ubicada en la RACCN generan desplazamientos de personas para conseguir trabajo en las plantaciones de Caoba, Laurel y Teca, esta representa el 70% de la producción nacional del país, la pesca es otra actividad que está relacionada a las migraciones temporales por trabajo y pese a que ésta actividad está estrechamente relacionada a las etnias de esta zona, mucha es impulsada por personas que se desplazan para conseguir empleo y el turismo, es una de las principales actividades por la que se desplazan personas debido a las hermosas

playas, paradisíacas islas, su rica cultura gastronómica, bailes y extraordinario arte original. (Pro-Nicaragua, 2020).

Aspectos Culturales y religiosos

Los aspectos culturales y religiosos pueden favorecer la transmisión del paludismo debido a las migraciones por estas actividades, que pueden promover la exposición de personas a zonas de riesgo o propiciar que personas transporten el parásito a zonas donde no había casos (Alvez *et al.*, 2006).

Nicaragua tiene una rica población indígena: Los Chorotegas, los de mayor presencia en la zona de la costa pacífico, Centro y Norte del País entre los que están: Cacaopera o Matagalpa, Sutiaba y Nicarao (CADPI 2017). En la RACCN, hay un total de 46 comunidades indígenas, haciendo su composición social multiétnica, el grupo étnico Miskitu es el de mayor presencia en la zona (72.3%) y se encuentran ubicados en zonas donde hay más casos de paludismo, las otras etnias son Mestiza, Ulwa, Creola y Sumu-Mayagna. (Alcaldía Puerto Cabezas, 2012).

Los Miskitu viven en la costa Caribe del país, en una región compartida entre Honduras y Nicaragua, un gran número de ellos viven actualmente en Puerto Cabezas (Raffa, 2009), la mayoría de la etnia Miskitu está encuentran ubicada a lo largo del Rio Coco o Wanki (Zapata, 2008).

Para los Miskitu, hablar de enfermedad, es hablar de un desequilibrio del hombre con la naturaleza llamado por ellos (Saura Takan), y las enfermedades (sickness) son tratadas con medicina tradicional, que son un conjunto de prácticas, conocimientos y creencias orientadas a la prevención y curación de las enfermedades, que frecuentemente para ellos, son provocadas por espíritus malos, que pueden ser manejados o evitados por profetas (Ukuly), sacerdotes y médicos (Sukia), curanderos (Uhura) estos últimos usando plantas medicinales para tratar las enfermedades provocadas por estos espíritus malos (Aguilar & Gutiérrez, 2004).

Para la etnia Miskitu y los Sumos-Mayagnas es normal abordar las enfermedades desde el punto de vista religioso usando medicina natural o (di basta) como ellos la conocen y esta es empleada desde un resfriado hasta para detener espíritus que puedan causarles daños graves o la muerte (Murillo & Toledo, 2001).

El paludismo o malaria, rihsiksa, como la conocen la población étnica en esta región de Nicaragua es abordada de dos puntos de vista: el técnico y el tradicional, desde el punto de vista técnico usado por los trabajadores del MINSA, el paludismo es visto como una enfermedad con agente causal y factores de transmisión, en donde estos están relacionados con las condiciones ecológicas-ambientales, claramente comprobados por la ciencia, quienes no dan cabida a otra explicación y la cura está sustentada por medicamentos que la ciencia ha investigado y ha aprobado para el uso en humanos como tratamiento del paludismo y es el que el MINSA autoriza para la administración a las personas con paludismo confirmado (Borge, 2017).

El otro punto de vista, el tradicional, con el que es abordado el paludismo por los médicos tradicionales comunitarios quienes explican la enfermedad desde una visión holística, donde ven al paludismo como un “mal” que ocurre cuando la persona no se cuida con la medicina tradicional como lo hacían sus ancestros y de la vida desorganizada con el medio ambiente, afectando la vida emocional, física y psicológica de los habitantes de la comunidad (Bush, 2011).

Uno de los desafíos que encuentra el MINSA es conjugar ambas visiones para abordar el paludismo, ya que se hace necesario tratar con el medicamento orientado por norma nicaragüense a los pacientes con la enfermedad, pero para prevenir hay que hacer uso de la cosmovisión, debido a la riqueza cultural de las etnias y a la gran diversidad lingüística (Monge, 2011). El abordaje del paludismo desde la cosmovisión es una de las estrategias para el control de esta enfermedad, sobre todo en zonas donde convergen muchas etnias (Calzada *et al.*, 2015).

Condiciones ambientales y las implicaciones en la enfermedad.

Las regiones tropicales que son vulnerables a la presencia de lluvias, tormentas y huracanes por su ubicación tienden a desarrollar microclimas que son idóneos para la trasmisión de enfermedades de tipo tropical dentro de ellas el paludismo (UN, 2010).

Muchas organizaciones internacionales para conceder préstamos a Nicaragua han evaluado la vulnerabilidad climática que puede presentar el país debido a su ubicación. El BID analizó esto en un estudio retrospectivo realizados entre 1996-2015 en Nicaragua y encontró que este país es el cuarto más afectado por fenómenos climáticos en el mundo, lo que podría

repercutir en el 22% de la economía del país (Soriano *et al.*, 2018), sin embargo, el BM ha evidenciado que el país cuenta con un plan alternativo por la ocurrencia de eventos y cambios climáticos, dirigido para los sectores agropecuario, forestal y pesca, promoviendo medidas de adaptación ajustadas y adecuadas a cada zona y sus características ambientales para dar una respuesta a los eventos por cambio climático dentro de los cuales está la salud (López, 2015).

Los cambios en los modos de producción, el aumento de la población, los desplazamientos por oportunidades de vivienda, propiciado el desarrollo de criaderos del vector y la aparición de casos en zonas donde no había reportes de paludismo (OPS, 2014). Estos cambios favorecen en la dinámica del vector transmisor, las acciones del sistema de vigilancia toman en cuenta este aspecto para poder tener un impacto en las acciones de control y eliminación del paludismo (Muñoz, 2017).

Dentro de los factores asociados con la transmisión del paludismo en regiones endémicas se ha destacado las características epidemiológicas (Oliveira *et al.*, 2010), las viviendas desprotegidas, presencia de criaderos cercanos a las viviendas, los aspectos socioeconómicos, culturales, demográficas, aumentan la posibilidad de la presencia de brotes de paludismo (MINSA DPE RACCS, 2015), la mayoría de los países en desarrollo presentan condiciones sociales y ambientales que propician la ocurrencia de la enfermedad, tanto en áreas tradicionalmente palúdicas, como en aquellas que han sido declaradas libres de la enfermedad (Sánchez & Chamizo, 2012).

La transmisión del paludismo es principalmente causada por los vectores Anofelinos, el parásito necesita al vector para completar su ciclo sexual, donde se comparten y pasa a las nuevas generaciones de parásitos aspectos genéticos fundamentales, como por ejemplo la resistencia a fármacos (Vázquez *et al.*, 2019).

Las condiciones climáticas, precipitación, temperatura y humedad relativa, inciden en la población de vectores, incrementando su número y la supervivencia de estos, en muchos lugares la transmisión es estacional y alcanza su máxima intensidad inmediatamente después las lluvias,

se pueden producir súbitamente epidemias de paludismo luego de tormentas o huracanes ya que generan criaderos de los mosquitos transmisores (Blanco & García, 2016).

Investigadores de Panamá y Costa Rica al estudiar un brote de paludismo en las fronteras en común en 2008 y 2010, encontraron que el mal manejo de la basura, viviendas desprotegidas, la topografía y el clima creaban condiciones para el desarrollo del vector, observaron alta migración de los residentes a zonas donde no había paludismo, consideraron que eran factores a tomar en cuenta en el control y la eliminación del paludismo y finalmente no encontraron relación entre el sexo y la edad con padecer la enfermedad (Cáceres *et al.*, 2012).

VII. DISEÑO METODOLÓGICO

- a. **Tipo de estudio:** De acuerdo al enfoque es Cuantitativo, de acuerdo al tiempo es retro-prospectivo, de acuerdo a la intervención del investigador es observacional descriptivo (Manterola & Otzen 2014) (Manterola *et al.*, 2019).
- b. **Área de estudio:** Zonas endémicas y áreas (SILAIS, municipios y localidades) donde se han presentado casos de paludismo confirmados y ocurridos en Nicaragua durante el período 2013 a 2020.
- c. **Universo:** *Elementos (personas, objetos, programas, sistemas, sucesos, base de datos,) globales, finitos e infinito (Condori-Ojeda & Porfirio, 2020).* Todos los casos sospechosos de paludismos comprendidos en el período de estudio 2013-2020, reportados en los 19 SILAIS del País.
- d. **Población:** *Elementos accesibles o unidad de análisis que perteneces al ámbito especial donde se desarrolla el estudio (Condori-Ojeda & Porfirio, 2020).* 75,685 casos de paludismos (autóctonos, importados, inducidos, introducidos y crípticos) contenidos en la matriz de datos de Nicaragua de los años 2013 a 2020, captados, registrados, investigados y confirmados por microscopia a través de la gota gruesa para cualquier especie de plasmodio y de las variantes del país (*P. vivax*, *P. falciparum* y mixtos), contenidos en la matriz de datos de Nicaragua de los años 2013 al 2020.
- e. **Muestra:** *Parte representativa de la población, con las mismas características generales de la población.(Condori-Ojeda & Porfirio, 2020).* 75,201 es el resultado de los casos de la población, extraídos y filtrados de la matriz de datos del MINSA y que comprende únicamente los casos autóctonos con diagnóstico por gota gruesa de *P. vivax*, *P. falciparum* y los casos mixtos, caracterizados por estratos y comprendidos durante el período de estudio de 2013-2020, con los que se generó una base de datos secundaria en Excel para su análisis.
- f. **Tipo de Muestreo:** Multi etápico o poli etápico, probabilístico: *es un tipo de muestreo probabilístico que consiste en dividir a la población en grupos cada vez más pequeños, o etapas, y luego seleccionar una muestra de cada etapa (Mdindi J., 2023):* primera etapa, una primera selección por conglomerado *Muestreo por conglomerado o en racimos en este método de muestreo se busca la heterogeneidad dentro de los grupos. (Condori-Ojeda & Porfirio, 2020).* Se agruparon los años para tener un mejor manejo de la

información del reporte de casos, segunda etapa a cada conglomerado se usó el tipo de muestreo por estratos *cuando se requiere dividir a la población en estratos heterogéneos con unidades homogéneas de acuerdo a algunas variables que se considera que pueden influir en los resultados o porque se quiere hacer comparaciones, variables: edad, sexo, ocupación, ámbito geográfico, zona de residencia, entre otros. (Condori-Ojeda & Porfirio, 2020).* para evaluarlos de acuerdo al registro de casos y con las Normativas que operaban en ese momento por conveniencia. bajo el marco muestral: archivos (Hernández-Sampieri & Mendoza, 2018).

g. Selección de la Muestra:

- ✓ Los ocho años de estudio se agruparon en tres conglomerados por años (2013-2015), (2016-2018) y (2019-2020), para ser evaluados con la normativa correspondiente a esos años.
- ✓ Cada conglomerado fue agrupado por estratos, según la definición de estratos descrita en la Normativa N-114 de los años 2013, 2016 y 2019, para ser aplicada a cada conglomerado, que agrupa sectores o municipios con características similares en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, así como de los factores de riesgo a que la población está expuesta y los focos de infección para orientar las intervenciones contra el paludismo. (2013 a 2018 estratos I, II y III) (2019 a 2020 estratos 1,2,3,4 y 5)
- ✓ La muestra fue el resultado de aplicar los criterios de inclusión para dar cumplimiento a los objetivos de este estudio y que cumplieran con los siguientes parámetros:

Todos los casos confirmados por microscopia (gota gruesa) positivos a algún plasmodio que se registró después de la investigación epidemiológica en la M10 como caso autóctono confirmado en la matriz de datos del Ministerio de Salud del período de estudio 2013 a 2020, según definición de caso Normativa N-114.

h. Criterios de inclusión

- Todos los casos autóctonos confirmados por microscopia con cualquiera de las especies *P. vivax*, *P. falciparum* o en su condición de mixtas, procedente de cualquier municipio o cualquier estrato de los SILAIS del País, registrados después de la investigación epidemiológica, en la matriz de datos del Componente de Malaria M-10 (DPE-MINSA), comprendido en el período de estudio 2013-2020.

- Casos que se clasifiquen como brote, de acuerdo con la definición de brotes para los estratos identificados en el país, bajo criterios de Norma técnica nicaragüense.

i. Criterios de exclusión

- Casos positivos autóctonos no completos o sin datos.
- Casos positivos con datos que no puedan ser procesados por los estadísticos seleccionados para el estudio.

j. Unidad de análisis:

- Matriz de datos de M10 de la DPE del Ministerio de Salud que comprende todos los casos de paludismo de cualquier especie de plasmodio confirmados por microscopia a través de la Gota Gruesa (Estándar de oro para el diagnóstico del Paludismo) y que fueron investigados epidemiológicamente.
- Base de datos secundaria generada en Excel a partir de la Matriz de datos del Ministerio de Salud, construida después de seleccionar únicamente los casos autóctonos que estuvieran comprendidos en el período de estudio 2013-2020, confirmados por microscopia.
- Identificación de los casos que son considerados brotes; para facilitar el análisis e identificación de los casos que hacen brotes se implementaron los criterios de brotes de tres normas técnicas que el país ha estado utilizando para la evaluación de los casos y la estratificación del país (Normativa 114–2013, Normativa 114 Segunda edición 2016, Normativa actualizada 2019), casos que se ajustaron a estas definiciones y a los criterios de selección se analizaron por año en el período de estudio 2013-2020. Además, se analizaron datos por conglomerados (2013-2015), (2016-2018) y (2019-2020) para poder explicar mejor la distribución de estos en el país.
- Informes y publicaciones científicas; en estos documentos están los resultados de la vigilancia a la fármaco resistencia, reportados por el laboratorio supra regional de Honduras al ministerio de salud de Nicaragua de muestras procedentes de Sitios Centinelas del país, para analizar resistencia a los antipalúdicos del *P. falciparum* a través de marcadores moleculares establecidos para esta vigilancia y comprendidos durante el periodo de estudio 2013-2020, en las publicaciones científicas se encuentran los resultados de estudios moleculares en los plasmodios

P. vivax y *P. falciparum* procedentes de las muestras hemáticas en papel filtro de pacientes de Nicaragua colectadas antes y durante el período de estudio.

k. Aspectos técnicos para la identificación de Brote

Para la identificación de los brotes de paludismo se usaron los conceptos que están indicados en la Normativa 114 de los años 2014, 2016 y 2019.

- Para evaluar los casos autóctonos del período 2013-2018 se utilizó la normativa de 2013 y 2016 esta última vigente aún en 2018.
- Para evaluar los casos autóctonos del período 2019-2020 se utilizó la normativa 2019.

A cada año del estudio en la base secundaria se le identificaron los estratos por municipios de cada SILAIS según Normativa 114 y se identificaron los casos autóctonos según los criterios de inclusión del estudio y se aplicó la definición de brote, según la Normativa en estratos I y II de los conglomerados (2013-2015) y (2016-2018), a los estratos 1, 2 y 3 del conglomerado (2019-2020).

Criterio para identificar Brote para los municipios en estratos I y II (2013 a 2018) y con municipios en estratos 1, 2 y 3 (2019 - 2020)

Municipios, sin casos o con 1 caso por cada 1000 h respectivamente, un caso autóctono es equivalente a un brote.

Procedimiento:

Se filtraron los estratos de la base de datos secundarias para encontrar los casos autóctonos que habían sido reportados de los municipios, localidades y semana epidemiológica en estratos I, II, para los conglomerados (2013-2015) y (2016-2018), para el conglomerado 2019-2020 se filtraron los municipios en estratos 1, 2 y 3. Se identifican los brotes en estos estratos bajo la consideración de que un caso autóctono equivale a un brote

Para estos SILAIS se usó la estratificación de municipios con baja y media carga de la enfermedad en las zonas de riesgo del país con la finalidad de ubicar otros brotes, ubicando la localidad, para evaluar el nexo epidemiológico entre los casos.

Criterio para identificar brotes en los municipios con estratos III del (2013 al 2018) y municipios con estratos 4 y 5 de (2019-2020)

Estatus de estos municipios, con más de 1 casos autóctono por cada 1000 h

El aumento en el número de casos semanal encima del 3er cuartil(percentil 75) en base a los últimos 5 años por dos semanas consecutivas se clasificará como un brote (MINSA DPE 2016),

Procedimiento:

Se uso el canal endémico elaborado por el MINSA-DPE y OPS, así como el elaborado de la base secundaria de este estudio (ver anexo 12 figuras 20 y 21), en los estratos III de los conglomerados(2013-2015) y (2016-2018) y en los estratos 3, 4 y 5 del conglomerado (2019-2020), del SILAIS que registró el mayor número de casos autóctonos en el país, con el fin de identificar los casos ubicados en las zonas de alerta por semana epidemiológicas, agrupándolos por localidad, municipio, SILAIS y año para poder identificar según definición de la Norma técnica, los brotes.

Para establecer la dinámica de los brotes ocurridos en los ocho años de estudio se identificaron los casos que fueron definidos como brote ajustándose a la clasificación y definición de brotes establecidos por la normativa 114.

Aspectos de la Normativa 114 nicaragüense para definir brote de paludismo

Municipios para los años 2013-2018

Estratos I y II

E-I: IPA = 0 casos por 3 años seguidos

E-II: IPA menor o igual a 1 caso por tres años seguidos

Estrato III

E-III: IPA > 1 caso por 1000 hab.

Criterios de la Normativa 114: identificación de brotes en los años 2013 a 2018

Estratos I y II: un caso autóctono es equivalente a un brote, ver figuras 1 y 2.

Estrato III: el aumento en el número de casos semanal encima del 3er cuartil por dos semanas consecutivas se clasificará como un brote (MINSA DPE 2016), para tal fin se usó el canal endémico de la DPE MINSA 2013-2020, ver anexo 12 figuras 20 y 21 y el comportamiento de los casos por año, ver figuras 6–9.

Criterios de la Normativa 114: identificación de brotes años 2019 y 2020

Los estratos cambian a número arábigos.

Estratos 1, 2, 3: La identificación de un caso autóctono en estos estratos es equivalente a un brote. Sin embargo, si no se presentan más casos en un período de 4 semanas, el brote debe reportarse como controlado y cerrado.

Si el caso es clasificado con fuente de infección de otro lugar distinto al lugar de captación del caso, y el sitio de infección está en municipios con estrato 1, 2 y 3 el origen del brote está a expensas de la procedencia del caso positivo.

Estrato 4 y 5: Un aumento en el número de casos semanal encima del 3er cuartil (percentil 75) en base a los últimos 5 años por dos semanas consecutivas se clasificará como un brote (MINSA DPE, 2019).

I. Aspectos éticos del estudio:

- Se utilizó el permiso de las autoridades del Ministerio de Salud y del Programa Nacional de Malaria, en la que el investigador se compromete a respetar el anonimato del paciente, de los que únicamente se estarán utilizando los aspectos epidemiológicos y de diagnóstico del paludismo de la muestra para ser analizados en esta investigación y usar los datos de las muestras comprendidas en el período de estudio.
- Para el análisis molecular se evaluaron los datos encontrados y publicados de muestras obtenidas como parte de la vigilancia a la fármaco-resistencia del *P. falciparum* procedentes de los sitios centinelas de los años desde el inicio de la vigilancia hasta los obtenidos durante el período de estudio 2013 al 2020 para esto estaremos utilizando los informes de los resultados de las evaluaciones moleculares a los plasmodios en vigilancia que resguarda el Componente Nacional de Malaria que se han realizados a las muestras en papel filtro recolectado en ese periodo.
- Para el caso de *P. vivax* se analizaron resultados de trabajos del 2013 ya publicados.
- Algunas muestras de brotes del 2015 y 2020 se han recolectado según lo establecido en la Norma nacional de paludismo de Nicaragua y Guía para la vigilancia a los anti-palúdicos, de las que se solicitó resultados moleculares para ser usadas dentro del estudio, a través de un permiso al componente Nacional de paludismo y la matriz de datos que contiene las

M-10 (ficha epidemiológica) los aspectos socio-demográficos de este grupo de muestras (*P. vivax*, *P. falciparum* y mixtas) contenidos en la matriz general de datos del Ministerio de Salud.

- Para las muestras de brotes que salieron en el año 2020 se manejaron bajo la misma metodología y principios éticos, que las muestras de los años anteriores comprendidos en el período para este estudio.

m. Etapas del Estudio

- **Primera Etapa: Coordinación del Estudio y recolección de información**

Primera reunión:

Realizada en 2015 con las autoridades del Ministerio de Salud para la presentación del trabajo de investigación. Gestión y aprobación del documento y el trabajo de investigación

Segunda reunión:

Se realizó a finales del 2020 para evaluar los avances del estudio y las limitaciones que se encontraron, coordinaron los apoyos correspondientes para el análisis y la recolección de información sobre resultados moleculares y el apoyo del área de análisis estadísticos donde se realizaron los aspectos de estadísticos a evaluar para la detección de brotes.

Método de recolección de información:

Se realizó una revisión de la Matriz de datos que comprende la M-10 o ficha de investigación epidemiológica del caso, que es reportada al Componente Nacional de Malaria de MINSA central por los SILAIS del 2013 al 2020. Elaboración de la base secundaria la que se limpió y ajustó de acuerdo con las variables, criterios y objetivos del estudio.

Procedimiento para la recolección de información:

Se llenó una lista de registro de casos positivos reportados en la matriz de datos que la DPE-MINSA facilitó, donde se incorporan las fichas de investigación del caso que cada SILAIS al sistema de vigilancia (M10), se obtuvo información sobre las variables epidemiológicas: SILAIS, municipio, semana epidemiológica, edad y sexo del paciente, tipo de infección diagnosticada por microscopia.

- **Segunda Etapa: identificación de bases moleculares de estudios de brotes (revisión bibliográfica), hallazgos y análisis de la información.**

Recopilación de estudios moleculares (resultados Nicaragua).

Se realizó una revisión bibliográfica en buscadores Google académico, medline, pubmed, Malaria Journals, artículos completos Biomed central, del total de estudios realizados en Nicaragua. Se identificó bibliografía base para ver marcadores genéticos más usados en los plasmodios (*P. vivax* y *P. falciparum*) a nivel internacional y realizados en el país. Se analizaron aquellas que incorporaran estudios con muestras procedentes de Nicaragua

Elaboración de línea de base de estudios moleculares.

El Ministerio de Salud ha realizado estudios moleculares de los plasmodios que circulan en el país con institutos de investigación como el CDC, el Instituto de Tapachula, México, Honduras, usando marcadores para la vigilancia a la fármaco-resistencia del *P. falciparum* y estudios moleculares del *P. vivax*. Los resultados de estos estudios han sido publicados, datos que se utilizaron para elaborar la línea basal de los marcadores usados en las investigaciones moleculares realizadas en el país, con el fin de identificar hallazgo que den evidencia de la presencia de genes que pueden haber dado una alerta de cambio genético en los parásitos que estuvieron involucrados con los brotes.

Las muestras hemáticas en papel filtro han sido colectadas por trabajadores del SILAIS y del CNDR, estas se encuentran a forma de respaldo en el CNDR en un banco de muestras hemáticas que contiene ADN de parásito causantes del paludismo

Análisis de la Información:

Se realizó homogenización y limpieza en la Matriz de datos del MINSA para hacer una base secundaria en Excel y poder tabularlos, estos datos fueron seleccionados por los objetivos y variables del estudio, respetando criterios de inclusión de la investigación y los propios de la norma nicaragüense, se presentaron los resultados en tablas y gráficos, donde se presentan las frecuencias encontradas en la base secundaria y los resultados obtenidos presentan todos los aspectos epidemiológicos a evaluar, las variables del estudio por cada objetivo en las que se describieron los casos según lugar y tiempo.

Se identificó y caracterizó epidemiológicamente al SILAIS que más carga de la enfermedad aportó al país durante el período de estudio, con las variables propuestas para el objetivo 1.

A este SILAIS se le identificaron las condiciones climáticas de temperatura, precipitación y humedad de los registros de INITER con la que se construyeron gráficos, para incluir los aspectos ambientales dentro de la caracterización epidemiológica de esta zona.

Se construyó una línea de tiempo con el auxiliar de Word 360 para presentar los brotes y el número de casos por año, de estos SILAIS con brotes según el estrato en zonas endémicas y para zonas sin transmisión e hipo endémicas, así como los plasmodios causantes de estos brotes, ajustándolos a las variables del objetivo 2

Para el análisis molecular se revisaron los informes de país emitidos por el laboratorio de referencia supra regional de Honduras de la vigilancia de los antipalúdicos realizadas en muestras hemáticas en papel filtro procedentes de sitios centinelas del país durante el período de estudio, se incluyó además una revisión bibliográfica de todos los estudios moleculares publicados de *P. falciparum* y de *P. vivax* realizados en Nicaragua.

Con toda la información recopilada se generó una línea de base por cada uno de los plasmodios, para evaluar los genes detectados en las investigaciones publicadas y en la vigilancia a los antipalúdicos que el país realiza anualmente, los que fueron analizados según las variables del objetivo 3.

- **Tercera Etapa: Tabulación y análisis de los datos**

Método de Análisis (plan de tabulación y análisis):

Se determinaron los brotes, en la línea de los años de estudios, como resultado de la aplicación de los criterios para identificar brotes establecidos en la Normativa 114 y de acuerdo a los objetivos del estudio, además, se determinaron las condiciones climáticas de temperatura, humedad y precipitación por año durante todo el período de estudio del SILAIS que presentó la mayor carga de enfermedad.

Análisis de los reportes y estudios genéticos:

Se analizaron todos los informes de la vigilancia a los antipalúdicos de *P. falciparum* realizados en el país, brindados por el MINSA, se hizo una evaluación de los aspectos genéticos, de las publicaciones de estudios moleculares para *P. falciparum* y *P. vivax*, con el propósito de encontrar aspectos que puedan brindar algunas características moleculares en los parásitos.

Se tomó en cuenta los resultados genéticos ya disponibles para fragmentos de genes estudiados para *P. falciparum* y *P. vivax*: *pfprt*, *pfdhfr*, *pfdhps*, *pfmdr*, *pfmsp1*, *pfmsp2* y *pfglurp*, *pvmssl*, *pvmssl*, *pvdhfr* usados en las evaluaciones de resistencia e investigaciones de variabilidad, para sentar la línea basal de genotipos circulantes en muestras hemáticas comprendidas entre 2013-2020 realizados en el país.

n. Variables por objetivo:

Objetivos 1: Determinar las características epidemiológicas de los brotes causados por *P. falciparum*, *P. vivax* y casos mixtos de 2013 a 2020

Variables:

Se evaluaron las variables únicamente de los casos confirmados con paludismo autóctono (según clasificación Norma Técnica Nicaragüense) con diagnóstico confirmado por gota gruesa

- | | |
|------------------------|-----------------------------------|
| ✓ Año | ✓ Sexo |
| ✓ SILAIS | ✓ Etnia |
| ✓ municipio | ✓ Clasificación |
| ✓ Tipo (urbano/ rural) | ✓ Parásitos (especie de parásito) |
| ✓ Edad | ✓ Condiciones ambientales |

Objetivos 2: Establecer la dinámica de los brotes causados por *P. falciparum* y *P. vivax* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020.

Variables:

Se utilizaron los aspectos de Estratificación del paludismo, definición de brote establecida por la norma técnica nicaragüense editada 2013, para los datos de 2013 -2016, la normativa 2017 para los años 2015-2018 y para 2019 y 2020, se utilizó la norma técnica del 2019, además el análisis del canal endémico para las zonas con paludismo endémico.

- | | |
|--------------------------------|----------------------------|
| ✓ Año | ✓ Clasificación |
| ✓ Mes | ✓ Parásito |
| ✓ Semana epidemiológica | ✓ Estratificación del país |
| ✓ SILAIS, municipio, localidad | ✓ Canal endémico |
| ✓ Tipo (urbano/rural) | |

Objetivos 3: Generar línea base de los genotipos encontrados en *P. falciparum* y *P. vivax* a partir de resultados de estudios moleculares y vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos realizados en Nicaragua durante 2013 a 2020.

Variables:

Se analizaron resultados de estudios moleculares realizados por el país en muestras de *P. falciparum* y *P. vivax* para evaluar la variabilidad genética, la búsqueda de genes o mutaciones que puedan conferir resistencia, así como estudios genéticos de investigación que el país lleva en zonas de alta y media endemia (RACCN y Chinandega) en *P. vivax*.

- ✓ Año
- ✓ SILAIS, municipio
- ✓ Marcadores para *P. falciparum*
Resultados moleculares por año de *P. falciparum*
- ✓ Marcadores para *P. vivax* Resultados moleculares por año de *P. vivax*

VIII. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADO

Para conocer la epidemiología de los brotes fue necesario analizar la totalidad de casos contenida en la matriz de casos positivos de paludismos del MINSA de los años 2013 a 2020, matriz de datos que contenía las M10 investigadas y llenadas por epidemiólogos de cada SILAIS, por los que se contaba con un documento que no era enteramente homogéneo en las variables que lo componen, esto debido a que se incorporó la información textualmente como esta fue recogida en terreno para no perder lo investigado en la M10, aspecto que la volvió difícil de analizar desde la matriz de datos del MINSA, ante esto (sesgo de información) y para tratar de solventar esta situación se construyó a partir de esta matriz, una base de datos con las 14 variables de este estudio para tratar de ajustar la información a los parámetros que se estarían analizando, los datos que no se pudieron ajustar en la base de datos creada para homogenizar la información se ubicaron en la casilla sin dato (s/d) o no fueron incorporadas por carecer de información de las variables consideradas para este estudio.

El primer aspecto a presentar en los resultados fue la delimitación de la población de estudio, según aspectos conceptuales de la Normativa 114, así como los criterios de inclusión, para luego abordar los resultados por objetivos de la investigación.

Se agruparon los datos en tres conglomerados o períodos como se muestra en la tabla, para poder hacer una organización inicial de la información sobre el comportamiento de la enfermedad. El tipo de caso fue caracterizado durante el proceso de investigación (M10) por los epidemiólogos de los SILAIS, para la selección de los casos autóctonos del estudio, se utilizaron aspectos y conceptos de la Normativa 114 de los años: 2013, segunda edición 2016 y edición actualizada 2019.

Tabla 1*Clasificación de los casos confirmados de paludismo, Nicaragua 2013-2020*

CASOS (tipos)	2013-2015		2016-2018		2019-2020	
	No Casos	%	No Casos	%	No Casos	%
Autóctono	4,088	(91.44)	32,410	(99.86)	38,703	(99.86)
Importado	313	(7)	42	(0.13)	52	(0.13)
Introducido	0		1	(0.003)	0	
Críptico	6	(0.13)	0		0	
Inducido	1	(0.02)	0		0	
Sin Dato (sd)	63	(1.41)	4	(0.01)	2	(0.01)
Total	4,471		32,457		38,757	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla No 1. Clasificación de los tipos de casos de paludismo de todo el país.

En la tabla 1 se muestran los datos encontrados en la matriz de datos del MINSA y registrados en la M10 de todos los casos confirmados por microscopia y que fueron investigados y caracterizados por vigilancia (epidemiólogos de cada SILAIS) ocurridos en todo el país, los que totalizaron 75,865, durante todo el período de estudio, de acuerdo a la definición de caso que la Normativa 114 establece para la clasificación de los casos de paludismo.

Se enmarcan los casos autóctonos que corresponde al criterio de inclusión más estricto de este estudio, los que registraron un total de 75,201 correspondiendo al 99.36% de los tipos de casos registrados y caracterizados por la investigación epidemiológica.

Tabla 2*Distribución de casos autóctonos por SILAIS 2013-2020*

SILAIS	2013-2015	2016-2018	2019-2020
Bilwi	2,403	27,102	35,930
Las Minas	1,046	4,306	1,537
RACCS	348	527	917
Chinandega	154	83	10
Jinotega	87	292	176
Managua	14	24	0
León	13	4	0
Matagalpa	9	13	2
Nueva Segovia	4	0	0
Estelí	1	4	0
Río San Juan	1	30	126
Zelaya Central	7	9	1
Granada	0	1	0
Masaya	0	4	0
Madriz	0	1	0
Boaco	1	9	3
Sin Dato (sd)	0	1	1
Total	4,088	32,410	38,703

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 2. Distribución de los casos autóctonos de paludismo en los SILAIS.

En la tabla 2 se refleja como estuvieron distribuidos los 75,201 casos autóctonos de paludismo en 16 de los 19 SILAIS del país. tres SILAIS no presentaron casos autóctonos durante todo el período de estudio, Chontales, Rivas y Carazo.

Se resaltan los SILAIS que más casos presentaron durante todo el período de estudio, Bilwi, Las Minas, RACCS, de estos el SILAIS Bilwi fue el que más casos autóctonos registró, con un total de casos acumulado de 65,435, siendo el período de 2019-2020 donde registraron más casos.

Durante el período 2013-2015 un total de 13 SILAIS registraron casos, 7 SILAIS fueron los que más casos reportaron: Bilwi, Las Minas, RACCS, Chinandega, Jinotega, Managua, León.

En el período de 2016 a 2018, un total de 15 SILAIS registraron casos, los SILAIS Bilwi, Las Minas y la RACCS presentaron el mayor registro de casos, los SILAIS Jinotega, Matagalpa y Rio San Juan, presentaron aumento en el registro de casos y únicamente el SILAIS Nueva Segovia no registró casos en este período.

De 2019 a 2020, 7 SILAIS de los 16 no registraron casos: Managua, León, Nueva Segovia, Estelí, Granada, Masaya y Madriz, 6 SILAIS registraron una reducción del número de casos: Las Minas, Chinandega, Matagalpa, Jinotega, Zelaya Central y Boaco, 3 SILAIS registraron aumento en el número de casos: Bilwi, La RACCS y Rio San Juan.

Resultados objetivo 1 Determinar las características epidemiológicas de los brotes causados por *P. vivax* y *P. falciparum* de 2013 a 2020.

Se evaluaron 75,201 casos autóctonos de paludismo confirmados por microscopia de tener infección de *P. vivax*, *P. falciparum* o mixtos, 16 SILAIS presentaron casos autóctonos durante el período de estudio, de estos, 74,116 (98.6%) de los casos lo reportaron tres SILAIS: Bilwi, Las Minas y la RACCS y 13 SILAIS del país registraron 1,085 (1.4%) en conjunto presentando todos brotes.

Al evaluarlos individualmente a estos tres SILAIS, se observó que el SILAIS Bilwi registró 65,435 (87%) casos del país, Las Minas 6,889 (9.16%) casos, la RACCS con 1,792 (2.38%) casos.

Se analizaron las características epidemiológicas del SILAIS Bilwi, porque registró el mayor número de casos autóctonos de paludismo confirmados por microscopia con infección por *P. vivax* y *P. falciparum*, generando la mayor carga de la enfermedad al país, el que además presentó brotes en 5 de los ocho años de estudio.

El SILAIS Bilwi con 194,848 habitantes según proyección del Ministerio de salud en 2021, se encuentra en la Costa Caribe Norte de Nicaragua (fig.4), conformado por tres municipios (fig.5): Puerto Cabezas con 127,180 habitantes, este asiste a cuatro territorios indígenas, Waspán con 54,228 y asiste a seis territorios indígenas y Prinzapolka, con 13,440 habitantes y asiste a 2 territorios indígenas. (MINSA, 2021).

La etnia Miskitu que es la de mayor presencia en el SILAIS con el 72.3%, seguida de la etnia Mestiza con el 21.7%, la etnia Creole con el 5.7% y la etnia Zumu con el 0.3%, según datos del MINSA y la Alcaldía del SILAIS Bilwi.

Figura 4

Ubicación de la RACCN Nicaragua



Fuente: mapa Nicaragua pueblos originarios y afro-descendiente de Nicaragua

Figura 5

Municipios SILAIS Bilwi Nicaragua



Fuente: mapa SILAIS Nicaragua (MINSA 2020)

Identificación de los casos de la población de estudio

Tabla 3

Clasificación de los tipos de casos de paludismo SILAIS Bilwi 2013-2020

CASOS (tipos)	2013-2015	2016-2018	2019-2020
Autóctono	2,403	27,102	35,930
Importado	119	17	19
Introducido	0	0	0
Críptico	0	0	0
Inducido	0	0	0
Sin Dato (sd)	36	2	0
Total	2,558	27,121	35,949

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 3. Clasificación de los tipos de casos del SILAIS Bilwi, se enmarcan los casos autóctonos con un total de 65,435 (99.70%) usados para el análisis de este estudio.

El SILAIS Bilwi reportó además 155 (0.2%) casos importados y 38 (0.1%) casos que no tenían completo el dato, clasificación del caso (s/d), no reportó, casos introducidos, inducidos, ni crípticos.

El SILAIS Bilwi reportó un incremento de forma ascendente en el número de casos autóctonos de paludismo a lo largo de los años del período de estudio 2013-2020. Iniciando con un registro de 2,403 casos en el período de 2013-2015, el que para el período de 2016-2018 se observó un drástico incremento a 27,102 casos y para 2019-2020 se registraron 35,930 para un total de 65,435 casos autóctonos para este SILAIS.

Figura 4

Distribución de casos autóctonos por año y especie SILAIS Bilwi 2013-2020

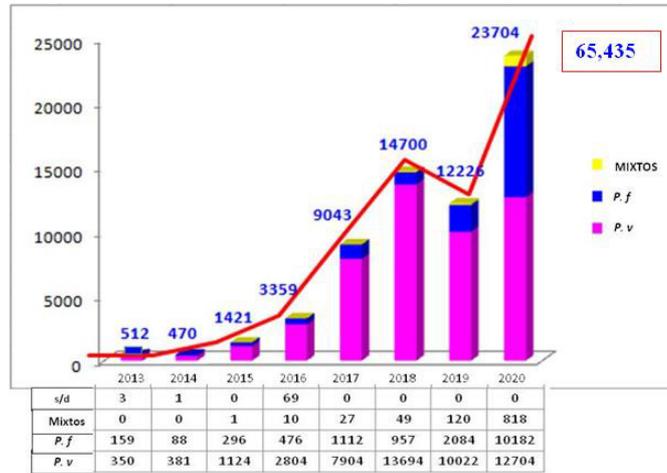


Figura 6. Se observa como incrementan los casos autóctonos de paludismo para cada especie ocurridos en el SILAIS Bilwi durante el período de estudio 2013-2020.

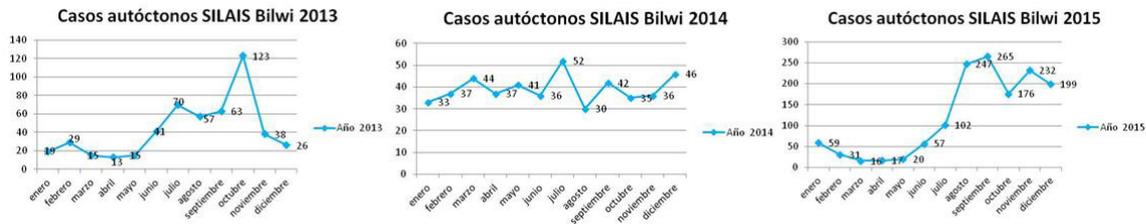
El año 2015 se registró un aumento de casos de paludismo en el SILAIS de 1,421 casos en comparación con los 982 de los dos años anteriores y también comenzaron a registrarse los casos mixtos, es decir dos especies infectando al paciente al mismo tiempo, 2018 al 2020 fueron los años que más casos autóctonos de paludismo, además no registraron casos sin dato (s/d).

De 65,435 de casos registrados para este SILAIS 48,983 (75%) fueron causados por *P. vivax*, 15,354 (23.3%) por *P. falciparum* y 1,025 (1.6%) fueron casos mixtos, estos últimos fueron aumentando desde el año 2016 y alcanzaron su mayor registro en el 2020 con 818 casos y hubo 73 (0.1%) casos que no presentaron registro de especie, reportándose sin dato (s/d).

Resultados informados por OMS en su reporte mundial de la Malaria 2019 para las Américas, describe que para el continente americano y para Centroamérica donde presentan al *P. vivax* como el principal agente causal del paludismo el que es encontrado a razón aproximada del 80%, es muy consistente con lo observado en el registro de los ocho años de este estudio, aunque en los años *P. falciparum* registró un considerable aumento en el número de casos.

Figura 5

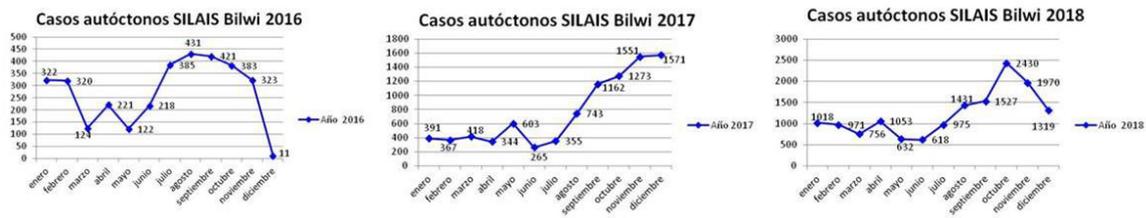
Distribución de los casos autóctonos por SILAIS 2013-2015



Fuente: Base de Datos secundaria, casos de estudio 2013-2020

Figura 6

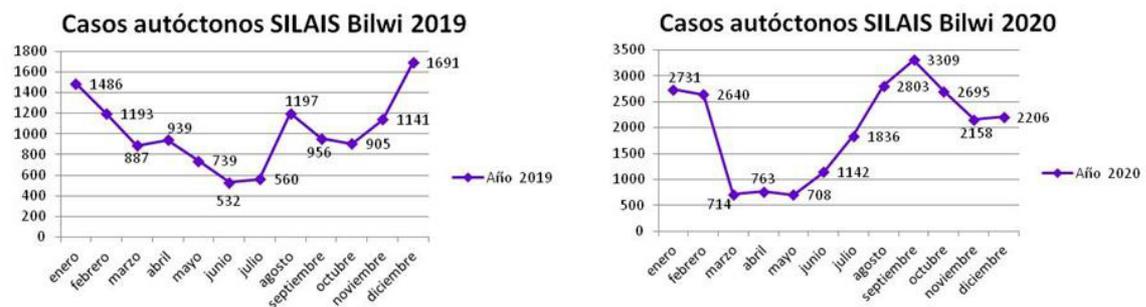
Distribución de los casos autóctonos por SILAIS 2016-2018



Fuente: Base de Datos secundaria, casos de estudio 2016-2018

Figura 7

Distribución de casos autóctonos por SILAIS 2019-2020



Fuente: Base de Datos secundaria, casos de estudio 2019-2020

Figuras 7, 8 y 9 muestran como estuvieron los casos autóctonos de paludismo distribuidos por meses y año durante todo el período de estudio.

En esta serie de gráficos donde se presenta la distribución de los casos por cada año se puede observar como los casos presentaron un comportamiento estacional registrando este aumento en el número de casos en los meses de julio a diciembre.

Debido a su clima tropical y a los eventos climáticos como lluvias, se pudo comprobar en base a los datos analizados, que el paludismo en el SILAIS Bilwi es más bien estacional, incrementado el registro los casos en los meses de junio a diciembre posteriores a las lluvias y como el SILAIS es una zona propensa a tormentas tropicales, huracanes, hace un clima ideal para la proliferación del agente transmisor del paludismo, el hecho de ser una zona con este tipo de clima podría dar las condiciones a que los eventos de paludismo se pueden presentar en otros meses del año, además este SILAIS presenta áreas propensas al desarrollo de criaderos del vector transmisor del Paludismo *Anopheles Spp* y esta actividad climática pueden incrementar el número y la supervivencia de los vectores transmisores del paludismo.

Este análisis corresponde a los resultados encontrados en un estudio realizado por Lorenzo Cáceres y colaboradores en la región fronteriza de Panamá y Costa Rica en 2007, en el evaluaron pacientes, aspectos del vector y sus criaderos, encontrando que varios brotes de la enfermedad correspondía con el aumento en la población de vectores después de períodos lluvioso en los meses posteriores a lluvias la incidencia de la enfermedad aumentaba, ellos concluyen que las condiciones ambientales son uno de los factores que influyen directamente en la transmisión del paludismo por el aumento del vector transmisor, observaron que esta enfermedad era más bien estacional y la probabilidad de enfermarse de paludismo ocurría en los meses de junio a septiembre.

Otro resultado que corresponde con este estudio, fue el realizado por Yendri Sánchez y Horacio Chamizo en Costa Rica del 2005 al 2007 en la localidad de Mantina, donde evaluaron los determinantes socio ambientales de la malaria y encontraron que los factores ambientales como la geomorfología, precipitación, clima, el relieve y tipo de suelo, influían directamente en la probabilidad de enfermarse de paludismo a los habitantes de esta localidad, ellos plantearon que el riesgo de contraer la enfermedad aumenta en la medida que las personas se exponen a zonas de inundación, por lo que en estos períodos se registra la mayor incidencia de la enfermedad.

Resultados similares fueron planteados Mara Muñoz en 2017 en el estudio sobre la evaluación de proceso de eliminación de la malaria en Paraguay, presentó en su síntesis, resultados de estudios realizados por investigadores en este país entre 2002 al 2006 donde evidenciaron que después de las lluvias las aguas alcanzan niveles adecuados para el desarrollo de lugares propicios para el desarrollo de vectores y esto está directamente relacionado con el aumento de los casos de paludismo en fechas posteriores a las lluvias.

Otro resultado que concuerda con nuestro análisis en este estudio es la investigación realizada por Blanco Bernárdez en 2006 donde evaluaron factores socio ambientales y demográfico asociados a la trasmisión de la malaria en dos barrios de la ciudad de Colon Honduras encontraron una relación directa entre los factores ambientales, la presencia de criaderos permanentes y temporales y padecer la enfermedad.

Otro estudio observacional que refuerza el comportamiento estacional del paludismo encontrado en este estudio, es el de Pascua-Santamaria de 2022, donde en una población pediátrica del Hospital Universitario de Alicante encontraron que los niños que eran atendidos con paludismo el período de mayor incidencia correspondía a los meses de junio a septiembre el que ocurría después del período de vacaciones que ellos tenían en España y coincidía con el período de mayor incidencia del paludismo de los países que ellos visitaban que era posteriores a las lluvias donde los vectores incrementaban su población, incrementando por ende el riesgo de trasmisión.

Tabla 4*Frecuencia de casos autóctonos por grupo de edad y sexo SILAIS Bilwi 2013-2020*

Grupo de edad (años)	2013-2015		2016-2018		2019-2020	
	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino
0-10	271	265	2,112	2,399	3,230	3,636
11-20	370	402	4,271	4,307	5,341	5,324
21-30	239	257	3,186	3,028	4,163	3,621
31-40	147	148	1,902	1,758	2,621	2,275
41-50	89	85	953	871	1,502	1,226
51-60	53	41	719	605	927	708
> 60	19	17	516	475	743	613
Total	1,188	1,215	13,659	13,443	18,527	17,403

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 4. Se refleja la frecuencia de los casos autóctonos del SILAIS Bilwi por grupo de edad y sexo en el período de estudio.

Durante todo el período de estudio el grupo de edades entre 0 y 40 años fue el que reportó el mayor número de casos 55,338 (84.3%), para este grupo de edades se registraron 27,853 (42.6%) casos femeninos y 27,420 (41.9%) casos masculinos.

Las edades mayores de 41 años registraron un aumento en el número de casos de 304 a 9,861 en los años de 2016 al 2020, 55% fueron femeninos y 45% masculinos para este grupo de edad, en general el sexo femenino fue el que más casos registró durante todo el período de estudio con 33,374 (51%) casos y el sexo masculino con 32,061 (49%).

En este estudio los menores de 50 años fueron los más afectados, las edades de 11 a 30 presentaron el mayor registro de casos y la edad promedio fue de 24 años, el sexo femenino fue el que registró más casos, pero durante el período 2013 a 2015 se registraron más casos masculinos.

Lo observado en este estudio con respecto a la edad y el sexo se corresponde con estudios de revisión sistémica realizado, por Cardona-Arias y colaboradores en Panamá durante el 2019, de 1980 a 2018 y el otro realizado por Oliveira-Ferreira y colaboradores en Brasil en una revisión sistemática de 1960 a 2009, en cuanto a la edad y el sexo, ellos reportaron que la edad laboral activa era la más afectada, la edad promedio fue de 28 años, no encontraron relación significativa entre el sexo y contraer la enfermedad pero encontraron una relación directa con padecer la enfermedad y la cercanía de las personas con los criaderos del vector transmisor.

Resultados reportados por Sánchez y colaboradores en 2012 al evaluar las determinantes sociales del paludismo en Costa Rica y en otro estudio realizado por Zhu y colaboradores en 2022 en un análisis epidemiológico del paludismo importado en Shanghái de personas que habían viajado a África en 2020 y 2021, se corresponde con los resultados de este estudio, ellos encontraron que los menores de 50 años fueron los más afectados, 38 años la edad promedio, no encontraron ninguna relación entre el sexo y presentar la enfermedad, la actividad laboral, trabajadores del campo, fue la que más casos presentó, clasificando a este como un factor de riesgo para padecer la enfermedad.

De igual forma se corresponde los resultados de dos investigaciones realizadas en Venezuela en Sucre, uno realizado en 2009 y el otro en 2019, encontraron que las edades de 15 a 64 años fueron las más afectadas por la enfermedad, la edad promedio fue de 28 años, no encontraron relación entre padecer la enfermedad y el sexo, determinaron que la actividad laboral y su cercanía a las zonas endémicas tenía una relación directa con presentar la enfermedad.

Tabla 5*Casos de paludismo por municipio y procedencia SILAIS Bilwi 2013-2020*

Municipio/ Procedencia	2013-2015		2016-2018		2019-2020	
	Urbano	Rural	Urbano	Rural	Urbano	Rural
Puerto Cabezas	529	425	19,451	4,373	24,439	4,548
Waspan	167	861	318	2,120	667	5,159
Prinzapolka	179	242	349	490	140	964
s/d	0		1		13	
Total	875	1,528	20,118	6,983	25,246	10,671

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 5. Se observó que el municipio Puerto Cabezas registró el mayor número de casos durante todo el período de estudio, localizados mayormente en el área urbana la que incrementó bruscamente desde 2016, manteniéndose en aumento hasta el 2020.

Puerto Cabezas cabecera departamental del SILAIS Bilwi, municipio donde se concentra la mayor cantidad de personas del SILAIS, este municipio registró el mayor número de casos a lo largo del estudio 53,765 (82.2%) y esto se registraron más en la zona urbana 44,419 (82.61%) comparados con 9,346 (17.38%) casos que presentó la zona rural de este municipio, pero es a partir del segundo período de estudio, 2016-2018 es que se registra un marcado aumento en el registro del número de casos en el área urbana de este municipio.

Estudios realizados por Campuzano y Blair en 2010 y otro por Molineros & colaboradores en 2014, evidenciaron que la unión de factores ambientales, socioeconómicos, proliferación del vector y alta circulación de personas pueden propiciar el aumento de los casos en las zonas urbanas, además concluyen que hay un paludismo urbano, que cuenta con sus propios sistemas de presión por múltiples acontecimientos de carácter social, antropológico, biológicos y ambientales que hace que eleve sus niveles de incidencia, lo que deben ser considerado para su abordaje en el control.

Waspán registró más casos de procedencia rural durante todo el estudio, registrando un aumento en los dos últimos períodos y finalmente Prinzapolka también registró más casos en el área rural que la urbana y esta fue registrando un comportamiento ascendente.

Otros dos estudios sobre paludismo rural uno realizado en Brasil por Nogueira y Garnelo en 2018 y otro en Colombia por Molineros Gallón en 2014, observaron que la incidencia de la malaria rural está muy relacionada a los aspectos ambientales, que favorecen la generación de criaderos, los aspectos socioeconómicos, calidad de viviendas, que puede elevar la explosión de las personas al vector y el difícil acceso a los servicios de salud, puede hacer que estas áreas se mantengan en condiciones de endemia y epidemia.

Tabla 6

Distribución de P. vivax y P. falciparum por municipio SILAIS Bilwi 2013-2020

Procedencia (Municipio)	2013-2015		2016-2018		2019-2020	
	<i>P. v</i>	<i>P. f</i>	<i>P. v</i>	<i>P. f</i>	<i>P. v</i>	<i>P. f</i>
Puerto Cabezas	797	155	21,842	1,847	18,998	9,201
Waspán	706	319	1,920	510	3,026	2,691
Prinzapolka	352	69	640	188	702	374
Total	1,855	543	24,402	2,545	22,726	12,266

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 6. Los datos muestran que *P. vivax* fue la especie predominante en los tres municipios del SILAIS Bilwi durante todo el período de estudio con 48,983 (74.8%) casos y *P. falciparum* registró 15,354 (23.8%), este último mostró un brusco incremento en el número de casos en los años 2019-2020.

Correspondiendo con los informes de OMS-OPS 2019 en el informe de las Américas donde sitúan al *P. vivax* como el predominante de la región.

Tabla 7*Casos de paludismo en grupos étnicos por periodo de estudio, SILAIS Bilwi*

Etnia	2013-2015	2016-2018	2019-2020
Miskitu	1,174	24,780	33,808
Mestizo	173	1,316	1,619
Mayagnas	5	106	386
Creoles	0	91	81
Otras etnias	0	32	36
Sin Dato (sd)	1,051	777	0
Total	2,403	27,102	35,930

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

Tabla 7. Se observa que la etnia Miskitu registró el mayor número de caso de paludismo 59,762 (91.3%), entre las etnias del SILAIS Bilwi, las etnias Mestizas, Mayagnas, Creoles y Otras etnias registraron en total 3,845 (5.7%) y a 1,828 (3%) casos no se les registró la etnia (s/d).

La etnia Miskitu es la de mayor presencia en la zona. En este estudio se observó que la etnia Miskitu registró el 91.33% de los casos, consistente con el dato de ser la etnia con mayor presencia en la zona.

En este estudio no se evaluó la relación etnia-enfermedad y el que se registraran tantos casos pudo deberse a la mayor presencia de esta en la zona y no por pertenecer a la etnia Miskitu, sin embargo, las costumbres y una cultura diferente frente a las enfermedades, puede de alguna forma potenciar la trasmisión, debido a que el paludismo o rihsiksa, es abordada tradicionalmente por los curanderos y la población étnica, otro aspecto es el mal empleo de los mecanismos físicos para evitar las picaduras de mosquitos como los mosquiteros impregnados que el MINSA distribuye, en algunas comunidades étnicas es usado como pared divisora o una red de pesca

Estudios realizados por Calzada y colaboradores en Panamá en la región indígena autónoma de Guna Yala en 2012, por Blair. S. en 2012 en una comunidad indígena en Armenia, Colombia y otro realizado en de analizaron brotes de paludismo, concluyeron que las comunidades indígenas tienen muchos factores que los hacen vulnerables como la pobreza, el

idioma y las costumbres, asentadas por lo general en lugares propicios para el desarrollo del vector y al analizar el brote lo catalogaron como multifactorial y uno de estos factores es lo cultural y deben ser tomados en cuenta a la hora de atender estas comunidades en el control de la enfermedad.

Tabla 8

Casos P. vivax, P. falciparum y mixtas en grupos étnicos SILAIS Bilwi 2013-2020

Etnia/ plasmodium	2013-2015	2016-2018	2019-2020
Miskitu			
<i>P.vivax</i>	888	22,503	21,235
<i>P.falciparum</i>	283	2,196	11,679
Mixta	0	79	894
Mestizo			
<i>P.vivax</i>	141	1,094	1,111
<i>P.falciparum</i>	32	219	474
Mixta	0	3	34
Mayagnas			
<i>P.vivax</i>	5	73	305
<i>P.falciparum</i>	0	31	74
Mixta	0	2	7
Creoles			
<i>P.vivax</i>	0	84	50
<i>P.falciparum</i>	0	7	29
Mixta	0	0	2
Otras etnias			
<i>P.vivax</i>	0	28	25
<i>P.falciparum</i>	0	4	10
Mixta	0	0	1
Sin Datos (sd)	1,054	779	0
Total	2,403	27,102	35,930

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

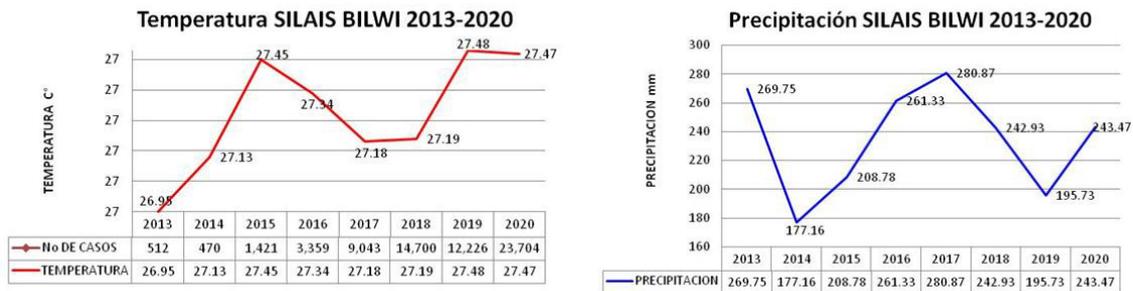
Tabla 8 se refleja la distribución de casos de plasmodio en los grupos étnicos del SILAIS Bilwi,

La etnia que más casos de paludismo registró fue la Miskitu, el plasmodio que más encontró en los registros fue el *P. vivax* con 44,626 casos, *P. falciparum* registró 14,158 casos y registraron 973 casos mixtos, la etnia Mestiza registró 2,346 casos de *P. vivax*, en *P. falciparum* 725 y 37 casos mixtos, las etnias Mayagnas, Creoles y otras etnias registraron en *P. vivax* 570 casos, en *P. falciparum* 155 y 12 en casos mixtos, a 1,833 casos (s/d) no se les registró la información epidemiológica de la etnia, reflejando mayor problema con el registro el primer período de estudio. Manteniéndose lo informado por OMS-OPS 2019 donde sitúan al *P. vivax* como el predominante de la región de las Américas.

Condiciones ambientales, registros de temperatura precipitación y humedad, SILAIS Bilwi 2013-2020

Figura 8

Valores de temperatura y precipitación SILAIS Bilwi 2013-2020

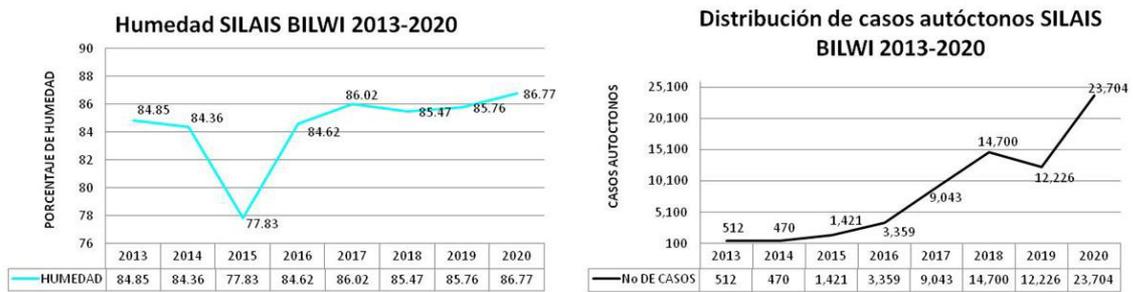


Fuente: INITER datos de temperatura promedio por año (2013-2020)

En la Figura 10 se muestran los datos promedios de temperatura que oscilaron entre 26.95 y 27.48 °C y de precipitación que osciló entre 177.16 y 280.87 mm.

Figura 9

Valores de humedad y distribución casos autóctonos SILAIS Bilwi 2013-2020



Fuente: INITER datos de Humedad por año (2013-2020). Datos Base de datos secundaria del estudio 2013-2020

En la Figura 11 se muestran los datos de la humedad relativa porcentaje que osciló entre 77.83 y 86.77. Se muestran en esta misma figura el comportamiento de los casos por año en el SILAIS Bilwi durante el período de estudio.

Este SILAIS está ubicado en la Costa Caribe Norte de Nicaragua, es una zona de trópico húmeda donde períodos de lluvia son muy comunes, en un informe elaborado por el País sobre la gestión del riesgo de desastres en Nicaragua (GIRD) lo describe como una zona con clima monzónico con períodos lluviosos constantes de hasta 10 meses de precipitación con temperatura medias anuales entre 25°C y 26°C.

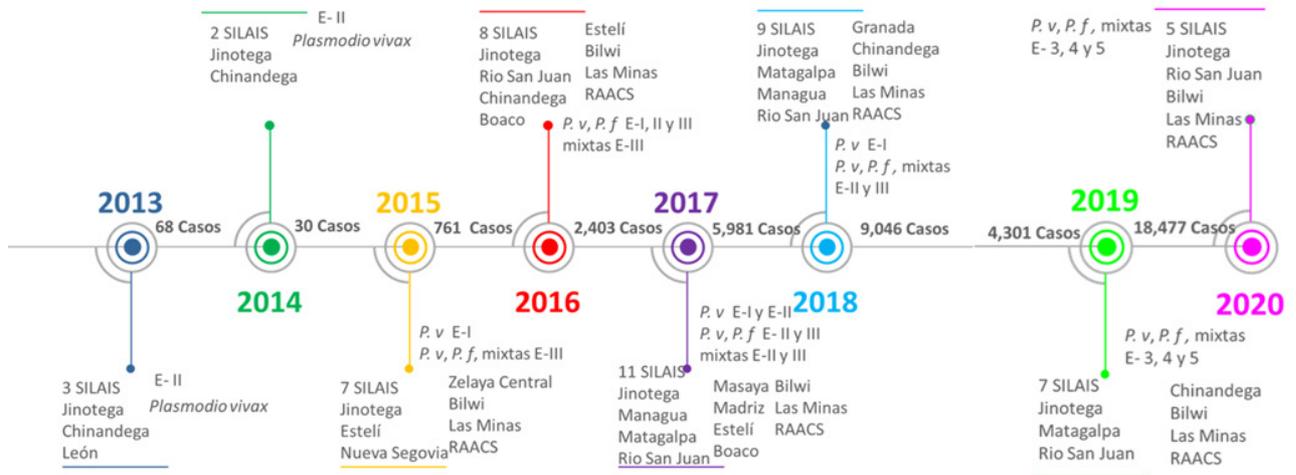
Esta zona está expuesta a muchos cambios climáticos y a fenómenos naturales como huracanes y tormentas tropicales por su posición geográfica, durante el período de estudio se pudo registrar la entrada al territorio nicaragüense se registraron, una tormenta tropical de considerable importancia, Hanna 2014 y 4 huracanes: Otto 2016, Nate 2017, Iota y Eta 2020, Tormenta tropical Hanna 2014, ver anexo 11, esto concuerda con los estudios de riesgo ambiental que el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) hizo en el 2013 para la adjudicación de préstamos al país, en los resultados del estudio ubicó a Nicaragua como el segundo país a nivel mundial que es más vulnerable a este tipo de fenómenos naturales, tras la investigación del comportamiento de estos fenómenos.

Resultados objetivo 2 Establecer la dinámica de los brotes causados por *P. vivax* y *P. falciparum* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020.

Para la identificación de los brotes de paludismo se usaron los conceptos que de la Norma técnica nicaragüense de malaria de los años 2014, 2016 y 2019, los estratos de los municipios de cada SILAIS y el canal endémico de los datos generados del SILAIS Bilwi que fue el que registró el mayor número de casos en el país, en los otros 15 SILAIS, se usaron los conceptos de brotes que tienen los municipios con estratificación de baja y media carga de la enfermedad, juntándose en una línea de tiempo para poder presentar como estuvieron distribuidos los brotes en todo el país de 2013 a 2020.

Figura 10

Dinámica de los brotes causado por P. vivax y P. falciparum 2016-2020



Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2022
 Fuente: Base de datos MNSA-DPE, 2013-2020
 E (Estratos en números romanos 2013-2018, Estratos en números arábigos 2019-2020)

En la figura 12 se muestra la dinámica de los brotes ocurridos por año durante 2013-2020, estos ocurrieron en 16 SILAIS y en todos los municipios de todos los estratos que el país tiene caracterizado. En esta línea de tiempo se puede apreciar como aumentaban los casos en cada año de estudio, se logra apreciar una leve reducción en el año 2019, pero se registra un gran aumento en el último año de estudio.

Se evaluaron 75,201 casos autóctonos del país, se encontró que hubo un total de 149 brotes en 16 de los 19 SILAIS con 41,067 casos causando brotes a lo largo del período de estudio en los municipios de los SILAIS en todos los estratos, desglose de cada SILAIS ver en anexo 12 tablas 12-29.

Los primeros registros de brotes fueron causados por *P. vivax* y se presentaron en municipios con estratos II; Jinotega, León y Chinandega, el SILAIS Jinotega fue el único SILAIS que presentó brotes a lo largo del período de estudio, a partir del año 2015 se presentaron brotes con *P. falciparum* y comienzan a reportarse los SILAIS con estratos I y III, en el año 2016 comienzan a registrarse en los brotes casos mixtos y se van incrementando hasta el último año de estudio.

Para el período de 2013 a 2015, se identificaron 30 brotes con un total de 859 casos, 9 SILAIS presentaron brotes con municipios en los estratos II y III, durante los primeros dos años el *P. vivax* fue la especie causante de los brotes, los SILAIS afectados fueron: Jinotega, León, Chinandega, Estelí, Nueva Segovia y Zelaya Central, los tres últimos no habían presentado casos en los dos años anteriores, tres SILAIS con municipios en estrato III, Bilwi, Las Minas y la RAACS comenzaron a presentar brotes, causados en su mayoría por *P. vivax*, en el municipio de Puerto Cabezas y en Bonanza municipios de los SILAIS Bilwi y Las Minas se registraron los primeros brotes de *P. falciparum*.

En el período de 2016 a 2018 se identificaron 80 brotes con un total de 17,430, casos 13 SILAIS presentaron brotes, Jinotega, Managua, Matagalpa, Estelí, Rio San Juan, Chinandega y Boaco, causados en su mayoría por *P. vivax*, sólo Jinotega presentó pequeños brotes de *P. falciparum*, los tres SILAIS con municipios en estrato III presentaron brotes causados por ambas especies y se comienzan a registrar los casos mixtos, se encontró brotes en 3 SILAIS con municipios en estrato I, Masaya y Madriz en 2017 y Granada en 2018 todos causados por *P. vivax*.

En los años 2017 y 2018 se presentaron brotes en todos los estratos de los SILAIS, además, incrementó el número de casos en los brotes en estrato III principalmente en el SILAIS Bilwi, en su mayoría causado por *P. vivax*, pero también ocurren brotes causados por *P. falciparum* y comienza a presentarse más los casos mixtos, se registraron brotes en siete SILAIS con municipios en estrato II, Jinotega, Managua, Matagalpa, Estelí, Rio San Juan, Chinandega y Boaco, en su mayoría causados por *P. vivax*, sin embargo, se encontró que Boaco, Estelí, Rio San Juan y Matagalpa presentaron brotes casi exclusivos de *P. falciparum*.

Para el período de 2019-2020, se identifican 39 brotes con un total 22,778 casos, en 2019 cuatro SILAIS: Jinotega, Matagalpa, Rio San Juan y Chinandega, con municipios en estrato 3 presentaron brotes, causados mayormente por *P. vivax*, sólo Matagalpa y un municipio de Rio San Juan presentaron brotes de *P. falciparum*, los SILAIS Bilwi, Las Minas y la RAACS con municipios en estrato 4 y 5 presentaron brotes en su mayoría causados por *P. vivax*, pero se identificaron brotes de *P. falciparum* en todos los municipios de Bilwi, tres municipio de Las

Minas (Rosita, Siuna y Mulukukú) y cuatro municipios de la RAACS (Laguna de Perlas, Desembocadura del Rio Grande, Kukrahill y Bluefields).

En 2020 los SILAIS Jinotega y Rio San Juan con municipio en estrato 3 presentaron brotes, causados por *P. falciparum*. Tres SILAIS con municipios en estrato 4 y 5: Bilwi, Las Minas y la RAACS presentaron brotes causados por ambas especies y se registró un aumento del número de casos mixtos, siendo este el año que más casos mixtos registró.

Este es un primer estudio donde se elabora una línea de tiempo de los brotes ocurridos en Nicaragua desde el 2013 hasta el 2020, los pocos que han sido registrados han sido de un sitio y tiempo específico, en este estudio se pretende establecer un panorama de los brotes que han ocurrido a lo largo de los ocho años y cómo fue su comportamiento en cuanto a su ubicación, estrato, SILAIS involucrados y el número de casos. Para este análisis se evaluaron 75,201 casos autóctonos los que fueron caracterizados por cada SILAIS con los criterios descritos para su identificación en este estudio, de los que resultaron 149 brotes causados por 41,067 casos a largo del período de estudio.

Para construir la línea de tiempo y dinámica de los brotes de paludismos causados por los plasmodios *P. vivax* y *P. falciparum*, se analizaron los años por estratos según la clasificación de la Normativa 114 y se aplicó la definición de brote por estratos, debido a que los conceptos de brotes están estrechamente relacionado con la estratificación que el país caracterizó en esos años, para los datos del 2013 al 2018 se utilizó la definición de brotes por estratos (I, II y III) de la Normativa 114 de los años 2014 y 2016, para abordar los casos del 2019-2020 se utilizó la definición de brotes por estratos (1, 2, 3, 4 y 5) de la Normativa 114 de 2019 además se utilizó el canal endémico en el SILAIS que más casos registró del país.

Tabla 9*Resumen de los casos brotes por SILAIS*

SILAIS- Estratos	Casos brotes Periodos de estudio			Total Casos	Total Brotos
	2013-2015	2016-2018	2019-2020		
Estrato I					
Masaya		4		4	3
Granada		1		1	1
Madriz		1		1	1
Sub Total		6		6	5
Estrato II					
Jinotega	51	175	93	319	18
Managua		9		9	2
Matagalpa		8		8	3
Estelí	1	4		5	5
Río San Juan		23	125	148	10
Chinandega	72	27	6	105	10
León	2			2	1
Boaco		9		9	4
Nueva Segovia	6			6	2
Zelaya Central	2			2	1
Sub Total	134	255	224	613	56
Estrato III					
Bilwi	315	14,767	21,379	36,461	18
Las Minas	179	2,169	444	2,792	30
RACCS	231	233	731	1,195	40
Sub Total	725	17,169	22,554	40,448	88
TOTAL	859	17,430	22,778	41,067	149

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud DPE-MINSA

Tabla 9. Se presentan de forma resumida los brotes ubicados por estratos y en los períodos de estudio, observándose que el estrato III con un total de 40,448 casos y 88 brotes a lo largo del período de estudio fue el estrato que más carga de la enfermedad aportó al país, ver detalles anexo 12 tablas 12 a 29 y figuras 12 a 31 donde se muestran las variables abordadas en este estudio de cada SILAIS.

Brotos identificados 2013 a 2018 SILAIS con estratos I, II y III

Se identificaron tres SILAIS (Masaya, Granada y Madriz) con municipios en estratos I, diez SILAIS (Chinandega, Jinotega, Managua, León, Matagalpa, Nueva Segovia, Estelí, Río San

Juan, Zelaya Central y Boaco), con municipios en estrato II y tres SILAIS (Bilwi, Las Minas y la RACCS) con municipios en estrato III.

Brotos identificados 2019-2020 SILAIS con estratos 1 al 5

Se identificaron brotes en cuatro SILAIS (Jinotega, Rio San Juan, Matagalpa y Chinandega) con municipios en estrato 3 y tres SILAIS (Bilwi. Las minas y RAACS) con municipios en estratos 4 y 5

Resultados objetivo 3: Generar línea base de los genotipos encontrados en *P. falciparum* y *P. vivax* a partir de resultados de estudios moleculares y vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos realizados en Nicaragua durante 2013 a 2020.

En Nicaragua dentro de los estudios de *P. falciparum* están los de la eficacia a los antipalúdicos que reporta OPS como parte de la rutina de la vigilancia a la CQ, PQ y SP para Centroamérica, en el caso de *P. vivax* los estudios se han estado realizando para la detección de cepas resistentes a estos medicamentos, la dinámica del parásito y los vectores transmisores.

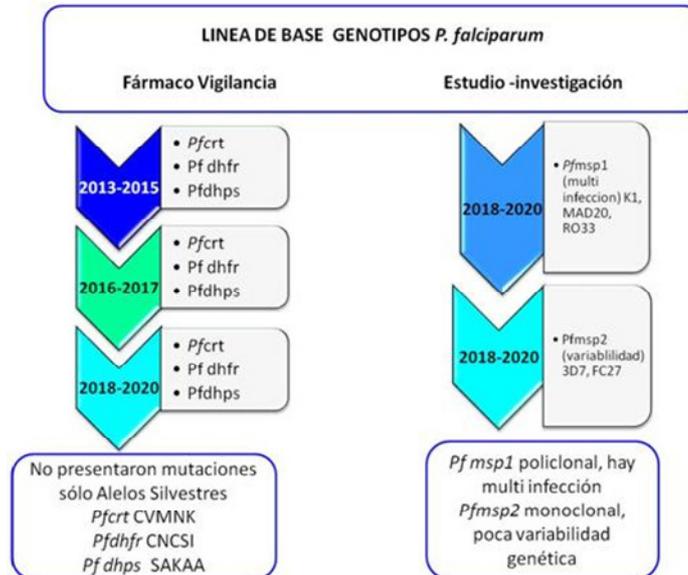
1. Línea de base *P. falciparum*

Se han evaluado resultados de marcadores moleculares *pfcr1*, *pfdhfrpfdhps*, que OMS OPS y CDC han recomendado para vigilar en la región la presencia de genes de resistencias a CQ, SP, así como marcadores *pfmsp1*, *pfmsp2* y *pfmdr1*, con el fin de investigar variaciones genéticas que identifiquen mutaciones y que apoyen como nuevas herramientas moleculares para vigilar la multidrogo resistencia, genes que puedan alterar la detección del plasmodio como las pruebas rápidas y que puedan apoyar en la evaluación de la diversidad genética del plasmodio.

Se han elegido sitios centinela, donde están vigilando los parásitos del paludismo en zonas donde esta es endémica, con el objetivo de detectar alternaciones genéticas en los plasmodios principalmente en el *P. falciparum*, alteración que pueden hacer que estos parásitos desarrollen resistencia a CQ y PQ, medicamentos de primera línea contra el paludismo.

Figura 11

Línea de base estudios genético P. falciparum



Fuente: Publicaciones de estudios moleculares de plasmodios, Nicaragua

En la figura 13 se muestra un resumen de los distintos marcadores moleculares que se han estudiado en el país durante el período de estudio 2013-2020.

Evaluación de los genes *pfcr*t, *pf dhfr* y *pf dhps* para la vigilancia a los antimaláricos CQ, PQ y SP.

En los años 2013 y 2015 se realizó un estudio para evaluar los genes *pfcr*t, *pf dhfr* y *pf dhps*, los que son usados como marcadores en la detección de alelos de resistencia a los antipalúdicos CQ, PQ y PS, en 156 muestras de *P. falciparum* procedentes de sitios centinelas de los SILAIS Bilwi, Las Minas y Chinandega que correspondían por año: 44 a 2013, 59 a 2014 y 53 a 2015. Por SILAIS y sitios centinela: SILAIS Bilwi, Waspán (34), Puerto Cabezas (8) y Alamikamba (6), del SILAIS Las Minas: Siuna (17), Rosita (79) y Bonanza (45) y del SILAIS Chinandega: El viejo (8) y Chichigalpa (1), se identificaron en todas las muestras sólo alelos silvestres sensibles a CQ, PQ y PS, como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10*Genes pfcrt, pfdhfr y pfdhps en muestras de la RACCN y Chinandega 2016-2015*

Gen y posición	Alelos	SILAIS			Total No (%)
		Bilwi No (%)	Las Minas No (%)	Chinandega No (%)	
<i>Pfcrt</i> (CQ resistencia)	CVMNK	48 (100)	99 (100)	9 (100)	156 (100%)
(72, 73, 74, 75, 76)	CVIET	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0%)
<i>Pfdhfr</i> (pyrimethamine resistencia)	CNCSI	48 (100)	99 (100)	9 (100)	156 (100%)
(50, 51, 59, 108, 164)	CNCNI / CIRNI	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0%)
<i>Pfdhps</i> (sulphadoxine resistencia)	SAKAA	48 (100)	99 (100)	9 (100)	156 (100%)
(436, 437, 540, 581, 613)	SGKAA	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0%)

Fuente: Ministerio de Salud, CNDR-Dpto. Malaria 2014 y laboratorios CDC resultados de Vigilancia a los antimaláricos

En la tabla 10 se presentan los resultados de los marcadores usados para la vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos CQ, PQ y SP, en azul los alelos resistentes ([CVIET](#), [CNCNI](#), [CIRNI](#), [SGKAA](#)) y sin color los genes silvestres (CVMNK, CNCSI, SAKAA).

Otro estudio se realizó en el país para evaluar los genes *pfcrt*, *pfdhfr* y *pfdhps*, durante los años 2016 y 2017, como parte de la vigilancia a los antipalúdicos CQ, PQ y SP en 140 muestras hemáticas en papel filtro de pacientes con *P. falciparum* confirmada por microscopia, procedentes de sitios centinelas de los SILAIS Bilwi (Puerto Cabezas, Waspán y Prinzapolka) y el SILAIS Las Minas (Bonanza, Rosita y Siuna), en el informe de resultado enviado por el laboratorio de referencia reportó que sólo 68 muestras resultaron aptas para los análisis moleculares y todas las muestras presentaron genes silvestres, resultaron sensibles a los antipalúdicos evaluados, con estos resultados el país continuó manteniendo el esquema que la Normativa 114 orienta para el tratamiento del paludismo.

Los informes emitidos por el laboratorio de referencia certifican que las muestras hemáticas de Nicaragua evaluadas durante 2013-2020, para el análisis de los genes *pfcrt*, *pfdhfr* y *Pfdhps* amplificaron únicamente alelos silvestres, por lo que el país ha continuado utilizando el mismo esquema de tratamiento.

Un estudio publicado por Hiasindh y colaboradores en la India en 2016 observaron que el uso combinado de los marcadores moleculares *pfcr1*, *pfdhfr* y *pfdhps* son una poderosa herramienta para evaluar la resistencia a los antipalúdicos en las cepas de *P. falciparum*, pudiendo conducir a estudios más profundos sobre estas mutaciones.

Sin embargo, se tienen antecedentes de los resultados de un estudio realizado por Sridaran y colaboradores en 2014 con muestras del 2005 y 2006 (ver anexo 12 tabla 31) y siempre en el marco de la vigilancia de la resistencia a CQ, PQ y SP en *P. falciparum*, donde se detectaron 3 muestras con alelos mutantes para CQ y dos estas tres muestras presentaron, además, alelos mutantes para SP y PQ, sin que se reportara resistencia al tratamiento.

Morton y colaboradores en 2016 publicaron un estudio realizado con muestras procedentes de Haití, al evaluar los marcadores *pfcr1*, *pfdhfr* y *pfdhps* pudieron detectar en una de las muestras que analizaron que presentó mutaciones para estos tres marcadores, el resto de muestras resultó sensible a CQ, por lo que concluyeron que estos marcadores son una poderosa herramienta en la vigilancia a los antipalúdicos, pero el hallazgo debía ser más evaluado.

Resultados reportados en un estudio realizado por Antony, *et al* 2016 en 60 muestras procedentes de dos regiones de la India, expresan que la resistencia en estaba muy ligada a alelos específicos, planteando que cuando se amplifican otros alelos en algunas cepas pueden hacer más competente una cepa de plasmodio, pero que se necesitan más estudios moleculares para reforzar este aspecto.

Evaluaciones de los genes *pfcr1* y *pfmdr1* en la vigilancia de la CQ

En un estudio realizado por Fontecha y colaboradores en 2011 con muestras procedentes de Nicaragua y Honduras, con el objetivo de verificar la utilidad de otro marcador para la detección de sitios de mutación asociadas a la multidrogo resistencia del *P. falciparum* (*pfmdr1*) y buscar genes de resistencia a la CQ (86Y *pfmdr1*), como una herramienta de apoyo en la discusión de cambios en el abordaje terapéutico esto se realizó en el marco de fármaco vigilancia con el marcador *pfcr1* que tienen los países centroamericanos, en la que se detectan con el gen *pfcr1* sitios de mutación que confieren resistencia a la CQ (76T *pfcr1*), el gen *pfmdr1*, no lo han

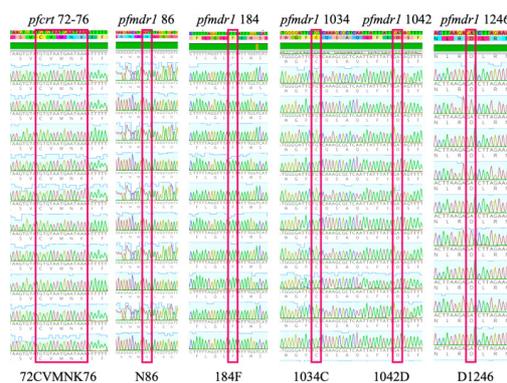
establecido como parte de la vigilancia porque muchos estudios lo presentan como no tan asociado a la resistencia por sí sólo, pero el propósito del estudio fue evaluar si el uso de ambos genes ayudaría a reforzar los estudios de la vigilancia de la resistencia a la CQ del *P. falciparum*

Se evaluaron estos genes *pfert* y *pfmdr1* en 205 muestras hemáticas en papel filtro proveniente de los sitios centinelas de cuatro municipios de Honduras y cinco de Nicaragua, donde se realiza la vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos, muestras hemáticas en papel filtro de casos autóctonos 95 procedentes de Honduras y 110 de Nicaragua, 201 confirmada como *P. falciparum* y cuatro identificadas como mixtas a través del diagnóstico microscópico, correspondiendo siete muestras del 2018, 44 del 2019 y 113 del 2020 además se analizaron 41 muestras del 2021

Sólo 55 muestras resultaron aptas para los análisis moleculares de las 205, 44 eran de Honduras y 11 de Nicaragua, en ninguna muestra encontraron mutaciones en las secuencias 72-76 del gen *pfert* o resistencia a la CQ, ni la mutación 86Y *pfmdr1*, dando la evidencia a estos países para continuar con el tratamiento de primera línea del paludismo no complicado. Además, se consideró seguir evaluando este gen *pfmdr1* en otros grupos de muestras para aclarar su utilidad

Figura12

Amplificación de fragmentos de genes *pfert* y *pfmdr1* 2018-2020



Fuente: Fontecha et al 2021 Mal. Journal

Figura 16 se muestran los resultados de la amplificación de los genes *pfert* y *pfmdr1*, para evaluar su utilidad con la resistencia a la Cloroquina en las muestras de Honduras y Nicaragua.

Todas las muestras amplificaron para el fragmento del gen *pfprt* en los codones 72–76 las que mostraron un haplotipo CVMNK de tipo silvestre, Para el gen *pfmdr1*, las muestras presentaron el genotipo NFCDD en las posiciones N86 a D1246 asociadas al tipo salvaje o silvestre, lo que apoya lo encontrado con el marcador *pfprt*.

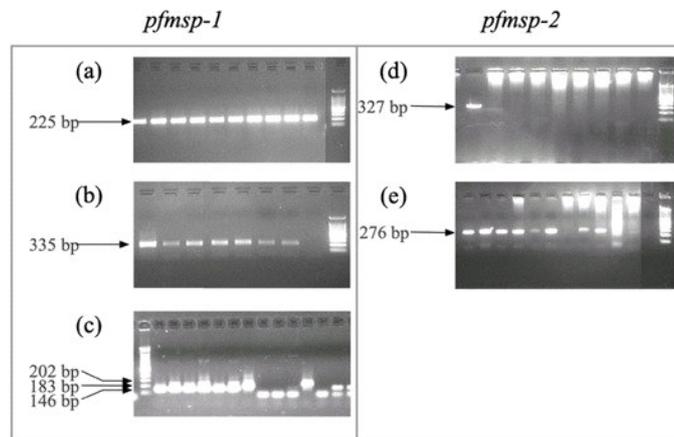
Evaluación de los genes *msp1* y *msp2* en *P. falciparum*,

Fontecha y colaboradores en un estudio realizado con 160 muestras obtenidas de la vigilancia a los antipalúdicos de los años 2018 a 2020 procedentes de Honduras; Puerto Lempira y Ramón Velleda Morales, las de Nicaragua; Puerto Cabezas, Bonanza, Rosita y Siuna con la que se evaluó subfamilias alélicas de *pfmsp1* (K1, RO33 Y MSF 20) y *pfmsp2* (FC27 y 3d7) para identifica infección múltiple y diversidad genética.

En la que se encontró que para *msp1* 92% muestras amplificaron para al menos uno de los tres alelos, para el gen *msp2* el 92.7% de las muestras amplificaron para 3D7 y únicamente el 207% para FC27, para *msp1* la mayoría de las infecciones fueron policlonales, es decir que amplificaron para dos o más alelos, la mayoría de las muestras amplificó para un alelo el que más amplificó fue K1, seguida de MAD20, finalizando con RO33, para cuando amplificaron para dos alelos, el más frecuente fue K1 y RO33y sólo cinco muestras amplificaron para los tres alelos, para *msp2* no se detectaron infecciones policlonales, por lo que concluyeron que no había una gran diversidad en los parásitos que causaron las infecciones ver figura 17.

Figura 13

Amplificación de las subfamilias alélicas *pfmsp1* y *pfmsp2*



Fuente: Pinto *et al* Rev. Pathogens 2021, Vol. 10 N° 11

Nota: (a) K1 (235pb), (b) RO33 (335pb), (c) MAD20 (146pb), (d) FC27 (327pb), (e) 3D7 (276pb)

En la figura 17 se muestran los resultados de la evaluación los genes *mssl* (K1, R033 y MAD 20) y *mss2* (FC27 y 3D7) en muestras de *P. falciparum* para evaluar la diversidad genética a través de genes polimórficos que codifican para proteínas de la superficie del merozoíto.

En un estudio no publicado realizado por el CNDR-MINSA junto al CDC en 2012 con muestras colectadas para la fármaco vigilancia en los años 2011 y 2012, procedente de zonas endémicas y con muestras de seguimiento (D0 y D3), evidenciaron infección múltiple con el gen *pfmsp1*, no encontraron variación entre las muestras ni en las de seguimientos con el gen *pfmsp2*, por lo que se asumió que eran infecciones producida por un mismo parásito, la mayoría de las muestras eran monoclonales, sólo amplificó una banda para el gen *pfglurp*.

El estudio realizado por Morton y colaboradores 2016 usaron los genes *pfmsp1* y *pfmsp2* para caracterizar la estructura poblacional del parásito y no encontraron evidencia de que se trataran de cepas importada, sino de poblaciones establecidas o residuales, las que podían presentar confirmar una prevalencia baja o inexistentes de resistencia a la CQ.

Barrera y colaboradores 2010 evaluaron los genes *msp1*, *msp2* y *glur1* en 81 muestras con diagnóstico de *P. falciparum* no complicado procedentes de Colombia, encontraron que las evaluaciones de las cepas con estos genes da mucha información, el gen *msp1* evidenció que las personas involucradas en el estudio, habían tenido más de una infección, para el gen *msp2* obtuvieron muchas familias de genotipos lo que les hizo pensar en una gran diversidad genética, en cuanto al gen *glurp*, pudieron evidenciar y diferenciar el fracaso terapéutico de las nuevas infecciones.

Estudios publicado por Patgiri y colaboradores en la india en 2019 y por Mwingira y colaboradores en 2011, con muestras de cinco repúblicas de África Subsahariana (Malawi, Tanzania, Uganda, Burkina Faso y Santo Tomé) países con diferentes endemias, donde monitorearon la variabilidad de los parásitos de *P. falciparum* con los genes *msp1*, *msp2* y *glurp*, evidenciando la circulación de una alta variabilidad genéticas de las cepas de *P. falciparum*, además la india encontró cepas resistentes y pudo con el uso de los genes *msp2* y *glurp* evidenciar los fracasos terapéuticos por lo que recomendaron usar para ver si había alguna alteración de la diversidad en las cepas nativas.

2. Línea de base de *P. vivax*, estudios moleculares

Antecedente de estudios

En Nicaragua el *P. vivax* es el plasmodio que más es reportado causando paludismo, más del 74% de los casos son causados por esta especie, los estudios que se han desarrollado en el país con este plasmodio han sido para buscar resistencia a medicamentos, estudios de proteínas del parásito para conocer sus variantes y los sub tipos, evaluar la susceptibilidad de la infección del vector muchas realizadas en muestras del 2005 al 2012, donde se ha evaluado la estructura genética del *P. vivax*, la proteína del CSP, la susceptibilidad del vector (variantes), se ha evaluado el polimorfismo del gen *pvm-dr-1* para buscar resistencia a la CQ incluyendo en estos estudios muestras de brotes y además se ha evaluado la *pvdhfr* para detectar genes de resistencia a la PQ ver detalles en anexo 13 tablas 33 a 36.

Se tienen antecedentes de estudios realizados en cooperación con el INSP de Tapachula, Chiapas, México y el CNDR-MINSA para evaluar genes del *P. vivax* que pudieran estar involucrados en la de resistencia, variabilidad y la transmisibilidad, presentamos un resumen de estos, para detalles de los resultados ver anexo 12 (tablas 20-35).

Proteína del circumsporozoíto CSP

González-Cerón y colaboradores en 2013 realizaron un estudio para evaluar la dinámica evolutiva del *P. vivax* a través de la CSP, con muestras de Nicaragua (2006-2007), en la región repetitiva central en los dominios conservados RI y RII, para los fenotipos VK210 y VK247, encontrando sólo la variante VK210 en las muestras de Nicaragua.

Gen *Pvmdr1* multidrogo resistencia

Los estudios realizados por González-Cerón y colaboradores en 2017 para evaluar el gen *pvmdr 1* generaron datos que plantean cambios en los haplotipos 976F y/o 1076L, estas mutaciones podrían ser el resultado de una diversificación reciente y los del haplotipo 1076L del noroeste de Nicaragua parecieran ser producto de un cambio evolutivo, no encontraron ninguna relación de esta mutación y la resistencia a CQ, por lo que la plantean como una deriva genética.

Persaei y colaboradores en 2018 al usar este gen para evaluar la resistencia en muestras de Irán la presentan como una valiosa herramienta para el monitoreo de la resistencia en pacientes con fracaso terapéuticos expresando la mutación en el codón 1076L.

Evaluación de *pvdhfr* búsqueda de resistencia del *P. vivax*

Se tienen pocos reportes en Centroamérica de evaluaciones para mutaciones asociadas a la resistencia de la Pirimetamina en el dihidrofolato reductasa de *P. vivax* (*pvdhfr*), este gen ha sido usado para evaluar la resistencia a la Pirimetamina en *P. falciparum* con mucho éxito.

Un estudio publicado por González-Cerón donde se evaluó la resistencia a la Pirimetamina usando la *pvdhfr* en muestras 2000 a 2011 procedentes de Nicaragua y México, resultados que fueron comparados con los publicados por cuatro países de América del Sur,

quienes habían encontrado mutaciones con este marcador, todas las muestras de Nicaragua y México no se detectaron mutaciones asociadas a la resistencia a la Pirimetamina.

Dos estudios donde se evalúa el marcador *pvdhfr* en *P. vivax* uno publicado por Saralamba y colaboradores en 2016 con muestras procedentes de tres países Lao, India y Colombia y el otro publicado por Heidari y Keshavarz en 2021 con muestra de Irán, encontraron sustitución de amino ácidos que producía resistencia del *P. vivax* a la SP lo consideraron una herramienta útil y buen marcador para identificar las mutaciones y para la vigilancia de este plasmodio.

Evaluación de la estructura genética del *P. vivax* a través del gen *pvmSP-142*

Se realizó un estudio en 119 muestras hemáticas de pacientes infectados con *P. vivax* de 2012 y 2013 de las que 92 resultaron aptas para los análisis moleculares, procedentes de los sitios centinelas, 85 muestras de la RACCN, Las Minas municipios Siuna, Rosita y Bonanza, Waspán, Puerto Cabezas, Prinzapolka, y 7 del Pacífico, Chinandega (Chichigalpa, El Viejo), para investigar la estructura genética de la proteína 42 de la superficie del merozoíto de *P. vivax* (*PvmSP142*),

Se detectaron 59 polimorfismos del gen *PvmSP142*, 50 no sinónimos y 9 sinónimos, en los subfragmento *PvmSP133* en los nucleótidos 1384-2080 y en el subfragmento *PvmSP119* en los nucleótidos 2081-2365, la red de haplotipos reveló cinco linajes, dos eran muy frecuentes en Nicaragua y estaban estrechamente relacionados con los parásitos americanos, en este grupo de parásitos no se encontraron genotipos mezclados, lo que sugiere, según los investigadores, que el *P. vivax* presenta una población diferenciada con una moderada diversidad genética.

Tabla 11*Diversidad genética del pvmsp-1 de Nicaragua y otros sitios geográficos*

PAIS	N	Índices de diversidad			Recombinación Rm	Selección	
		H	π	θ		$dN-dS$	P^*
NIC	92	8	0.020	0.013	11	0.779	0.426
MEX	35	8	0.018	0.014	9	1.275	0.205
BRZ	11	8	0.023	0.020	10	0.972	0.333
SK	196	10	0.017	0.009	4	4.087	0
CAM	27	22	0.023	0.016	11	2.251	0.026
IND-BNG	35	30	0.024	0.017	14	1.931	0.056
SLK	106	47	0.024	0.014	23	1.523	0.130
THL	93	43	0.023	0.012	12	2.155	0.033
TUR	30	3	0.007	0.007	0	0.403	0.688
SNG	50	27	0.019	0.022	12	2.638	0.008
MYN	28	26	0.024	0.017	13	2.218	0.028
Total	702	188	0.025	0.019	24	2.061	0.041

*IC índice de confianza 95%, N numero de aislados, H numero de haplotipos

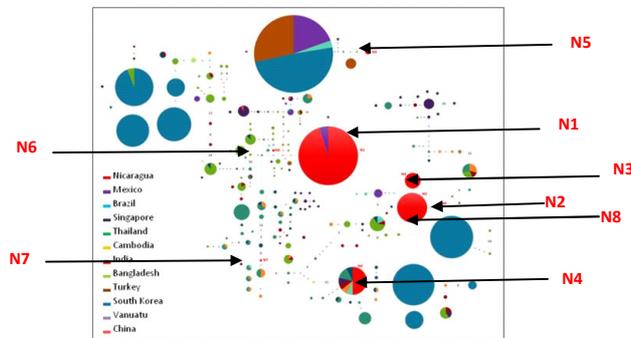
Fuente: Gutiérrez S. *et al* 2015

Tabla 11. Resultado de 92 muestras de pacientes con *P. vivax* procedentes de Nicaragua, en las que se amplificó el marcador *pvmsp-1*, comparadas con otras secuencias homólogas otros países en fase de control con secuencias recuperadas del GenBank.

Se obtuvieron resolución de ocho haplotipos de los que seis son exclusivos de Nicaragua, en la tabla se puede apreciar gran diversidad de nucleótidos ($\pi=0.020$) en la mayoría de los países incluyendo Nicaragua, los eventos de recombinación mínimos ($Rm=11$) y los $dN-dS$ obtenidos fueron similares a los de otros países en fase de control.

Figura 14

Red de haplotipos de pvmsp1₄₂



Fuente: Gutiérrez S. *et al* 2015

Figura 18. Se observa la red de haplotipos resultados de la evaluación del gen *pvmsp-1₄₂* en las muestras de Nicaragua y los diferentes países.

Los círculos corresponden a un haplotipo y los países son indicados en colores, las líneas conectan los haplotipos, para Nicaragua los haplotipos se muestran en color rojo del N1 al N8, En la reconstrucción de la genealogía reveló cinco linajes específicos únicamente para Nicaragua, los otros compartían haplotipos con muchos países de diferentes regiones geográficas mostrando una población con moderada diversidad genética.

Hallazgo muestras hemáticas en papel filtro, no aptas para análisis moleculares.

Se encontró una preocupante situación declarada en las publicaciones de investigación de estudios moleculares en los plasmodios y de la vigilancia de los antipalúdicos en Nicaragua, donde se reporta que un porcentaje considerable de muestras hemáticas en papel filtro no fueron aptas para las evaluaciones moleculares. Se realizaron talleres dirigidos a toda la red de microscopistas y responsables de laboratorio de todos los SILAIS del país, bajo

El taller "Calidad de la toma de papel filtro" fue dirigido a los microscopistas responsables de los 19 SILAIS y otros especialistas a cargo de la toma de muestras hemáticas en papel filtro para la fármaco-vigilancia en *P. falciparum*, con el objetivo de mejorar la calidad de estas muestras para futuras investigaciones, estos microscopistas en su mayoría Bíoanalista y

técnicos de laboratorio, incluyéndose a especialistas de laboratorios privados de SILAIS donde el paludismo es endémico, realizado con apoyo de OPS y del Ministerio de Salud, el entrenamiento consistió en preparación del papel filtro siguiendo los indicadores de calidad para los análisis moleculares, se realizaron dos capacitaciones, la primera se impartió en la lengua nativa del lugar debido a que no hablan español, en los SILAIS Bilwi con los municipios Puerto Cabeza, Prinzapolka y Waspán, SILAIS Las Minas (Bonanza, Siuna y Rosita) y SILAIS RACCS, la segunda se impartió en español y se involucraron a todos los SILAIS con municipios en estratos I y II, se observó una mejoría en la calidad del papel filtro según reporte de vigilancia.

Figura 15

Capacitación de Microscopistas en preparación de papel filtro



Fuente: Rodríguez B. 2020 Rev. La Farem.

Figura 19. Microscopistas de todos los SILAIS del país, capacitados en la preparación y toma de muestras hemáticas en papel filtro, bajo procedimientos estandarizados (POEs).

En una publicación realizada por Zurita y Rebollo en 2006 plantean como los estudios genéticos alcanzaron mayor versatilidad cuando las muestras hemáticas pudieron ser puestas y extraída de papel filtro, la obtención de material genético a través de este mecanismo, ha dado una gran ventaja para realizar estudios moleculares a la hora de investigar una enfermedad, implementándose con éxito las técnicas de amplificación de segmentos del ADN a través de la técnica de PCR, resultando una forma fácil y rápida de transportar y almacenar muestras de sangre para evaluaciones posteriores, sin embargo su manejo exige mantener estándares de

calidad para obtener buenos resultados a la hora de aislar este material genético, factor a tomar en cuenta para la validez de estos.

Además, estos investigadores plantean que con las muestras hemáticas en papel filtro se pueden realizar estudios moleculares o vigilancia, así como diagnóstico donde el acceso es difícil, debido a que estas muestras no necesitan ser transportadas en red fría, ocupan poco espacio en el almacenamiento como lo requieren los tubos con sangre completa y pueden ser usadas para evaluaciones moleculares de interés en salud pública y epidemiológicos posteriores.

En un estudio publicado por Venkatachalam y colaboradores en 2013 plantearon que el uso de papel filtro para transportar muestras hemáticas para estudios en el campo de la investigación del paludismo ha facilitado la obtención de resultados más robustos de los parásitos que están circulando o causando brotes, así como evidenciar la presencia de parásitos que puedan presentar genes de resistencia a los antipalúdicos, genes borrados como el caso de las PDR y si esta muestra es almacenada en condiciones adecuadas pueden ser usadas años después en estudios posteriores de interés para los países.

IX. ANALISIS DE RESULTADOS

El presente estudio: Epidemiología molecular de los brotes causados por *P. falciparum* y *P. vivax* en Nicaragua de 2013 a 2020, se abordó desde la perspectiva epidemiológica y molecular se evaluaron los datos con las que se plantearon situaciones epidemiológicas y climáticas para evaluar si estos, de acuerdo a la literatura, pudieron haber creado condiciones o tener alguna conexión en el incremento de casos y aparición de brotes, de forma que se pueda dar una posible explicación a los brotes, datos con la que se describió la dinámica de los brotes de ocho años ocurridos en el país, además se realizó una revisión de los estudios moleculares para generar una línea de base de los estudios realizados de la genética de los parásitos, con la finalidad de incursionar en posibles factores genéticos encontrados que puedan servir de guía para investigaciones más puntuales y guías para la vigilancia de brotes en el país.

Nicaragua logró una marcada reducción de los casos de paludismo en 2011, el incremento de estos casos ocurrido 2015, presentó un escenario donde la tendencia a la reducción se deterioró, aún con el actuar del MINSA y el apoyo de organismo internacionales, fue difícil mantener la fase de control en la que se encontraba el país y hasta el momento de este estudio continuó siendo un importante problema de salud pública.

En este estudio, se analizaron un total de 75,201 casos confirmados por microscopia de paludismos, 16 SILAIS reportaron casos de paludismo de los 19 SILAIS del país. Después de haber analizado los datos del estudio se encontró que el SILAIS Bilwi presentó la mayor cantidad de casos autóctonos durante el período de estudio.

Análisis de resultados por objetivos

1. Características epidemiológicas de los brotes ocurridos de 2013 a 2020

Se caracterizó epidemiológicamente el SILAIS que registró más casos autóctonos de paludismo confirmados por microscopia con infección por *P. vivax* y *P. falciparum*. Al evaluar estos resultados se observó que el 98.6% de los casos estaban concentrados en tres SILAIS; Bilwi, La RACCS y Las Minas, el SILAIS Bilwi registró el 87% casos del país, los otros dos SILAIS registraron el 11.6% y 13 SILAIS del país registraron 1.4% en conjunto.

El SILAIS Bilwi, además de aportar la mayor de la enfermedad al país, presentó brotes con más casos durante el período de estudio, presentó una composición social multiétnica donde la etnia Miskitu es la que tiene mayor presencia seguida por la Mestiza, la Creola y finalmente por la etnia Sumu-Mayagna, predominando el Miskitu como lengua seguido del español, el inglés criollo, twahka y panamahka, que es el menos hablado y es más usado por la etnia Mayagna, según los registros de la alcaldía y datos del INIDE comprendidos en este período

Ubicación, clima y fenómenos naturales del SILAIS Bilwi y su relación con la enfermedad

En este estudio se pudo observar que este SILAIS registraba un incremento de los casos en los meses de junio a diciembre, coincidiendo con los períodos de lluvia, con una temperatura promedio de 27°C, sin embargo, como es una zona propensa a tormentas tropicales y huracanes, debido a estar ubicada en una área de trópico húmedo, cuatro huracanes y una tormenta fueron registrados durante este período, pudieron crear las condiciones para que los casos de paludismos se presentaran en otros meses del año.

El informe elaborado por el País describe a Bilwi como una zona con clima monzónico con períodos lluviosos constantes de hasta 10 meses de precipitación y temperaturas templadas, el BID en un estudio de riesgo ambiental en 2013, ubicó a Nicaragua como el segundo país a nivel mundial más vulnerable a fenómenos naturales.

Estudios realizados por Lorenzo Cáceres y colaboradores en la región fronteriza de Panamá y Costa Rica en 2008 y 2010, Yendri Sánchez y Horacio Chamizo en Costa Rica del 2005 al 2007, Blanco Bernárdez en 2006 en Honduras y Mara Muñoz en Paraguay de 2002 a 2006, encontraron una fuerte relación de la aparición de casos y brotes con los factores socio ambientales, geomorfológicos y climático, debido a la aparición de nuevos criaderos y el aumento de la población de vectores, la exposición de personas a zonas de inundación y la probabilidad de enfermar de paludismo observando la mayor incidencia en los meses de junio a septiembre.

En cuanto al acceso

El SILAIS Bilwi está ubicado en zonas con bosques y gran cantidad de ríos, muchos de los más caudalosos del país, donde muchas comunidades están asentadas dificultando el acceso a estas, aunque el MINSA ha tratado de ir cerrando estas brechas, continúan los problemas de acceso, estas condiciones han hecho que al personal del MINSA se les dificulte el acceso a algunas áreas para el control de vectores, además muchos de los criaderos son muy grandes para controlar y debido a esto es que se mantienen como focos activos, el estudio realizados por Canales Salinas en 2015 en Nicaragua identificó para la identificación de los departamentos con problemas de salud, a través de indicadores sintéticos encontraron que Bilwi era uno de los departamentos con mayor índice de necesidades de salud, mucho debido al acceso, lo que dificulta que se les brinde los servicios de salud completos a la población.

En cuanto a la migración

El SILAIS Bilwi presenta movimientos migratorios continuos, debido a que parte de su economía se basa en la pesca, lo que hace que muchas personas de otras zonas acudan por trabajo o se desplacen para comprar o para vender productos, exponiéndolos a contraer el paludismo o llevarlo a otras zonas del país, el paso migratorio de las etnias y personas que habitan la zona en las fronteras entre Honduras y Nicaragua, es otro aspecto usual en este SILAIS, ya que ellos no ven fronteras entre estos países, mantienen una actividad económica agitada y muchos se desplazan hacia otros lugares del país, causa que pudiera permitir que el paludismo sea propagado en áreas donde el paludismo no es endémico o donde no habían casos, aunado a la amplia distribución del vector, si bien este estudio no profundizó en este punto, es uno de los factores a tomar en cuenta en la propagación de la enfermedad.

Estudio realizados por Pascua-Santamaría y colaboradores en España 2022, por Salas en Colombia de 2012-2018 y por Cáceres realizado en Costa Rica y Panamá en 2008 y 2010, encontraron que las migraciones a zonas endémicas tanto para actividades económicas como tránsito, era un factor de riesgo para adquirir la enfermedad y además es uno de los mecanismos de transportar la enfermedad de un lugar de mayor incidencia a zonas de baja endemia o donde no habían casos y si la zona presentaba las condiciones ambientales y el vector podría potenciar la trasmisión y la ocurrencia de los brotes.

En cuanto a la edad y el sexo más afectado por el paludismo.

En este estudio los menores de 50 años fueron los más afectados, los grupos de edades de 11 a 30 registraron el mayor número de casos y la edad promedio fue de 24 años, el sexo femenino fue el que registró más casos, pero durante el período 2013 a 2015 se registraron más casos masculino, en este estudio no se pudo evaluar el aspecto de la actividad económica para medir si el sexo aumenta o disminuye por la exposición debida a la labor, porque el dato laboral no fue completamente registrado en la matriz del MINSA durante el período de estudio.

Resultados de estudios realizados, uno por Cardona-Arias y colaboradores en Panamá durante el 2019, en una revisión sistemática de las determinantes sociales del paludismo de 1980 a 2018 y el otro realizado por Oliveira-Ferreira y colaboradores en Brasil en una revisión sistemática de 1960 a 2009, se corresponden con los resultados encontrados en este estudio en cuanto a la edad y el sexo, ellos reportaron que la edad laboral activa era la más afectada, la edad promedio fue de 28 años, no encontraron relación significativa entre el sexo y contraer la enfermedad pero encontraron una relación directa con padecer la enfermedad y la cercanía de las personas con los criaderos del vector transmisor.

Otros resultados similares son los reportados por Sánchez y colaboradores en 2012 al evaluar las determinantes sociales del paludismo en Costa Rica y por Zhu y colaboradores en 2022 en un análisis epidemiológico del paludismo importado en Shanghái de personas que habían viajado a África en 2020 y 2021, encontraron que los menores de 50 años fueron los más afectados, siendo 38 años la edad promedio, no encontraron ninguna relación entre el sexo y presentar la enfermedad, la actividad laboral, trabajadores del campo, fue la que más casos presentó, clasificando a este como un factor de riesgo para padecer la enfermedad.

Dos investigaciones realizadas en Venezuela en Sucre, un estudio epidemiológico en 2009 y un estudio descriptivo para evaluar las pruebas rápidas en 2019, encontraron que las edades de 15 a 64 años fueron las más afectadas por la enfermedad, la edad promedio fue de 28 años, no encontraron relación entre padecer la enfermedad y el sexo, determinaron que la actividad laboral y su cercanía a las zonas endémicas tenía una relación directa con presentar la enfermedad.

En cuanto a la distribución de los casos de paludismo por sector (urbano / rural).

Puerto Cabezas cabecera departamental del SILAIS Bilwi, municipio donde se concentra la mayor cantidad de personas del SILAIS, presenta varias vías de comunicación a otros departamentos o áreas del país (aeropuerto y puerto), fue el municipio que presentó el mayor número de casos, en los primeros tres años del estudio registró similar número de casos entre urbanos y rurales, pero registró un drástico incremento de los casos urbanos de 529 a 43,890 en el período 2016 a 2020, período en los que se registraron cuatro huracanes, los municipios Prinzapolka y Waspán registraron más casos en los sectores rurales y continuaron registrando más casos en este sector durante todo el período de estudio y Prinzapolka se mantuvo como el municipio que menos casos reportó.

Dos estudios realizados en Colombia uno por Campuzano y Blair en 2010 y otro por Molineros y colaboradores en 2014, ellos evidenciaron que la unión de factores ambientales, socioeconómicos, proliferación del vector y alta circulación de personas pueden propiciar el aumento de los casos en las zonas urbanas, además concluyeron que hay un paludismo urbano, que aun que las migraciones tiene peso en la trasmisión, el paludismo urbano cuenta con sus propios sistemas de presión por múltiples acontecimientos de carácter social, antropológico, biológicos y ambientales que hace que eleve sus niveles de incidencia, lo que deben ser considerado para su abordaje en el control.

Otros dos estudios sobre paludismo rural uno realizado en Brasil por Nogueira y Garnelo en 2018 y otro en Colombia por Molineros Gallón en 2014, observaron que la incidencia de la malaria rural está muy relacionada a los aspectos ambientales, que favorecen la generación de criaderos, los aspectos socioeconómicos, calidad de viviendas, que puede elevar la explosión de las personas al vector y el difícil acceso a los servicios de salud, puede hacer que estas áreas se mantengan en condiciones de endemia y epidemia.

En cuanto al Plasmodio

P. vivax fue la especie de plasmodio más registrada en Bilwi con el 74.85%, seguida del *P. falciparum* con 23.46% y los casos mixtos con 1.56%, únicamente al 0.13% de los casos no se les registró la especie después de la investigación epidemiológica, durante el período de estudio.

Los resultados obtenidos con este estudio son coherentes con las cifras estadísticas planteadas en el reporte mundial de la Malaria 2019 de la OMS, en el informe de malaria en las Américas, describe que para el continente americano y para Centroamérica el principal agente causal del paludismo es *P. vivax* y es encontrado a razón aproximada del 80%.

En cuanto a los aspectos Étnicos-cultural.

La etnia Miskitu es la de mayor presencia en la zona. En este estudio se observó que la etnia Miskitu registró el 91.33% de los casos, consistente con el dato de ser la etnia con mayor presencia en la zona. En este estudio no se evaluó la relación etnia-enfermedad y el que se registraran tantos casos pudo deberse a la mayor presencia de esta en la zona y no por pertenecer a la etnia Miskitu, sin embargo, las costumbres y una cultura diferente frente a las enfermedades, puede de alguna forma potenciar la transmisión, debido a que el paludismo o rihiksia, es abordada tradicionalmente por los curanderos y la población étnica, así como la cultura que se tiene para emplear artículos como el mosquitero el que en algunas comunidades étnicas es usado como pared divisora o una red de pesca

Estudios realizados por Calzada y colaboradores en Panamá en la región indígena autónoma de Guna Yala en 2012 y otro realizado en otra comunidad indígena en Armenia, Colombia en 2012, donde analizaron brotes de paludismo, concluyeron que las comunidades indígenas tienen muchos factores que los hacen vulnerables como la pobreza, el idioma y las costumbres, asentadas por lo general en lugares propicios para el desarrollo del vector y al analizar el brote lo catalogaron como multifactorial y uno de estos factores es lo cultural y deben ser tomados en cuenta a la hora de atender estas comunidades en el control de la enfermedad.

2. Dinámica de los brotes causados por *P. vivax* y *P. falciparum* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020

En el análisis de los datos se encontraron brotes en Nicaragua desde el 2013 hasta el 2020, y estos fueron incrementando en áreas o SILAIS y en número de casos, se evaluaron 75,201 casos autóctonos los que fueron caracterizados por cada SILAIS con los criterios descritos para su identificación en este estudio, de los que resultaron 41,067 casos causando 149 brotes a largo del período de estudio.

Para conocer la dinámica de los brotes de paludismos causados por los plasmodios *P. vivax* y *P. falciparum*, se agruparon los casos por período de estudio y se aplicó la definición de brote por estratos y según criterios de inclusión en cada año por SILAIS, debido a que los conceptos de brotes están estrechamente relacionado con la estratificación que el país caracterizó en esos años, para los datos del 2013 al 2018 se utilizó la definición por estratos de brotes (I, II y III) de la norma técnica del año 2014, para abordar los casos del 2019-2020 se utilizó la definición por estratos de brotes (1,2,3,4 y 5) de la norma técnica de paludismo del años 2019 y el canal endémico donde lo ameritó según la norma técnica nicaragüense.

3. Línea base de los genotipos encontrados en *P. falciparum* y *P. vivax* a partir de resultados de estudios moleculares y vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos realizados en Nicaragua y durante 2013 a 2020.

En Nicaragua dentro de los estudios de *P. falciparum* están los de la eficacia a los antipalúdicos que reporta OPS como parte de la rutina de la vigilancia a la CQ, PQ y SP para Centroamérica, en el caso de *P. vivax* los estudios se han estado realizando para la detección de cepas resistentes a estos medicamentos, la dinámica del parásito y los vectores transmisores.

Línea de base *P. falciparum*.

Dentro de la vigilancia anual de la resistencia de *P. falciparum* a la CQ, PQ Y SP, medicamento que se ha venido usando desde 1950 para el paludismo, se han utilizados los marcadores moleculares *pfert*, *pfdhfr* y *pfdhps*, así como *pfmdr-1* para multi-drogo resistencia, este último para encontrar otros sitios que identifiquen resistencia, además, se han utilizado los marcadores *pfmsp1*, *pfmsp2*, *pfglurp*, *pfhrp2* y *pfhrp3* para evaluarla multiplicidad de la infección, la diversidad genética, diferenciar infecciones recrudescientes de nuevas y la efectividad de las pruebas de diagnóstico rápido que utilizan la HRP 2 y 3.

Evaluaciones con los marcadores *pfert*, *pfdhfr* y *pfdhps*

Los informes emitidos por el laboratorio de referencia certifican que las muestras hemáticas de Nicaragua evaluadas durante el período del estudio 2013-2020, para el análisis de

los genes *pfert*, *pfdhfr* y *Pfdhps* amplificaron únicamente alelos silvestres, por lo que el país ha continuado utilizando el mismo esquema de tratamiento.

Un estudio publicado por Hiasindh y colaboradores en la India en 2016 observaron que el uso combinado de los marcadores moleculares *pfert*, *pfdhfr* y *pfdhps* son una poderosa herramienta para evaluar la resistencia a los antimaláricos en las cepas de *P. falciparum*, pudiendo conducir a estudios más profundos sobre estas mutaciones.

Se tiene antecedentes de los resultados de un estudio realizado por Sridaran y colaboradores en 2014 con muestras del 2005 y 2006 (ver anexo 12 tabla 31) y siempre en el marco de la vigilancia de la resistencia a CQ, PQ y SP en *P. falciparum*, donde se detectaron 3 muestras con alelos mutantes para CQ y dos estas tres muestras presentaron, además, alelos mutantes para SP y PQ, sin que se reportara resistencia al tratamiento.

Morton y colaboradores en 2016 publicaron un estudio realizado con muestras procedentes de Haití, al evaluar los marcadores *pfert*, *pfdhfr* y *pfdhps* pudieron detectar en una de las muestras que analizaron que presentó mutaciones para estos tres marcadores, el resto de muestras resultó sensible a CQ, concluyendo que estos marcadores son una poderosa herramienta en la vigilancia a los antipalúdicos, pero los hallazgos deben ser explorados.

Evaluaciones con los marcadores *pfert* y *pfmdr1*

Para ampliar las alternativas de marcadores que apoyen a encontrar alelos mutantes a la CQ se evaluó el uso combinado de marcadores *pfert* y *pfmdr1*, en muestras de 2018 a 2020, no se encontró ninguna mutación, todas amplificaron únicamente alelos silvestres para ambos marcadores.

Morton y colaboradores 2016 encontraron en 108 muestras procedentes de Haití para el marcador *Pfmdr1*, que todas ellas amplificaban una mutación, la que ya había sido reportada por otros estudios, conocida como la mutación de las cepas de Haití, todos los pacientes fueron tratados con el esquema del país y resolvieron la enfermedad, por lo que recomendaron realizar más estudios sobre esta mutación.

Evaluaciones con los marcadores *pfmsp1*, *pfmsp2* y *pfglurp*

Resultados reportados por Fontecha y colaboradores en 2021 con muestras de las fronteras de Honduras y Nicaragua (2018-2021), encontraron que *pfmsp1* amplificaba para todos los alelos, evidenciando infección múltiple, típico de zonas endémicas como ha sido reportados por otros estudios y para *Pfmsp2* todas las muestras amplificaron sólo para un loci, concluyendo que eran infecciones monoclonales o con muy poca variación genética.

Un estudio no publicado realizado por el CNDR-MINSA junto al CDC en 2012 con muestras colectadas para la fármaco vigilancia en los años 2011 y 2012, procedente de zonas endémicas y con muestras de seguimiento (D0 y D3), evidenciaron infección múltiple con el gen *pfmsp1*, no encontraron variación entre las muestras ni en las de seguimientos con el gen *pfmsp2*, por lo que se asumió que eran infecciones producida por un mismo parásito, la mayoría de las muestras eran monoclonales, sólo amplificó una banda para el gen *pfglurp*.

El estudio realizado por Morton y colaboradores 2016 usaron los genes *pfmsp1* y *pfmsp2* para caracterizar la estructura poblacional del parásito y no encontraron evidencia de que se trataran de cepas importada, sino de poblaciones establecidas o residuales, las que podían presentar confirmar una prevalencia baja o inexistentes de resistencia a la CQ.

Barrera y colaboradores 2010 evaluaron los genes *mSP1*, *mSP2* y *glur1* en 81 muestras con diagnóstico de *P. falciparum* no complicado procedentes de Colombia, encontraron que las evaluaciones de las cepas con estos genes da mucha información, el gen *mSP1* evidenció que las personas involucradas en el estudio, habían tenido más de una infección, para el gen *mSP2* obtuvieron muchas familias de genotipos lo que les hizo pensar en una gran diversidad genética, en cuanto al gen *glurp*, pudieron evidenciar y diferenciar el fracaso terapéutico de las nuevas infecciones.

Estudios publicado por Patgiri y colaboradores en la india en 2019 y por Mwingira y colaboradores en 2011, con muestras de cinco repúblicas de África Subsahariana (Malawi, Tanzania, Uganda, Burkina Faso y Santo Tomé) países con diferentes endemias, donde monitorearon la variabilidad de los parásitos de *P. falciparum* con los genes *mSP1*, *mSP2* y *glurp*,

evidenciando la circulación de una alta variabilidad genéticas de las cepas de *P. falciparum*, además la india encontró cepas resistentes y pudo con el uso de los genes *msp2* y *glurp* evidenciar los fracasos terapéuticos por lo que recomendaron usar para ver si había alguna alteración de la diversidad en las cepas nativas.

Línea de base de estudios realizados en *Plasmodium vivax*

Evaluación de la estructura genética de la proteína 42 de la superficie del merozoíto *Pvmsp1₄₂* en *P. vivax*

Un estudio realizado por Gutiérrez y colaboradores en 2016 con 92 muestras procedentes de la RACCN, Las Minas y Chinandega, para analizar la estructura genética del *P. vivax* basada en el gen *pvm₁sp1₄₂* y evaluar la transmisión del paludismo, encontraron que hay una moderada diversidad genética en el gen *pvm₁sp1₄₂*, similar a lo encontrado por otros países que están en fase de control, lo que probablemente hable de una alta transmisión observaron además, una fuerte selección, mostrando una población diferenciada y micro heterogeneidad en la mayoría de la muestras, lo que expone una cepa que se ha modificado a nivel local, no por influencia extranjera y que estos genes y su rol en la transmisión estén en un punto que puedan ser identificados utilizando las herramientas adecuadas, para apoyar a los programas de intervención, según el análisis de los investigadores.

Barry y colaboradores en 2015 realizaron un estudio usando un panel de muestras procedentes de África, Asia y América latina, con el que evaluaron diferentes herramientas moleculares, una de ellas fue el gen *msp1*, para dar una explicación a la dinámica de la transmisión del *P. vivax*, ellos concluyeron que es un parásito que tiene una alta variabilidad genética, aun que el de América Latina no mostró una variabilidad más discreta, con lo que encontraron ellos evidencia que tiene mucho tiempo de estar enfermando al hombre, pudieron observar, además, que es más diverso que *P. falciparum*.

Antecedentes de estudios en *P. vivax*

Se tiene antecedentes de estudios realizados en cooperación con el INSP de Tapachula, Chiapas, México y el CNDR-MINSA para evaluar genes del *P. vivax* que pudieran estar

involucrados en la de resistencia, variabilidad y la transmisibilidad, presentamos un resumen de estos, para detalles de los resultados ver anexo 12 (tablas 20-35).

Proteína del circumsporozoíto CSP

González-Cerón y colaboradores en 2013 realizaron un estudio para evaluar la dinámica evolutiva del *P. vivax* a través de la CSP, con muestras de Nicaragua (2006-2007), en la región repetitiva central en los dominios conservados RI y RII, para los fenotipos VK210 y VK247, encontrando sólo la variante VK210 en las muestras de Nicaragua.

Gen *Pvmdr1* multidrogo resistencia

Los estudios realizados por González-Cerón y colaboradores en 2017 para evaluar el gen *pvmdr 1* generaron datos que plantean cambios en los haplotipos 976F y/o 1076L, estas mutaciones podrían ser el resultado de una diversificación reciente y los del haplotipo 1076L del noroeste de Nicaragua parecieran ser producto de un cambio evolutivo, no encontraron ninguna relación de esta mutación y la resistencia a CQ, por lo que la plantean como una deriva genética.

Persaei y colaboradores en 2018 al usar este gen para evaluar la resistencia en muestras de Irán la presentan como una valiosa herramienta para el monitoreo de la resistencia en pacientes con fracaso terapéuticos expresando la mutación en el codón 107L.

Evaluación de *pvdhfr* búsqueda de resistencia del *P. vivax*

Se tienen pocos reportes en Centroamérica de evaluaciones para mutaciones asociadas a la resistencia de la Pirimetamina en el dihidrofolato reductasa de *P. vivax* (*pvdhfr*), este gen ha sido usado para evaluar la resistencia a la Pirimetamina en *P. falciparum* con mucho éxito.

Un estudio publicado por González-Cerón donde se evaluó la resistencia a la Pirimetamina usando la *pvdhfr* en muestras 2000 a 2011 procedentes de Nicaragua y México, resultados que fueron comparados con los publicados por cuatro países de América del Sur, quienes habían encontrado mutaciones con este marcador, todas las muestras de Nicaragua y México no se detectaron mutaciones asociadas a la resistencia a la Pirimetamina.

Dos estudios donde se evalúa el marcador *pvdhfr* en *P. vivax* uno publicado por Saralamba y colaboradores en 2016 con muestras procedentes de tres países Lao, India y Colombia y el otro publicado por Heidari y Keshavarz en 2021 con muestra de Irán, encontraron sustitución de amino ácidos que producía resistencia del *P. vivax* a la SP lo consideraron una herramienta útil y buen marcador para identificar las mutaciones y para la vigilancia de este plasmodio.

Calidad de las muestras hemáticas para estudios moleculares y de vigilancia

En la revisión de los estudios moleculares que se han realizado con las muestras de Nicaragua para vigilancia se reportó un importante número de muestras hemáticas en papel filtro que no fueron aptas para estos análisis moleculares, la ejecución de dos talleres a nivel nacional sobre la calidad en la toma de este tipo de muestra, mejoró el número de muestras aptas para los siguientes análisis para los análisis moleculares de vigilancia, esta experiencia no pudo ser comparada con otros países porque los investigadores preparan su papel filtro para desarrollar las investigaciones que ellos plantean y las muestras son tomadas por ellos mismos, en el caso de Nicaragua la toma del papel filtro es realizada por los especialistas de las unidades de salud de los Sitos Centinelas de los 19 SILAIS.

X. CONCLUSIONES

Se encontraron 16 SILAIS con brotes, se identificaron las características epidemiológicas del SILAIS responsable del 87% del paludismo en el país, siendo además el que presentó brotes con mayor número de casos durante el período 2013-2020.

Las características epidemiológicas continúan teniendo un patrón similar al reportado por otras investigaciones, las condiciones ambientales son propicias para el desarrollo del vector y que la transmisión sea activa, *P. vivax* fue el causante de la mayoría de los casos, se encontró que el paludismo fue urbano y estacional, viéndose alterado en el número de casos por eventos ambientales e influenciada por los aspectos culturales se observó mayor presencia de la etnia Miskitu la que presentó el mayor registro de casos .

Se identificaron un total de 149 brotes con 41,057 casos en 16 SILAIS en todos los estratos, ubicados en la costa Atlántica, el norte y en occidente del País, tres SILAIS (Carazo, Rivas y Chontales) no presentaron brotes durante el período de estudio, a partir de 2016 se observó un mayor incremento en la transmisión, se registraron brotes y las co-infecciones, en 2019 y 2020 solo los estratos 3, 4 y 5 presentaron brotes, el SILAIS Jinotega fue el único que presentó brotes a lo largo del período de estudio, los SILAIS Rio San Juan y la RAACS fueron los únicos que reportaron brotes exclusivos de *P. falciparum*.

Se logró generar línea de base de los estudios moleculares realizados en ambos plasmodios, sirviendo esta recopilación de estudios como un basal de información para poder dirigir futuras investigaciones moleculares, se detectaron algunas alteraciones genéticas en ambos plasmodios en muestras que antecedieron a las del período de estudio, las que deben de ser evaluadas más minuciosamente para ver la correlación de estas alteraciones genéticas con el comportamiento de la enfermedad, el incremento de los casos y los brotes, para usarlas como herramienta en la vigilancia molecular del paludismo para identificar mutaciones que puedan evidenciar cambios en los plasmodios, con lo cuales se puedan establecer nuevos abordajes para el control de la enfermedad en las muestras del período de estudio no se encontró genes de resistencia y se logró mejorar la calidad en las muestras de papel filtro después de los talleres a los microscopistas.

XI. RECOMENDACIONES

Al Ministerio de Salud, CNDR, SILAIS, CIES y Universidades de Nicaragua

Promover estudios que además de los aspectos demográficos y epidemiológicos de los pacientes se incorporen los aspectos vectoriales y climáticos para poder hacer una mejor evaluación de las causales de la enfermedad y del aumento de casos, incorporando a la M10 datos ambientales (temperatura, precipitación y humedad) y de ubicación geográfica.

Incorporar la vigilancia epidemiológica molecular del *P. vivax*, parásito que hizo que el país perdiera el estatus de control de la enfermedad, con la finalidad de detectar cambios genéticos que podrían estar haciendo más competente las cepas, con lo que recomendamos hacer estudios que puedan detectar cambios en las frecuencias nucleotídicas y alélicas para establecer asociación con brotes y al aumento de los casos que obstaculicen los programas de control

Los marcadores moleculares abren una puerta de oportunidades para la búsqueda de condiciones en los parásitos que puedan alterar las medidas de control o eliminación, estas herramientas moleculares deben ser incorporadas a la vigilancia de las migraciones que podrían estar relacionada con la aparición de casos y de brotes, se recomienda por tanto incorporar estudios moleculares a estos grupos así como a los brotes, como parte de la vigilancia para el monitoreo de cepas resistentes o más competente que puedan entrar silenciosamente por esta vía.

Como el paludismo en el SILAIS Bilwi, es de índole urbano, se debe incluir instituciones que tengan que ver con el manejo de desechos, alcantarillados y aguas para evitar criaderos del vector trasmisor sin chocar con las creencias religiosas de las etnias de la zona, debido a esto se recomienda hacer abordajes de acuerdo a la cosmovisión, debido a que las zonas más endémicas predominan etnias que definen y abordan el paludismo de acuerdo a su cultura,

Continuar con los talleres de mejora de la calidad de muestra hemáticas en papel filtro periódicamente, debido a la alta rotación del personal de salud, para mantener estos estándares en las evaluaciones moleculares impartidos una vez al año por el CNDR y multiplicado por los Microscopistas y tomadores de muestras hemáticas de los SILAIS al personal de salud y nuevos recursos

XII. LIMITACIONES

En este estudio se observaron limitaciones a continuación enumeramos estas:

1. Se obtuvo matriz de datos únicamente con casos positivos confirmados por microscopia, no se contó con la totalidad de datos de casos sospechosos de paludismo, confirmados como negativos y/o confirmados con otra afección, para poder establecer la relación entre los factores de exposición y la enfermedad.
2. No se logró conseguir el presupuesto para evaluar las muestras hemáticas en papel filtro correspondiente al período de estudio que están resguardada en el CNDR para evaluarlas con técnicas moleculares y detectar genes que pudieran ser analizados en este estudio y su relación con la presencia de brotes.
3. Registro incompleto del dato, se evaluaron datos de país donde no había un registro adecuado, no se contaba con una nomenclatura homogénea entre el mismo año de registro, además se encontraba incompleto o no estaba registrado, dentro de la cual estaban muchas de las variables de este estudio.
4. No se registraron los datos ambientales (precipitación, humedad y temperatura) así como eventos extraordinarios ocurridos en los años del período de estudio en la matriz de datos del MINSA por lo que se tuvo que contar con datos generales de los SILAIS o de los Municipios en estudio proporcionado en los registros de INIDE.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- Abad, P., Azcárate, I.G., Heras, M., GrantHutchful A., Fobil, J., Pérez-Benavente S., Marín-García P., Puyet A., Díez, A. & Bautista, J.M. (2019) **La malaria oculta en inmigrantes subsaharianos es un riesgo de importación de malaria subclínica**. XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) 0474. p. 236, Recuperado de:[https://static.elsevier.es > congresos > congreso2019_eimc](https://static.elsevier.es/congresos/congreso2019_eimc) <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-409894>
- Abdallah, J.F., Okoth, S.A., Fontecha, G.A. et al. **Prevalence of pfrp2 and pfrp3 gene deletions in Puerto Lempira, Honduras**. Malar J14, 19 (2015).<https://doi.org/10.1186/s12936-014-0537-7>
- Alarcón, B.J.J., (2016) **Dinámica de las parasitemias recurrentes de Plasmodium vivax determinadas por PCR en pobladores de las comunidades de San José de Lupuna y Cahuide de la región de Loreto**. Tesis de maestría, Universidad Peruana Cayetano Heredia, escuela de postgrado Víctor Alzamora Castro. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/591>
- Alcaldía municipal de Puerto Cabezas (2012): **Primera propuesta técnica del plan municipal para el manejo integral de los residuos sólidos urbanos de Puerto Cabezas, 2012-2016**.https://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/35_realizados_03.pdf
- Alves, J., Roque, A.L., Cravo, P. et al. (2006). **Epidemiological characterization of Plasmodium falciparum in the Republic of Cabo Verde: implications for potential large-scale re-emergence of malaria**. Malar J5, 32 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-5-32>
- Andrade, B., B. & Barral-Netto, M. (2011). **Biomarkers for susceptibility to infection and disease severity in human malaria**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 106 (Suppl. 1), 70-78.<https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000900009>

- Antony, H. A., & Parija, S. C. (2016). **Antimalarial drug resistance: An overview.** *Tropical parasitology*, 6(1), 30–41. <https://doi.org/10.4103/2229-5070.175081>
- Assis, F. M. C., & Lengua, C. A. G. 2011. **Malaria severa.** *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*; 11(2): 156-165 recuperado de: <http://clinicalevidence.pbworks.com/w/file/fetch/52052676/MALARIA%20SEVERA.pdf>
- Baldeviano, G. C., Okoth, S. A., Arrospide, N., Gonzalez, R. V., Sánchez, J. F., Macedo, S., Conde, S., Tapia, L. L., Salas, C., Gamboa, D., Herrera, Y., Edgel, K. A., Udhayakumar, V., & Lescano, A. G. (2015). **Molecular Epidemiology of Plasmodium falciparum Malaria Outbreak, Tumbes, Peru, 2010-2012.** *Emerging infectious diseases*, 21(5), 797–803. <https://doi.org/10.3201/eid2105.141427>
- Barber, B.E., Rajahram, G.S., Grigg, M.J. (2017). **World Malaria Report: time to acknowledge Plasmodium knowlesi malaria.** *Malar J* 16, 135 <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1787-y>
- Barrera, S. M., Pérez, M. A., Knudson, A., Nicholls, R. S., & Guerra, Ángela P. (2010). **Genotipificación de Plasmodium falciparum por PCR múltiple por medio de los genes msp1, msp2 y glurp, en cuatro localidades de Colombia.** *Biomédica*, 30(4), 530–8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i4.291>
- Barry, A. E., Waltmann, A., Koepfli, C., Barnadas, C., & Mueller, I. (2015). **Uncovering the transmission dynamics of Plasmodium vivax using population genetics.** *Pathogens and global health*, 109(3), 142–152. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000012>
- Bastidas-Pacheco, G. A., Hidalgo-Rojas, M., Colman-Álvarez, L. del C., Peña-Toro, M., Quintero-Reyes, M. A., & Pérez-Carvajal, H. A. (2017). **Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa en indígenas piaroas en zona endémica de malaria.** *Duazary*, 14(1), 54–60. <https://doi.org/10.21676/2389783X.1743>
- Becerra A, F. (2015) **Fenómenos de citoadherencia asociados al paludismo falciparum.** <https://eprints.ucm.es/48566/> Código ID:48566

Becerril F. M.A **Parasitología Médica**.Capitulo 16, 4ta edición (2014). ISBN 978-607-15-1422-6

Benítez, Y.; M, E., V, M.; J, Marvin Rafael;R, J.; Editor Académico Prof. Dr. Ángel Sol Sánchez (2016): **La economía como factor clave para el desarrollo sostenible rural: caso Nicaragua:** <http://portal.amelica.org/ameli/journal/394/3941750002/DOI:https://doi.org/10.5377/ribcc.v2i1.5691>

Benítez J. A., Rodríguez A, Sojo M., Lobo H., Villegas C., Oviedo L. y Brown E. (2004): **Descripción de un Brote Epidémico de Malaria de Altura en un área originalmente sin Malaria del Estado Trujillo**, Venezuela, Boletín de Malariología y salud ambiental vol. XLIV, N° 2, 44(2): 93-99, agosto-diciembre, 2004 ID: lil-409894 <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-409894>

Blanco Bernárdez, C. F., & García, A. C. C. (2016). **Factores socio ambientales y demográficos asociados a la transmisión de la malaria en los barrios Jericó y Cristales en la ciudad Trujillo Colón. Tegucigalpa, Honduras.** Recuperado de <http://www.tzibalnaah.unah.edu.hn/handle/123456789/4474>

Blair, S. (2012). **Retos para la eliminación de la malaria en Colombia: un problema de saber o de poder.**Biomédica, 32 (sup1),131-48. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i0.598>

Brasil, P., Zalis, M., de Pina-Costa, A., Machado, Andre., Bianco, C., Sidnei, S., Lisboa, André., Pelajo-Machado, M., Madureira de Alvarenga, D., Faria da Silva, A., Gomes, H., Cravo, P., Santos de Abreu, F., Peterka, C., Zanini, G., Suárez, M., Pissinatti, A., Lourenço-de-Oliveira, R, Alves de Brito, C., Ferreira-da-Cruz, M., Culleton, R., and Daniel-Ribeiro, C.,posted online Mar. 29, (2017): **Plasmodium simiumcausing human malaria: a zoonosis withoutbreakpotential in the Rio de Janeiro Brazilian Atlantic forest,** doi: <https://doi.org/10.1101/122127>

Botero D.& Restrepo M. **Parasitosis humana. 5ta Edición** (2012) Editorial para investigación Biológica. ISBN 9789589076774

- Cáceres, L., Rovira, J., Torres, R., García, A., Calzada, J. & De La Cruz, M. (2012). **Caracterización de la transmisión de la malaria por Plasmodium vivax en la región fronteriza de Panamá con Costa Rica en el municipio de Barú, Panamá.** *Biomédica*, 32(4), 557-569. <https://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i4.773>
- Calero López, EV, Pastora Velásquez KM. 2019: **Prevalencia de paludismo en pacientes que asisten al policlínico Ernesto Hodgson Wrigth de Puerto Cabezas, en el período de Octubre a Diciembre del 2018** Recuperado de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/7517/1/244062.pdf>
<http://hdl.handle.net/123456789/7517>
- Calzada, J.E., Marquez, R., Rigg, C. *et al* (2015) **Characterization of a recent malaria outbreak in the autonomous indigenous region of Guna Yala, Panamá.** *Malar J*14, 459. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0987-6>
- Campuzano, ZG, Blair, TS. (2010) **Malaria: Consideraciones sobre su diagnóstico.** *Medicina & Laboratorio*. 16(07-08):311-354. <https://biblat.unam.mx/es/revista/medicina-laboratorio/articulo/malaria-consideraciones-sobre-su-diagnostico>
- Cardona-Arias JA, Salas-Zapata WA, Carmona-Fonseca J. (2019) **Determinación y determinantes sociales de la malaria: revisión sistemática, 1980-2018.** *Rev Panamericana de la Salud Pública.* = *Pan American journal of public health*, 43, e 39. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.39>
- Carmona-Fonseca, J. y Arango, E., (2012): **Malaria mixta: Revisión General,** Revista Médicas Vol. 25, Nº. 1, 2012, págs. 45-54 | UIS, ISSN-e 1794-5240, ISSN 0121-0319,
- Centro para el Control y la prevención de Enfermedades CDC 2020: **DPDx: identificación de laboratorio de parásitos de interés para la salud pública;** *Malaria* <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>
- Centro para la Autonomía y Desarrollo de los Pueblos Indígenas, (CADPI) Actualizado por FIDA, Oficina Pueblos Indígenas (2017): **Nota técnica de país sobre cuestiones de los pueblos indígenas república de Nicaragua,**

https://www.ifad.org/documents/38714170/40258424/nicaragua_ctn_s.pdf/5d4aedee-2bf5-41c0-906b-56cf09ee68d6?t=1651742301283

Chaparro, P., Padilla, J., Vallejo, A.F. et al.(2013):**Characterization of a malaria outbreak in Colombia in 2010.** Malar J12, 330 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-330>

Cox-Singh, J; Singh, B (2008) **Knowlesi malaria: newly emergent and of public health importance?** trends in parasitology, 24 (9). 406 - 410 (5). ISSN 1471-4922 <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.06.001>

Daniels, R., Volkman, S.K., Milner, D.A. et al. (2008). **A general SNP-based molecular barcode for Plasmodium falciparum identification and tracking.** Malar J7, 223 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-223>

Fontecha, G., Mejía, R.E., Banegas, E. et al.(2018).**Deletions of pfhrp2 and pfhrp3 genes of Plasmodium falciparum from Honduras, Guatemala and Nicaragua.**Malar J17, 320 <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2470-7>

Fontecha, G., Pinto, A., Archaga, O., Betancourth, S., Escobar, L., Henríquez, J., Valdivia, H. O., Montoya, A., & Mejía, R. E. (2021). **Assessment of Plasmodium falciparum anti-malarial drug resistance markers in pfert and pfmdr1 genes in isolates from Honduras and Nicaragua, 2018-2021.** Malaria journal, 20(1), 465. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03977-8>

García L. H., Fumado P. B., González T. & Grupo de Trabajo de Enfermedades Tropicales de la Sociedad de Infectología Pediátrica (SEIP), 2013. **Actualización en el diagnóstico y tratamiento de la malaria**<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.06.007>

García, M. M., 2017: **La malaria en el cine: modelo de enseñanza y educación sanitaria en las enfermedades tropicales** Gestión del Repositorio Documental de la Universidad de Salamanca, (tesis)<http://hdl.handle.net/10366/136273>. doi. 10.14201/gredos.136273.

Gamboa D, Ho M-F, Bendezu J, Torres K, Chiodini PL, et al. (2010) **A Large Proportion of P. falciparum Isolates in the Amazon Region of Perú Lack pfhrp2 and pfhrp3:**

Implications for Malaria Rapid Diagnostic Tests. PLoS ONE 5(1):e8091.
[doi:10.1371/journal.pone.0008091](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008091)

González-Cerón, L., Rodríguez, M. H., Ovilla-Muñoz, M. T., Santillán-Valenzuela, F., Hernández-Ávila, J. E., Rodríguez, M. C., Martínez-Barnetche, J., & Villarreal-Treviño, C. (2020). **Ookinete-Specific Genes and 18S SSU rRNA Evidenced in *Plasmodium vivax* Selection and Adaptation by Sympatric Vectors.** *Frontiers in genetics*, 10, 1362.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01362>

González-Cerón, L., Mu, J., Santillán, F. et al. (2013a) **Molecular and epidemiological characterization of *Plasmodium vivax* recurrent infections in southern Mexico.** *Parasites Vectors* 2013 Apr 18;6:109. [doi: 10.1186/1756-3305-6-109](https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-109). PMID: 23597046; PMCID: PMC3637411.

González-Cerón, L., Martínez-Barnetche, J., Montero-Solís, C. et al. (2013b): **Molecular epidemiology of *Plasmodium vivax* in Latin America: polymorphism and evolutionary relationships of the circumsporozoite gene.** *Malar J* 12, 243
<https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-243>

Godoy López, José Antonio. “**La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies**”. *Ecosistemas*. Vol. 18, n. 1 pp. 23-33 (en.-abr. 2009). ISSN 1697-2473, <http://hdl.handle.net/10045/10598>

González-Cerón, L., Montoya, A., Corzo-Gómez, J. C., Cerritos, R., Santillán, F., & Sandoval, M. A. (2017). **Genetic diversity and natural selection of *Plasmodium vivax* multi-drug resistant gene (pvmdr1) in Mesoamerica.** *Malaria journal*, 16(1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1905-x>

González-Cerón, Lilia, Rodríguez, Mario H, Montoya, Alberto, Santillán-Valenzuela, Frida, & Corzo-Gómez, Josselin C. (2020). **Molecular variation of *Plasmodium vivax* dehydrofolatreductase in Mexico and Nicaragua contrasts with that occurring in South América.** *Salud Pública de México*, 62(4), 364-371. Epub 16 de mayo de 2022.
<https://doi.org/10.21149/10129>

- Gutiérrez, S., González-Cerón, L., Montoya, A., Sandoval, M. A., Tórres, M. E., & Cerritos, R. (2016). **Genetic structure of *Plasmodium vivax* in Nicaragua, a country in the control phase, based on the carboxyl terminal region of the merozoite surface protein-1.** <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.040>
- Harris, I., Sharrock, W. W., Bain, L. M., Gray, K. A., Bobogare, A., Boaz, L., Lilley, K., Krause, D., Vallely, A., Johnson, M. L., Gatton, M. L., Shanks, G. D., & Cheng, Q. (2010). **A large proportion of asymptomatic *Plasmodium* infections with low and sub-microscopic parasite densities in the low transmission setting of Temotu Province, Solomon Islands: challenges for malaria diagnostics in an elimination setting.** *Malaria journal*, 9, 254. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-254>
- Herrera S, Ochoa-Orozco SA, González IJ, Peinado L, Quiñones ML, Arévalo-Herrera M (2015).“**Prospects for malaria elimination in Mesoamerica and Hispaniola.**”*PLoS Negl Trop Dis.* 2015 May 14;9(5):e0003700. doi: [10.1371/journal.pntd.0003700](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003700). PMID: 25973753; PMCID: PMC4431857.
- Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta.* ISBN: 978-1-4562-6096-5
- Heledd M. Davies, Stephanie D. Nofal, Emilia J. McLaughlin, Andrew R. Osborne, 2017 **Repetitive sequences in malaria parasite proteins, FEMS Microbiology Reviews,** Volume 41, Issue 6, November, Pages 923–940, <https://doi.org/10.1093/femsre/fux046>
- Heidari, A., & Keshavarz, H. (2021). **The Drug Resistance of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in Iran: A Review Article.** *Iranian journal of parasitology*,16(2), 173–185. <https://doi.org/10.18502/ijpa.v16i2.6265>
- Hiasindh A.A.,Vrushali. P., Subhash C.P., Kanjaksha G., and Amrita B., (2016) **Transcriptomic Analysis of Chloroquine-Sensitive and Chloroquine-Resistant Strains of *Plasmodium falciparum*: Toward Malaria Diagnostics and Therapeutics for Global Health.***OMICS: A Journal of Integrative Biology.*Jul 2016.424-432.<http://doi.org/10.1089/omi.2016.0058>

- Hijar G.G., Quino A.H., Padilla R.C., & Montoya P.Y., (2002). **Variabilidad genética de Plasmodium falciparum en pacientes con malaria grave y malaria no complicada en Iquitos - Perú.** Revista Peruana de MedExp y Salud Publica, 19(3), 131-135. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342002000300005&lng=es&tlng=es.
- Hortelano, M. G. L., Ascaso, M. T. G., Peña, M. J. M., & Arrieta, J. V. (2010). **Patología infecciosa importada I: Malaria.** Rev. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: **Infectología pediátrica**, Recuperado en https://scholar.google.com/scholar?cluster=16886672847477538131&hl=es&as_sdt=0,5&scioldt=0,5
- Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud y Protección Social Colombia (2015) **Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y Tratamiento**<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/manual-diagnostico-malaria-no-complicada.pdf> ISBN: 978-958-13-0175-1
- J. Balsa Vázquez, G. Hernández García, I.J. García Asenjo, D. Alonso Menchen, Á.D. Extremera Espinar, A. Suárez Simón, I. Corral Bueno, A. Caro Leiro, J. Arévalo Serrano, J. Cuadros González y G. Rojo Marcos. (2019) **Análisis de la evolución del paludismo importado en un área sanitaria de la comunidad de Madrid en los periodos 1999-2003 y 2006-2017.** XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 0478. Recuperado de https://static.elsevier.es › congresos › congreso2019_eimc
- Jovel, I.T., Mejía, R.E., Banegas, E. et al.(2011) **Drug resistance associated genetic polymorphisms in Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax collected in Honduras, Central America.** Malar J10, 376.<https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-376>
- Joy, D.A., González-Cerón, L., Carlton, J.M., Gueye, A., Fay, M., McCutchan, F. T., Su X. (2008): **Local Adaptation and Vector-Mediated Population Structure in Plasmodium vivax Malaria, Molecular Biology and Evolution**, Volume 25, Issue 6, June 2008, Pages 1245–1252,<https://doi.org/10.1093/molbev/msn073>

- Kesteman, T., Rafalimanantsoa, S.A., Razafimandimby, H. et al. (2016) **Multiple causes of an unexpected malaria outbreak in a high-transmission area in Madagascar**. *Malar J* 15, 57. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1113-0>
- Khim, N., Bouchier, C., Ekala, M. T., Incardona, S., Lim, P., Legrand, E., Jambou, R., Doung, S., Puijalon, O. M., & Fandeur, T. (2005). **Countrywide survey shows very high prevalence of Plasmodium falciparum multilocus resistance genotypes in Cambodia. Antimicrobial agents and chemotherapy**, 49(8), 3147–3152. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.8.3147-3152.2005>
- Knudson, A., González-Casabianca, F., Feged-Rivadeneira, A. et al. (2020). **Spatio-temporal dynamics of Plasmodium falciparum transmission within a spatial unit on the Colombian Pacific Coast**. *Sci Rep* 10, 3756. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60676-1>
- Larrañaga, N., Mejía, R.E., Hormaza, J.I. et al. (2013). **Genetic structure of Plasmodium falciparum populations across the Honduras-Nicaragua border**. *Malar J* 12, 354 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-354>
- López, A.C., Ortiz, A., Coello, J. et al. (2012) **Genetic diversity of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum in Honduras**. *Malar J* 11, 391. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-391>
- López Feldman A. J. CEPAL – UNION EUROPEA (2015), **Estudios del cambio climático en América latina, Cambio climático y actividades agropecuarias en América Latina** https://www.cepal.org/sites/default/files/publication/files/39824/S1501286_es.pdf
- Lu, G., Zhou, S., Horstick, O. et al. (2014). **Malaria outbreaks in China (1990–2013): a systematic review**. *Malar J* 13, 269 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-269>
- Martínez-Salazar E, Tobón-Castaño A, Blair S. **Malaria en humanos por infección natural con Plasmodium knowlesi**. *biomédica*; 32(sup1):121-30. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/583>

- Manterola, C., & Otzen, T. (2014). **Estudios Observacionales: Los Diseños Utilizados con Mayor Frecuencia en Investigación Clínica**. International Journal of Morphology, 32(2), 634-645. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022014000200042>
- Manterola, C., Quiroz, G., Salazar, P., García, N., (2019). **Metodología de los tipos y diseños de estudios más frecuentemente utilizados en investigación clínica**. Revista Médica los Condes, Volumen 30, Issue 1 pag 36-49, ISSN 0716-8640, <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2018.11.005>.
- MINSAL, CNDR y CDC (2012): **Resultados de marcadores moleculares msp1 msp2 y GLURP en muestras de P. falciparum de muestras procedentes de los SILAIS Bilwi y Las Minas de los años 2011 y 2012(datos no Publicados)**
- Ministerio de Salud de Nicaragua, MINSAL, (2013). N-114 **Norma Nacional para la prevención control y tratamiento de la malaria**. Recuperado de <http://www.minsa.gob.ni/index.php/component/remository/Descargas-MINSAL/Direcci%C3%B3n-General-de-Regulaci%C3%B3n-Sanitaria/Normas-Protocolos-y-Manuales/Normas-2013/orderby,4/page,2/?Itemid=0>
- Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de enfermedades (MINSAL-DPE), (2014) **Normativa 114, Norma nacional para la prevención, control y tratamiento de la Malaria. Noviembre 2014.**
- Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de enfermedades (MINSAL-DPE), (2017) **Normativa 114, Norma nacional para la prevención, control y tratamiento de la Malaria. Segunda edición 2017.**
- Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de enfermedades (MINSAL-DPE, 2019a) **Normativa 114, Norma nacional para la prevención, control y tratamiento de la Malaria. Tercera edición 2019.**
- Ministerio de Salud de Nicaragua MINSAL (2014). **Plan Estratégico Nacional de malaria 2014-2018 (PENM)**. <https://www.mcr-comisca.org/nicaragua/775-plan-estrategico-nacional-de-malaria-2014-2018-nicaragua/file>

Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de Enfermedades (MINSA-DPE) 2015: **Base de datos M10 malaria DPE-MINSA Nicaragua, datos 2013-2015.**

Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de Enfermedades (MINSA-DPE) 2016: **Base de datos M10 malaria DPE-MINSA Nicaragua, datos 2012-2016.**

Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de Enfermedades (MINSA-DPE), 2018: **Base de datos M10 malaria DPE-MINSA Nicaragua, datos 2015-2018.**

Ministerio de Salud, Dirección de Prevención de enfermedades (MINSA-DPE, 2019b) **Normativa 154, Manual de procedimientos operativos para la prevención, vigilancia, diagnóstico y control de la malaria. Agosto 2019.**

Ministerio de salud 2020, página oficial, recuperado de <http://www.minsa.gob.ni/>

Ministerio de Salud, página oficial del Ministerio de Salud (2021). **Mapa Nacional de Salud en Nicaragua 2021:** Recuperado de <http://www.minsa.gob.ni/http://mapasalud.minsa.gob.ni/mapa-de-padecimientos-de-salud-silais-bilwi-raccn/>

Ministerio de Salud, SILAIS RACCS, **Dirección de Prevención de Enfermedades (MINSA-RACCS) 2015:** Reporte de brote SILAIS RACCS, 2015

Ministerio de salud y protección social, Colombia, MinSalud (2013) **Malaria, memorias 2012-2013,** federación médica colombiana, Bogotá DC, Colombia https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/memorias_malaria.pdf

Ministerio de Salud de Colombia MinSalud (2020): **Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y tratamiento de la malaria** Recuperado de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/gpc-malaria-version-publicacion1.0.pdf>

- Miller, L. H., Ackerman, H. C., Su, X. Z., & Wellems, T. E. (2013). **Malaria biology and disease pathogenesis: insights for new treatments.** *Nature medicine*, 19(2), 156–167. <https://doi.org/10.1038/nm.3073>
- Mita T. (2010). **Origins and spread of pfdhfr mutant alleles in Plasmodium falciparum.** *Acta tropica*, 114(3), 166–170. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.07.008>
- Monge, MH (2011): **Los Creoles de la costa Caribe de Nicaragua: entre la subalternidad y la hegemonía** Cuadernos Intercambio Año 8, n. 9 (2011), 193-206 [ISSN: 1659-0139]<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/intercambio/article/view/2221/2182>
- Molineros Gallón, L., Calvache López, O., Bolaños Ramírez, H., Castillo Carol, C., & Torres Burbano, C. (2014). **Aplicaciones de un modelo integral para el estudio de la malaria urbana en San Andrés de Tumaco, Colombia.** *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(1). Recuperado <https://revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/2/1>
- Morton, L. C., Huber, C., Okoth, S. A., Griffing, S., Lucchi, N., Ljolje, D., Boncy, J., Oscar, R., Townes, D., McMorrow, M., Chang, M. A., Udhayakumar, V., & Barnwell, J. W. (2016). **Plasmodium falciparum Drug-Resistant Haplotypes and Population Structure in Postearthquake Haiti, 2010.** *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 95(4), 811–816. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0214>
- Murillo M.J., Toledo A.R. (2001) **Conocimientos y prácticas de la medicina botánica en comunidades rurales del municipio de rosita**<https://repositorio.unan.edu.ni/13963/>
- Muñoz, Mara. (2017). **El camino hacia la eliminación de la malaria en Paraguay.** *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 15(2), 3-5. [https://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015\(02\)03-005](https://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015(02)03-005)
- Mwingira, F., Nkwengulila, G., Schoepflin, S. et al. (2011). **Plasmodium falciparum msp1, msp2 y frecuencia y diversidad de alelos glurp en el África subsahariana.** *Malar J* 10 , 79 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-79>

- Naciones Unidas,NU(2010) **El cambio climático y la malaria: una relación compleja**<https://www.un.org/es/chronicle/article/el-cambio-climatico-y-la-malaria-una-relacion-compleja>
- Nelson, C. S., Sumner, K. M., Freedman, E., Saelens, J. W., Obala, A. A., Mangeni, J. N., Taylor, S. M., & O'Meara, W. P. (2019). **High-resolution micro-epidemiology of parasite spatial and temporal dynamics in a high malaria transmission setting in Kenya.** *Nature communications*, 10(1), 5615. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13578-4>
- Nogueira, D. y Garnelo, L. 2018 **(Con) viviendo con malaria: salud, enfermedad y autoatención en una comunidad rural en la Amazonia brasileña**<https://www.scielo.org.mx/pdf/desacatos/n58/2448-5144-desacatos-58-66.pdf>
- Ndiaye, T., Sy, M., Gaye, A., Siddle, K. J., Park, D. J., Bei, A. K., Deme, A. B., Mbaye, A., Dieye, B., Ndiaye, Y. D., Ndiaye, I. M., Diallo, M. A., Diongue, K., Volkman, S. K., Badiane, A. S., & Ndiaye, D. (2020). **Molecular epidemiology of Plasmodium falciparum by multiplexed amplicon deep sequencing in Senegal.** *Malaria journal*, 19(1), 403. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03471-7>
- Obaldia, N., 3rd, Baro, N. K., Calzada, J. E., Santamaria, A. M., Daniels, R., Wong, W., Chang, H. H., Hamilton, E. J., Arevalo-Herrera, M., Herrera, S., Wirth, D. F., Hartl, D. L., Marti, M., & Volkman, S. K. (2015). **Clonal outbreak of Plasmodium falciparum infection in eastern Panama.** *The Journal of infectious diseases*, 211(7), 1087–1096. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu575>
- Oliveira-Ferreira, J., Lacerda, M.V., Brasil, P. et al. (2010). **Malaria in Brazil: an overview.** *Malar J*, 115 (2010). <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-115>
- Organización Mundial de la salud, OMS,(2012) **Reporte Mundial de Malaria 2012** https://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/report/es/ISBN:9789241564533
- Organización Panamericana de la salud, OPS, (2013): **Reporte Mundial de Malaria 2013** Recuperado de <https://www.paho.org/en/node/64446>

Organización Panamericana de la Salud OPS, (2014): **Situación de la malaria en las Américas 2000-2013** recuperado de <https://www.paho.org/es/node/52075>

Organización Mundial de la Salud, OMS, (2015). **Reporte Mundial de Malaria 2015**. Recuperado de <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/ISBN:978-92-4-156515-8>

Organización Mundial de la Salud, OMS (2016): **Control y eliminación del paludismo por *Plasmodium vivax* informe técnico** ISBN 978 92 4 350924 2 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204494/9789243509242_spa.pdf

Organización Panamericana de la Salud, OPS, (2017). **Situación de la Malaria en las Américas 2000-2016**. Recuperado de <https://www.paho.org/es/node/61247>

Organización Panamericana de la Salud (OPS) 2018: **Terminología del paludismo 2016 (Actualización 2018)** <https://www.paho.org/es/documentos/oms-terminologia-paludismo-2016-actualizacion-2018> (Actualización 2021) <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240038400>

Organización Mundial de la salud, OMS, (2019): **Reporte Mundial de Malaria 2019** <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2019/report/es/> ISBN: 978-92-4-156572-1

Organización Mundial de la Salud, OMS, (2020). **Reporte Mundial de Malaria 2020**. Recuperado de <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791> ISBN 978-92-4-001579-1 (versión electrónica)

Organización Panamericana de la Salud, OPS, (2020). **Actualización Epidemiológica: Malaria en las Américas en el contexto de la pandemia de COVID-19**. Recuperado de <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-malaria-10-junio-2020>

Organización Mundial de la Salud y Organización Panamericana de la Salud OMS OPS. 2019: **Manual de estratificación según el riesgo de malaria y eliminación de focos de transmisión**, Recuperado,

https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&slug=malaria-technical-advisory-group-session-8-2019-only-in-spanish&Itemid=270&lang=en

Organización Panamericana de la salud, (OPS), Centro de Control de Enfermedades, (CDC) y Agencia Americana para el Desarrollo Internacional, USAID, (2010). **Guía práctica revisada para estudios de eficacia de los medicamentos antimaláricos en las Américas** Recuperado de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/modificada-PAN-JUL-2010-integrada-2011.pdf?ua=1>

P. Abad, I.G. Azcárate, M. Heras, A. GrantHutchful, J. Fobil, S. Pérez-Benavente, P. Marín-García, A. Puyet, A. Díez y J.M. **La malaria oculta en inmigrantes subsaharianos es un riesgo de importación de malaria subclínica.** XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) 0474. Recuperado de: https://static.elsevier.es › congresos › congreso2019_eimc

Pascua-Santamaría, A. E., Torrús-Tendero, D., Mira-Perceval, G., García-Galán, P., & Ramos-Rincón, J. M. (2022). **Malaria importada en población pediátrica de Alicante España (1994-2019).** *Biomédica*, 42(2), 244-252. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6068>

Patgiri, S. J., Sarma, K., Sarmah, N., Bhattacharyya, N., Sarma, D. K., Nirmolia, T., Bhattacharyya, D. R., Mohapatra, P. K., Bansal, D., Bharti, P. K., Sehgal, R., Mahanta, J., & Sultan, A. A. (2019). **Characterization of drug resistance and genetic diversity of Plasmodium falciparum parasites from Tripura, Northeast India.** *Scientific reports*, 9(1), 13704. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50152-w>

Plain PC, Pérez de Alejo AA, Domínguez PL. (2018): **Malaria Recurrence: An Epidemiological Risk in Cuba.** *Cuba y Salud*. 13(3):115-118. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=90551>
<http://www.revpanorama.sld.cu/index.php/rpan/article/view/>

Piñeros, J. G., (2010) **Malaria y determinantes sociales de la salud: un nuevo marco heurístico desde la medicina social latinoamericana** *Biomédica* 2010;30:178-87178 <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/181/172>

- Pulcini, S. et al. **Mutations in the Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter, PfCRT, enlarge the parasite's food vacuole and alter drug sensitivities.** Sci. Rep.5, 14552; doi: [10.1038/srep14552](https://doi.org/10.1038/srep14552) (2015).
- Puente, S., García-Benayas, T., Seseña, G., & González-Lahoz, J. M. (2005). **Malaria: conceptos clínicos y terapéuticos.** Enferm. emerg, 34-39. Recuperados de <http://enfermedadesemergentes.com/articulos/a396/s-7-1-005.pdf>
- Pro-Nicaragua (2020), Informes y presentaciones, Perfil **demográfico Nicaragua 2020.** www.pronicaragua.gob.ni<https://pronicaragua.org.ni/es/informes-y-presentaciones/41-perfil-demogr%C3%A1fico-2020/> file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Descargar-1.pdf
- Quintero, L., López, M. B., Ramírez, H., & Castaño, J. C. (2015). **Descripción de un brote epidémico de malaria en una comunidad indígena asentada en la zona urbana de Armenia, Colombia, 2012.** Biomédica, 35(1),24-33. ISSN: 0120-4157. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=843/84338617005>
- Raffa V (2009) **La cultura Miskita de la costa atlántica de Nicaragua: entre tradición y técnica** ITINERARIOS Vol. 9 / 2009<https://docplayer.es/81668861-La-cultura-miskita-de-la-costa-atlantica-de-nicaragua-entre-tradicion-y-tecnica.html>
- Rischkowsky B. y Pilling D.: **Marcadores Moleculares:Una herramienta para explorar la diversidad genética.** Seccion C, pg 393-416, La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura, editado por. FAO. 2010. Roma . Recuperado de: <https://www.fao.org/3/a1250s/a1250s.pdf>
- Rodríguez, M. H., & Betanzos-Reyes, Á. F. (2011). **Plan de mejoramiento del control de la malaria hacia su eliminación en Mesoamérica.** Salud Pública de México, 53 (Supl.3),s333-s348. Recuperado de[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342011000900007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342011000900007&lng=es&tlng=es)
- Rodríguez, J., Bernal, P., Álvarez, L., Pabón, S., Ibáñez, S., Chapuel, N., & Walteros, R. (2010). **Predicción de unión de péptidos de MSP-1 y EBA-140 de Plasmodium falciparum al**

HLA clase II: Probabilidad, combinatoria y entropía aplicadas a secuencias peptídicas. *Inmunología*, 29(3), 91-99.[https://doi.org/10.1016/S0213-9626\(10\)70016-0](https://doi.org/10.1016/S0213-9626(10)70016-0)

Rodríguez U, Claudia, Rivera J, Marco, & Rebaza I, Henry. (2007): **Factores de riesgo para malaria por Plasmodium vivax en una población rural de Trujillo, Perú.** *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 24(1), 35-39. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342007000100006&lng=es&tlng=es

Sáenz, F.E., Morton, L.C., Okoth, S.A. et al. (2015) **Clonal population expansion in an outbreak of Plasmodium falciparum on the northwest coast of Ecuador.** *Malar J*14, 497. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-1019-2>

Salas, D., Sánchez, D. Y., Achury, G., & Escobar-Díaz, F. (2021). **Malaria en poblaciones con ocupación minera, Colombia, 2012-2018:** *Biomédica*, 41(Supl. 1), 121-130. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5899>

Sánchez Bonilla, Yendry, & Alejandro Chamizo García, Horacio. **Los determinantes socio-ambientales de la malaria en la localidad de Matina en Costa Rica.** *Revista Costarricense de Salud Pública*, 21(2), 50-57(2012), Recuperado de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292012000200002&lng=en&tlng=es.

Sequeira Manzanarez, M. I., Hernández Oporta, A. J., & Cuadra Hernández, J. T. (2017). **Prevalencia de malaria mixta en los municipios de Siuna y Rosita de la región autónoma del Caribe Norte en el período Mayo a Julio de 2016,** Repositorio Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, 2017, Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/160792504.pdf>

Naowarat S., Supatchara N., Mayfong M., Newton P. N., OsorioL., Jung-Ryong K., N. J. White, N. P., Day., DondorpA.,&Imwong M.(2016). **Geographic distribution of amino acid mutations in DHFR and DHPS in Plasmodium vivax isolates from Lao PDR, India and Colombia.** *Malar J* 15, 484.<https://doi.org/10.1186/s12936-016-1543-8>

- Sathishkumar, V., Nirmolia, T., Bhattacharyya, D. R., & Patgiri, S. J. (2022). **Genetic polymorphism of Plasmodium falciparum msp-1, msp-2 and glurp vaccine candidate genes in pre-artemisinin era clinical isolates from Lakhimpur district in Assam, Northeast India.** Access microbiology, 4(4), 000350. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000350>
- Setiadi, W., Sudoyo, H., Trimarsanto, H. et al. (2016): **A zoonotic human infection with simian malaria, Plasmodium knowlesi, in Central Kalimantan, Indonesia.** Malar J15, 218. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1272-z>
- Sondo, P., Derra, K., Rouamba, T. et al. **Determinants of Plasmodium falciparum multiplicity of infection and genetic diversity in Burkina Faso.** Parasites Vectors 13, 427 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04302-z>
- Soriano, A.R., Ramírez M. F., Russell N., Hernández, N., Putic, M. J. (2018) : **Evaluación de Programa de País: Nicaragua 2013-2017** oficina de evaluación y supervisión BID <http://dx.doi.org/10.18235/0001648> <https://publications.iadb.org/es/evaluacion-de-programa-de-pais-nicaragua-2013-2017>
- Spanakos G., Alifrangis M., Schousboe M. L., Patsoula E., Tegos N., Hansson H. H., Bygbjerg I. C, Vakalis N. C., Tseroni M., Kremastinou J. & Hadjichristodoulou C. (2013): **Genotyping Plasmodium vivax isolates from the 2011 outbreak in Greece,** Malaria Journal 2013, 12:463 <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-463>
- Spencer, L., Gómez, A., & Collovini, E. (2016). **Mechanisms of invasion from sporozoite and merozoite of Plasmodium.** Bionatura, 1, 89-94. DOI. [10.21931/RB/2016.01.02.9](https://doi.org/10.21931/RB/2016.01.02.9)
- Sridaran, S., Rodriguez, B., Soto, A. M., Macedo De Oliveira, A., & Udhayakumar, V. (2014). **Molecular analysis of chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine resistance-associated alleles in Plasmodium falciparum isolates from Nicaragua.** The American journal of tropical medicine and hygiene, 90(5), 840–845. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0214>

- Vásquez, A.M., & Tobón, A. (2012). **Mecanismos de patogenia en la malaria por Plasmodium falciparum.** Biomédica, 32, 106-120.doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i0.447>
- Venkatachalam, K., Barnwell, J.W., Macedo de Oliveira, A. (2013). **"Vigilancia molecular de la resistencia de Plasmodium falciparum a los antimaláricos (2005-2012) informe Ejecutivo.** Recuperado de <https://www.paho.org> > [Molecula-Surv-Plasmodium-2005-2012-Spa](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/Molecula-Surv-Plasmodium-2005-2012-Spa) <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/Molecula-Surv-Plasmodium-2005-2012-Spa.pdf>
- Venanzi E., López-Vélez, R. (2016) **Resistencia a los antimaláricos** Revista Española de quimioterapia, Vol. 29 No Extra 1,2016 Pag. 72-75 Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6314075>
- Vitora, N.D; Alvarado C.G.D; Araque R.B.P; Feliz V.R.A; Sotelo F.A.E; Landaeta M. E. (2021) **Prevalencia de malaria y utilidad de las pruebas de diagnóstico rápido en Playa Colorada.** Una investigación de CUMIS UCVVivas<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1363877>
- Wesolowski, R., Wozniak, A., Mila-Kierzenkowska, C., & Szewczyk-Golec, K. (2015). **Plasmodium knowlesi as a Threat to Global Public Health.** The Korean journal of parasitology, 53(5), 575–581.<https://doi.org/10.3347/kjp.2015.53.5.575>
- Zapata Y. 2008 **Historiografía, sociedad y autonomía. Desde Tuluwalpa hasta las regiones autónomas de la Costa Caribe Nicaragüense: un pasado y un presente diferente.**URACCAN. Nicaragua.<http://repositorio.uraccan.edu.ni/100/>
- Zhu, M., Zhang, C., Zhang, Y. *et al.* (2022). **An epidemiological analysis of imported malaria in Shanghai during a COVID-19 outbreak.**Malar J21, 245 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04273-9>
- Zuñiga-Sosa, Evelyn Alexandra, Pullas-Bahamonde, María Fernanda, Crespo-Proaño, Carolina Elizabeth, & Chiriboga-Ponce, Rosa F. (2019). **Tipificación del antígeno Duffy como método indirecto para identificar individuos asintomáticos de malaria.** Acta

bioquímica clínica latinoamericana, 53(1), 71-77.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572019000100013&lng=es&tlng=es.

Zurita, I., Rebollo, S., (2006) **“Comparación de la eficacia de aislamiento de ADN humano a partir de manchas de sangre recolectadas en papel filtro Whatman n3, papel nucleico y papel FTA”** Repositorio Universidad de San Andrés Bolivia
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/3683/TD-1666.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

XIV. ARTÍCULOS

Los artículos y manuscritos aquí mencionados forman parte del total del informe de tesis se detalla con sus títulos y la revista en que se publicaron, así como sus DOI para poder acceder al artículo completo.

Artículo 1

Primer taller “calidad de la toma de papel filtro” para vigilancia molecular del Plasmodio
First workshop “quality of filter paper collection” for molecular
Surveillance of Plasmodium

Autor

Betzabé Mara Rodríguez

Ministerio de Salud de Nicaragua CNDR

<https://rcientificaesteli.unan.edu.ni>

DOI: <https://doi.org/10.5377/farem.v0i34.10012>

Artículo 2

Dinámica de la Malaria en el SILAIS Bilwi, Nicaragua 2013-2020.
Malaria Dynamics at LCHCS Bilwi, Nicaragua 2013-2020.

Betzabé Mara Rodríguez

Ministerio de salud de Nicaragua CNDR

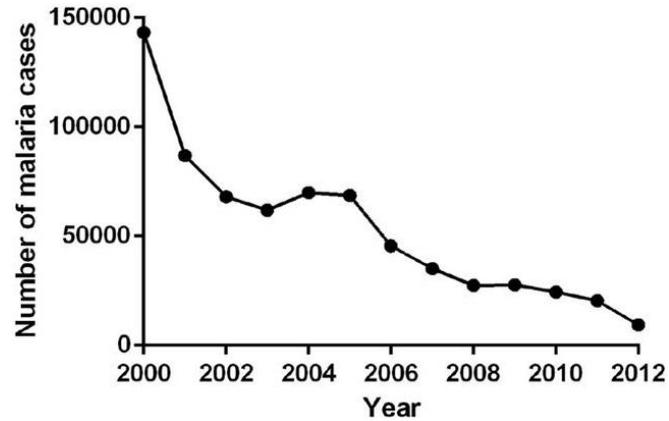
[http://portal.amelica.org/amelica/journal/387/3873452005/DOI:](http://portal.amelica.org/amelica/journal/387/3873452005/DOI)

<https://doi.org/10.5377/rtu.v11i32.14977>

ANEXOS

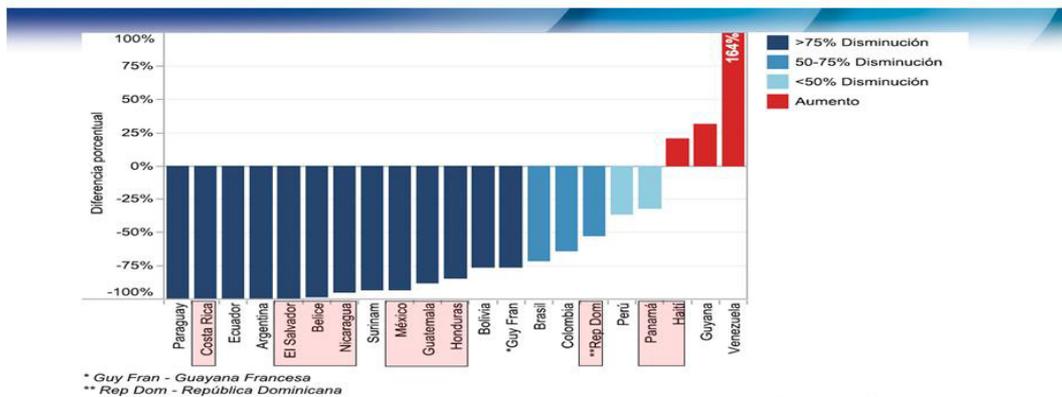
Anexo 1

Paludismo en Mesoamérica 2000-2012



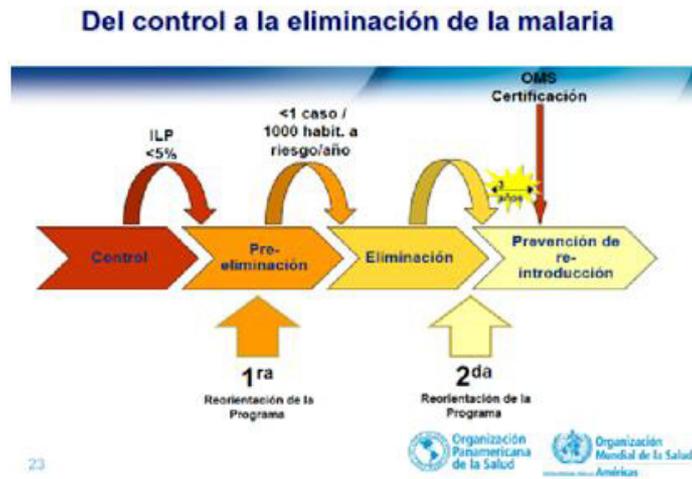
Anexo 2

Porcentaje reducción en casos confirmados en la Región de las Américas 2000-2013

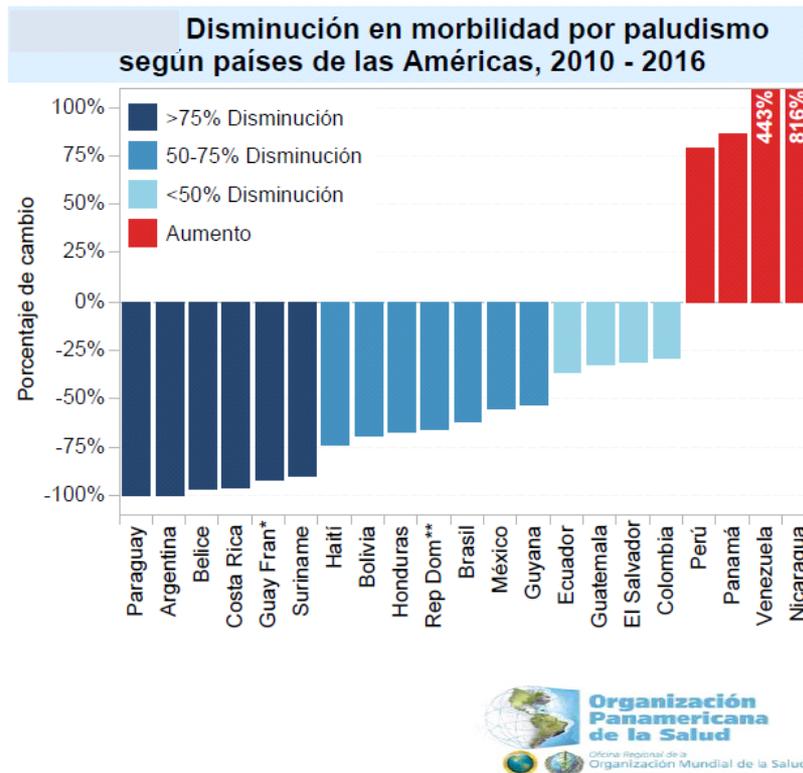


1,195 casos positivos de malaria,

Anexo 3



Anexo 4



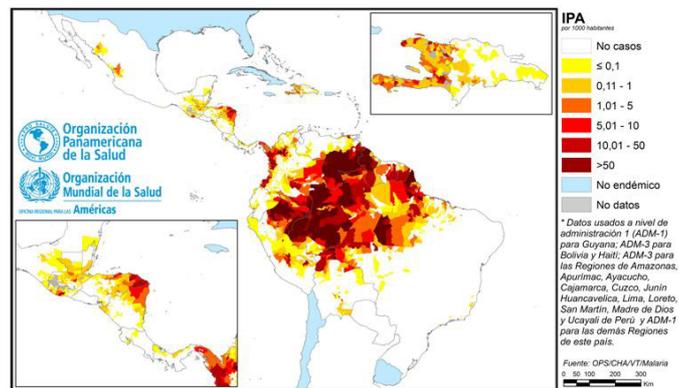
Anexo 5

Conjunto de intervenciones



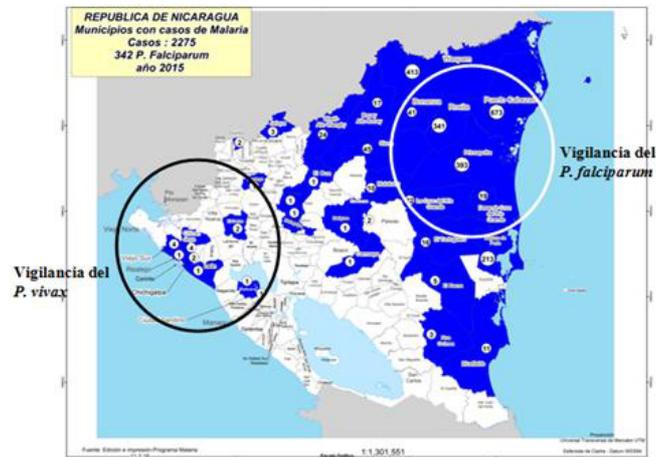
Anexo 6

Mapa Malaria en las Américas



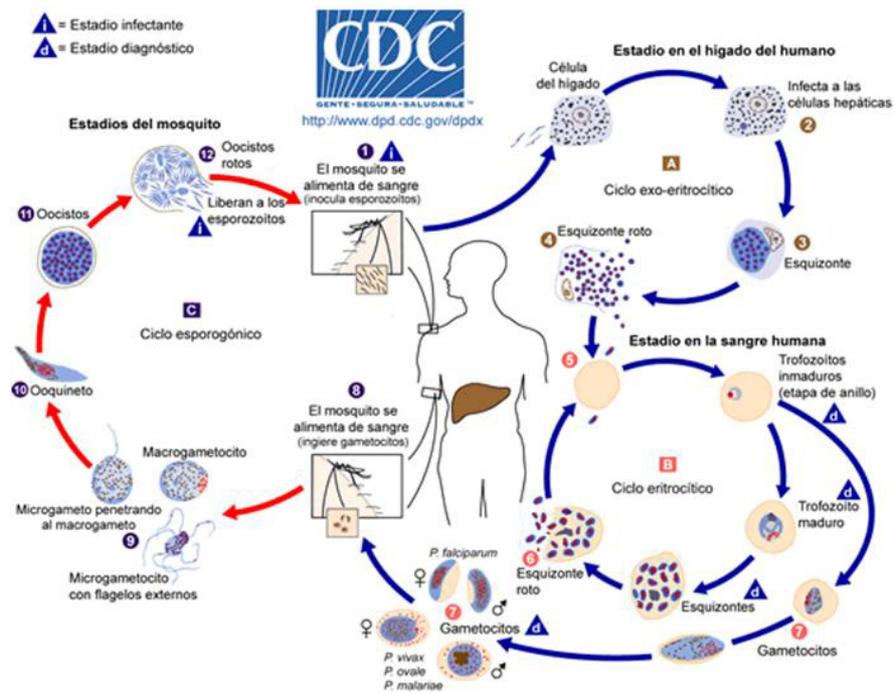
Anexo 7

Sitos Centinelas para la vigilancia de la resistencia a los antipalúdicos en *P. falciparum*



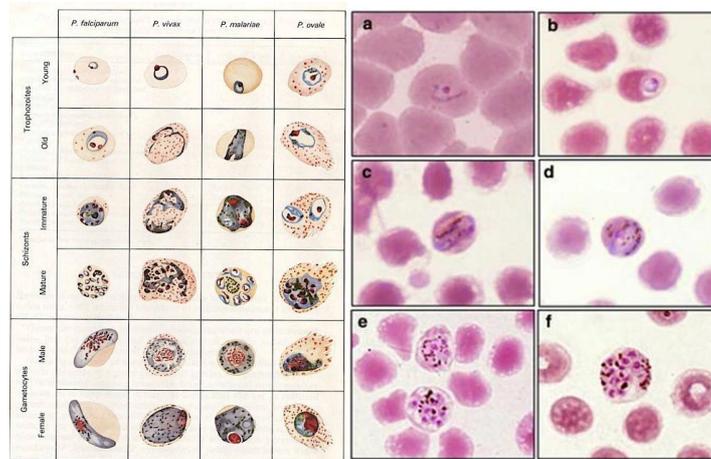
Anexo 8

Ciclo biológico del Plasmodium Spp



Anexo 9

Morfología de los plasmodios *P. knowlesi*



Anexo 10

Ficha de investigación Epidemiológica de casos de Malaria M-10

Ministerio de Salud de Nicaragua		Semana Epidemiológica		Fecha de la toma de Muestra Hemática			No. del Caso	No. de la Lámina	Coordenadas geográficas de la Localidad		
M-10 Ficha de Investigación Epidemiológica de Casos de Malaria		Semana	Año	Día	Mes	Año			Latitud	Longitud	
I) DATOS GENERALES DEL PACIENTE											
Primer y segundo nombre		Primer y segundo apellidos		Sexo	Fecha de nacimiento			Edad (d,m,a)	Embarazada		
				<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	Día	Mes	Año		<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Dirección exacta de Residencia habitual (anotar el Municipio, Barrio o Comunidad)											
II) DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO / CONTROL DE CALIDAD											
Fecha del diagnóstico		Especie parasitaria identificada			Confirmación realizada por el SILAIS			Confirmación realizada por el CNDR			
Día Mes Año		<input type="checkbox"/> <i>P. vivax</i> <input type="checkbox"/> <i>P. falciparum</i> <input type="checkbox"/> Mixta			<input type="checkbox"/> Confirmado <input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Pendiente			<input type="checkbox"/> Error de conteo <input type="checkbox"/> Error de especie <input type="checkbox"/> Falso Positivo			
								<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No			
III) INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DEL CASO											
Estado febril de la persona			Fecha de inicio de los síntomas			Lugar de inicio de los síntomas (si éste es diferente al lugar de Residencia habitual)					
<input type="checkbox"/> Febril Actual (en los últimos 5 días) <input type="checkbox"/> Febril Reciente (en los últimos 30 días) <input type="checkbox"/> Asintomático			Día	Mes	Año	Barrio / Comunidad		Municipio (nacional)		Pais	
Escribir los lugares visitados 30 días antes del inicio de los síntomas y expuesto a las picaduras de mosquitos entre el anochecer y el amanecer o zona con malaria (detallar iniciando desde el viaje más reciente al más lejano)						Anotar la fecha del último día en el lugar visitado		No. de días de estancia en cada lugar		¿Habían personas con malaria o con fiebre?	
Barrio / Comunidad			Municipio (nacional) o País (viajes al extranjero)			Día	Mes	Año	SI NO N/S*		
¿Ha padecido de síntomas similares a los actuales en los últimos dos años? En caso afirmativo, especifique los sitios donde ha presentado estos mismos síntomas.						Fecha de inicio de los síntomas		No. de días de estancia en cada lugar		¿Ud. se auto-medicó?	
SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>										<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
										<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
										<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
										<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Barrio / Comunidad			Municipio (nacional) o País (viajes al extranjero)			Día	Mes	Año	SI	NO	P N SD**
										SI NO	

N/S* : No Sabe
SD** : Sin Diagnóstico

Anexo 11

Huracanes y Tormentas tropicales ocurridas en Nicaragua durante 2014-2020



Huracán Otto (2016)



Huracán Eta (2020)



Huracán Iota (2020)



Huracán Nate (2017)



Tormenta Tropical Hanna (2014)

Fuente: La Nueva Radio Ya digital, Jhonny Martínez, noviembre 2020

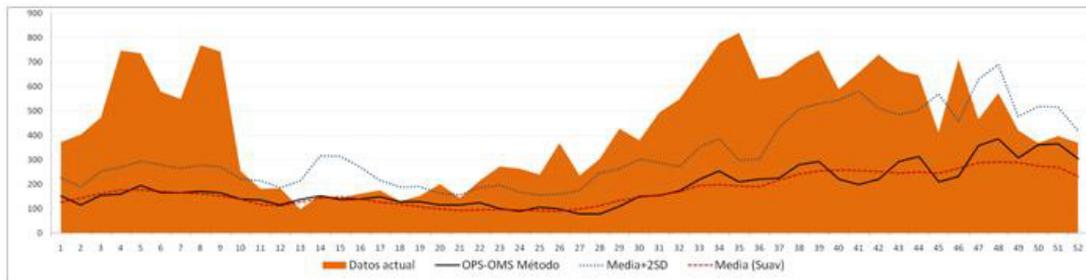
Anexo 12

Tablas y figuras de Objetivo 2

Dinámica de los brotes causados por *P. falciparum* y *P. vivax* ocurridos en Nicaragua de 2013 a 2020

Figura 20

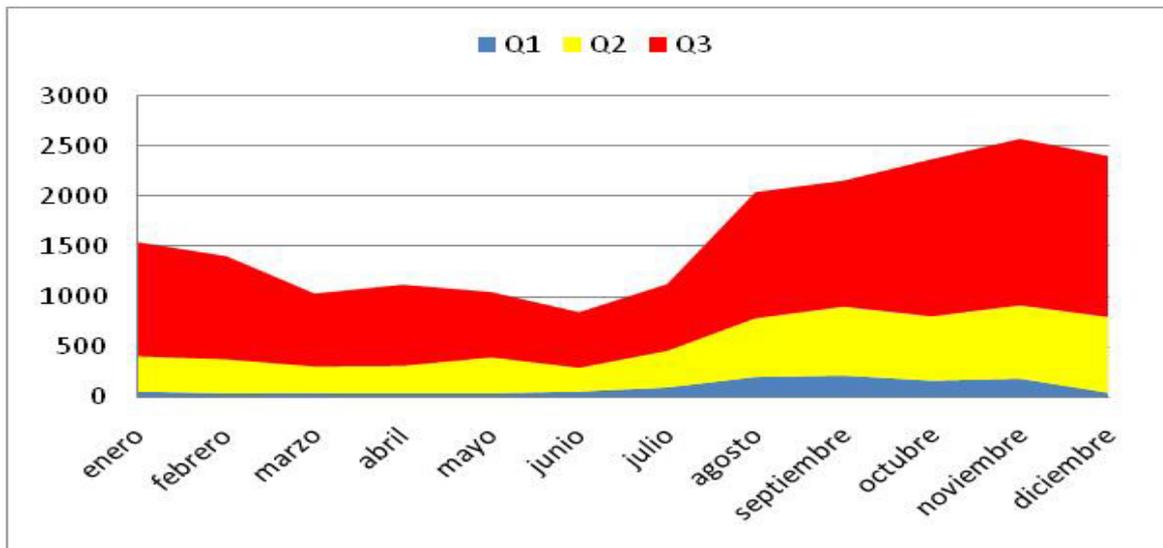
Canal endémico SILAIS DPE MINSA –OPS OMS 2013-2020



Fuente: Datos DPE MINSA 2020

Figura 21

Canal endémico SILAIS Bilwi por año 2013-2020



Fuente: Base secundaria estudio 2013-2020

Tabla 12

Brotos en estrato I Nicaragua 2013-2020

SILAIS	Municipio	Año	Número casos	Localidad	Sem. Epidem	Edad	Sexo	Etnia
Masaya	Masaya	2017	1	Jiquilillo	1	44	M	Mestizo
	Masaya		1	San Juan	33	32	M	Mestizo
	La Concepción		1	Reparto Covilaco	37	41	M	Mestizo
	La Concepción		1	Rodeo	38	51	M	Mestizo
Granada	Nandaime	2018	1	Javier Guerra	2	30	M	Mestizo
Madriz	Telpaneca	2017	1	Telpaneca	40	57	M	Mestizo

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
 Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 12 se describen los brotes ocurridos en los SILAIS con estrato I: Masaya municipios Masaya y La Concepción, Granada municipio Nandaime y Madriz municipio Telpaneca, registrados en los años 2017 y 2018.

Figura 22

SILAIS Masaya municipios Masaya y la Concepción



Fuente: MINSA 2021

Figura 23

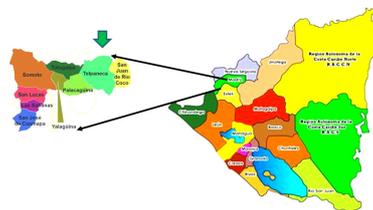
SILAIS Granada, municipio Nandaime



Fuente: MINSA 2021

Figura 24

SILAIS Madriz, municipio Telpaneca



Fuente: MINSA 2021

Tabla13*Estratificación del riesgo de malaria a nivel de municipio, Nicaragua 2019*

SILAIS	ESTRATO 1	ESTRATO 2	ESTRATO 3	ESTRATO 4	ESTRATO 5	TOTAL
Bilwi				1	2	3
Boaco		1	5			6
Carazo	6		2			8
Chinandega			7	6		13
Chontales	1		9			10
Estelí		1	5			6
Granada			4			4
Jinotega			6	2		8
Las Minas				4	1	5
León		1	9			10
Madriz			9			9
Managua	2		7			9
Masaya			9			9
Matagalpa			13	1		14
Nueva Segovia			12			12
RACCS				7		7
Río San Juan			3	3		6
Rivas			10			10
Zelaya Central		1	1	2		4
TOTAL	9	4	111	26	3	153

En la tabla 13 se muestran los 19 SILAIS ubicados por estratos ajustados a la nueva normativa de estratificación del riesgo en el país.

Tabla 14*Distribución de P. vivax y P. falciparum por SILAIS en estratos II Nicaragua 2013-2020*

SILAIS	2013-2015			2016-2018			2019-2020		
	<i>P.v</i>	<i>P.f</i>	Total	<i>P.v</i>	<i>P.f</i>	Total	<i>P.v</i>	<i>P.f</i>	Total
Chinandega	154	0	154	83	0	83	10	0	10
Jinotega*	86	1	87	247	44	291	105	70	175
Managua	10	4	14	16	8	24	0	0	0
Matagalpa	8	1	9	8	5	13	0	2	2
Estelí	1	0	1	2	2	4	0	0	0
Rio San Juan	1	0	1	23	7	30	14	113	127
Boaco	1	0	1	5	4	9	2	1	3
Total	261	6	267	384	70	454	131	186	317

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud DPE-MINSA

*Jinotega presento 1 caso sin dato en 2016-2018 y un mixto en 2019-2020

En la tabla 14 se presentan los 7 SILAIS con municipios en estrato II; Chinandega, Jinotega, Managua, Matagalpa, Estelí, Rio San Juan y Boaco, que fueron identificados con casos en el período de estudio 2013-2020.

Tabla 15

Brote municipios en estrato II controlados Nicaragua 2013-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
Managua	Managua	2013	1	P. v	53	M	Mestizo
	Ciudad Sandino		1		20	F	
	Managua	2015	9	5 P.v 4 P.f	21-40	6 M 3 F	Mestizo
			2016	2	P.v	24-42	
	Managua	2017	12	6 P.v 6 P.f	17-53	6 F 6 M	Mestizo Miskitu Mayagna Creole
			2018	3	P. v	31,26 y29	F
	Matagalpa	Matagalpa	2015	3	P. v	29-49-28	M
Rio Blanco		3		20-16-31		2F/M	Cacaopera
San Isidro		1		10		M	
Esquipulas		1		41		M	
Matiguas		1		P.f		29	F
Matagalpa		2016	1	P.v	25	M	
Waslala		2017	2	P. v	31-40	M / F	Miskitu
Matagalpa			3	2 P.v P.f	1,2 y 37	F	Mestizo Cacaopera
Waslala		2018	2	P. f	10 y 56	F	Cacaopera
Waslala		2019	2	P. f	11 y 62	F/M	
La Dalia	2020	1	P. v	48	M	Mestizo	
Estelí	Condega	2015	1	P. v	28		Miskitu
	Condega	2016	1	P. v	27		
	Estelí La Trinidad	2017	2	P.v/P.f	21-35	M	Mestizo

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 15 se observó que el SILAIS Managua con municipios en estrato II fue el que presentó el mayor número de casos autóctonos en los años 2015 y 2017, los SILAIS Matagalpa y Estelí son SILAIS municipios en estratos II y reportaron un caso después de no haber registro durante tres años seguidos los que se consideraron en brotes ver figura 16.

Figura 25

Municipios SILAIS Managua, Matagalpa y Estelí.



Fuente: MINSA 2021

Tabla 16

Chinandega municipios en estrato II Nicaragua 2013-2015

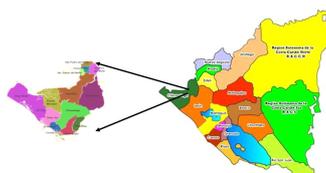
SILAIS	Municipios	Año	Casos	Especie	Edad rango más afectado	Sexo afectado	Etnia afectada	
Chinandega	El Viejo	2013	77	P. v	20 m-83 a	37 F 40 M	Mestizo	
	Chinandega		10			1-58		4 F 6 M
	Chichigalpa		4			12-30		2 F 2 M
	El Realejo		3			4, 21 y 30		3 F
	Posoltega		2			18 y 32		2 F
	Somotillo		2			16 y 49		2 F
	Puerto Morazán		1			14		M
	Santo Tomás		1			48		M
	El Viejo	2014	30	P. v	1-51	17 F 13 M		
	Chichigalpa		6			9-20		2 F 4 M
	El Realejo		3			7, 49 y 62		2 F 1 M
	Chinandega		2			24 y 11		1 F 1 M
	Puerto Morazán		1			24		1 M
	El Viejo	2015	4	P. v	12-25	1 F 3 M		
Chinandega	4		12-43			2 F 2 M		
Chichigalpa	2		12 y 66			2 F		
El Realejo	1		18			1 M		

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 16 se muestran los datos registrados del SILAIS Chinandega de 2013 a 2015 un total de ocho municipios: El viejo, Chinandega, Chichigalpa, El Realejo, Posoltega, Somotillo, Puerto Morazán y Santo Tomás, registraron casos autóctonos de paludismo su ubicación se puede ver en la figura 26.

Figura 26

SILAIS Chinandega municipios



Fuente: MINSA 2021

Tabla 17

Chinandega municipios en estrato II Nicaragua 2016-2018

SILAIS	Municipios	Año	Casos	Especie	Edad rango más afectado	Sexo afectado	Etnia afectada
Chinandega	El Viejo	2016	7	P. v	2-30	5 F 2 M	Mestizo
	El Realejo		4		10-15	2 F 2 M	
	Chinandega		2		13-17	2 M	
	El Viejo	2017	31	P. v	1-45	14 F 17 M	
	Chichigalpa		3		5,8 y 19	3 F	
	El Realejo		1		38	1 M	
	El Viejo	2018	26	P. v	4-79	9 F 17 M	
	Puerto Morazán		6		6-50	3 F 3 M	
	Chinandega		3		17, 34 y 41	3 F	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 17 se registran los datos de casos autóctonos de paludismo de los años 2016 al 2018 de cinco municipios del SILAIS Chinandega en los que se reportaron un total de 82 casos.

Tabla 18

Chinandega municipios en estrato II Nicaragua 2019-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo afectado	Etnias afectadas
Chinandega	El Viejo	2019	7	P. v	13 a 77	8M/1F	Mestizo
	El Realejo		1				
	Chinandega		1				
	El Viejo	2020	1	P. v	20	F	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 18 se registran datos de casos autóctonos de paludismo de los años 2019 y 2020 de cuatro municipios del SILAIS Chinandega en la que se reportaron un total de 10 casos.

Tabla 19

Jinotega municipios en estratos II Nicaragua 2013-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo afectado	Etnias afectadas
Jinotega	San José de Bocay	2013	12	<i>P.v</i>	2-52	8F/4M	Mayangna Miskitu Mestizo
		2014	35	<i>P.v</i>	0-65	21M/14F	
	El Cuá	2015	38	37 <i>P.v</i> 1 <i>P.f</i>	2-50	21F/17M	
			1	<i>P.v</i>	60	F	
	Jinotega	1	<i>P.v</i>	7	F		
	San José de Bocay	2016	168	138 <i>P.v</i> 30 <i>P.f</i>	0 a más 60	97M/71F	
			El Cuá	2	<i>P.f</i>	53 y 21	
	San José de Bocay	2017	49	42 <i>P.v</i> 7 <i>P.f</i>	2-56	27F/22M	
			Jinotega	1	<i>P.v</i>	14	
	San José de Bocay	2018	70	65 <i>P.v</i> 5 <i>P.f</i>	1-64	36F/34M	
			2019	4	<i>P.v</i>	5,22,40 y 58	
	Alto Wanky	2020	29	<i>P.v</i>	0-40	16M/13F	
			142	71 <i>P.v</i> 70 <i>P.f</i> 1 Mixto	0-70	93M/49F	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021
Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 19 se muestra que el año que más casos autóctonos registró el SILAIS Jinotega fue el 2016 en el que se observó un total de 170 casos autóctonos en el municipio de San José de Bocay, de los que 138 casos fueron causados por *P. vivax* y 32 por *P. falciparum*.

Figura 27

Municipios con casos paludismo SILAIS Jinotega



En la figura 27 se presentan los municipios de Jinotega que registraron casos autóctonos durante el período de estudio 2013-2020, San José de Bocay, El Cuá, Jinotega y el Alto Wanky,

Tabla 20

Rio San Juan y Boaco municipios en estrato II Nicaragua 2013-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especi e	Edad Rango más afectado	Sexo afectado	Etnias afectadas
Rio San Juan	San Carlos	2014	1	<i>P. v</i>	20	M	Mestizo
	San Juan de Nicaragua	2016	19	<i>P. v</i>	4- a mas de 60	10M/9F	Mestizo Rama
	San Carlos	2017	6	<i>P. f</i>	9-59	3 M/3 F	
			1	<i>P. f</i>	25		
			4		43,20,17,22	M	
	El Castillo		1		19		
	San Juan de Nicaragua	2019	6	<i>P. v</i>	29 a más de 60	3F/3M	
	San Carlos		9	3 <i>P. v</i> 6 <i>P. f</i>	17 a más de 60	6F/3M	Mestizo
			109	107 <i>P. f</i> 2 <i>P. v</i>	7 a más de 60	58 M/49 F	
	El Castillo	2020	1		28-40	M	
El Almendo		1	<i>P. v</i>	23	F		
			1	<i>P. v</i>	20	M	
Boaco	Camoapa	2015	1		29	M	-
	Teustepe		2		51 y 56	F/M	
	Santa Lucia	2016	2	<i>P. v</i>	56 y 51	F/M	
	Boaco		3	2 <i>P. f</i> <i>P. v</i>	15 y 60	2F/M	
	Camoapa	2017	1		37		
	Santa Lucia		1	<i>P. f</i>	51	M	Mestizo
	Boaco	2019	1	<i>P. v</i>	37		
	Camoapa	2020	1	<i>P. f</i>	40	F	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 20 se muestran los registros de los casos autóctonos de paludismo que reportaron los SILAIS Rio San Juan y Boaco (figuras 28 y 29), durante el período de estudio 2013-2020, ambos SILAIS tienen municipios en estrato II.

Figura 28

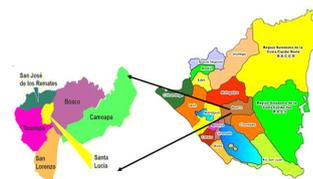
SILAIS Rio San Juan, municipios



Fuente: MINSA 2021

Figura 29

SILAIS Boaco, municipios



Fuente: MINSA 2021

Tabla 21

SILAIS Bilwi municipios con alta trasmisión 2013-2015

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
BILWI	Waspán	2013	365	234 <i>P.v</i> 129 <i>P.f</i> 2sd	1 mes a 80	208F 157M	Mestizo Miskitu
	Puerto Cabezas		121	105 <i>P.v</i> 15 <i>P.f</i> 1sd	6 meses a 87	69M 51 F	
	Prinzapolka		26	11 <i>P.v</i> 15 <i>P.f</i>	7 mese a 56	11 M 15 F	
	Waspán	2014	273	224 <i>P.v</i> 48 <i>P.f</i> 1sd	1 mes a 64	116 F 155 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Puerto Cabezas		136	107 <i>P.v</i> 29 <i>P.f</i>	2 a 76	66 M 70F	Mestizo Miskitu
	Prinzapolka		61	50 <i>P.v</i> 11 <i>P.f</i>	3 meses a 56	42M 19F	
	Waspán	2015	390	248 <i>P.v</i> 142 <i>P.f</i>	6 meses a 96	200 F 190 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Puerto Cabezas		697	585 <i>P.v</i> 111 <i>P.f</i> 1 mixto	1 mes 87	329 M 368 F	Mestizo Miskitu
	Prinzapolka		334	291 <i>P.v</i> 43 <i>P.f</i>	11 meses 70	169 M 165 F	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 21 se registran la distribución de los casos de paludismos por municipios en el período de 2013 a 2015 en los municipios del SILAIS Bilwi: Waspán, Puerto Cabezas y Prinzapolka que al ser evaluados no entran en la descripción de brotes, pero se detallan para tener un basal de la zona de alta transmisión.

Tabla 22

SILAIS Bilwi municipios con alta transmisión 2016-2018

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
BILWI	Waspán	2016	684	523 P.v 159 P.f 1 mixto 1sd	5 meses a 93	339 M 345 F	Mayangna Mestizo Miskitu
	Puerto Cabezas		2448	2104 P.v 273 P.f 8 mixto 63 sd	1 mes a 99	1290 F 1157 M 1sd	Mayangna Mestizo Miskitu
	Prinzapolka		227	177 P.v 44 P.f 1 mixto 4sd	1 a 78	113 F 114 M	Y otras etnias
	Puerto Cabezas	2017	7945	7047 P.v 874 P.f 24 mixto	1 mes a 97	4014 F 3931 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Waspán		755	593 P.v 160 P.f 2 mixto	11 meses a 90	391 M 364 F	Y otras etnias
	Prinzapolka		343	264 P.v 78 P.f 1 mixto	1 mes a 98	182 M 161 F	Mayangna Mestizo Miskitu
	Puerto cabezas	2018	13432	12691 P.v 700 P.f 41 mixto	1 día a 103	6780 F 6652 M	Mayangna Mestizo Miskitu Y otras etnias
	Waspán		999	804 P.v 191 P.f 4 mixto	1 a 89	454 F 545 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Prinzapolka		269	199 P.v 66 P.f 4 mixto	1 a 128	149 M 120 F	Mestizo Miskitu

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 22 se registran los casos autóctonos de paludismo ocurridos durante el período de 2016 al 2018 en los municipios Waspán, Puerto Cabezas y Prinzapolka del SILAIS Bilwi.

Tabla 23

SILAIS Bilwi municipios con alta transmisión 2019-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
BILWI	Puerto Cabezas	2019	10,757	8894 <i>P.v</i> 1753 <i>P.f</i> 110 <i>mixto</i>	21 días a 105 años	5703 F 5054 M	Mayangna Mestizo Miskitu Y otras etnias
	Waspán		1,148	883 <i>P.v</i> 261 <i>P.f</i> 4 <i>mixto</i>	8 meses a 84 años	568 F 580 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Prinzapolka		321	245 <i>P.v</i> 70 <i>P.f</i> 6 <i>mixto</i>	3 meses a 85	172 F 149 M	Mayangna Mestizo Miskitu Y otras etnias
	Puerto cabezas	2020	18,243	10104 <i>P.v</i> 7448 <i>P.f</i> 691 <i>mixto</i>	7 días a 107	9436 F 8807 M	Mayangna Mestizo Miskitu Y otras etnias
	Waspán		4,678	2143 <i>P.v</i> 2430 <i>P.f</i> 105 <i>mixto</i>	1 a 97	2275 F 2403 M	
	Prinzapolka		783	457 <i>P.v</i> 304 <i>P.f</i> 22 <i>mixto</i>	7 meses a 90	373 F 410 M	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 23 se registran los casos autóctonos de paludismo ocurridos durante el período de 2019 y 2020 en los municipios Waspán, Puerto Cabezas y Prinzapolka del SILAIS Bilwi, que después de la evaluación fueron considerados en brotes.

Tabla 24

SILAIS Las Minas municipios con altas trasmisión 2013-2015

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
Las Minas	Bonanza	2013	110	109 P.v 1 P.f	4 meses a 56 años	44 F 66 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Rosita		206	198 P.v 8 P.f	28 meses a 83 años	104 F 102 M	
	Siuna		18	6 P.v 12 P.f	8 meses a 66 años	6 F 12 M	
	Mulukukú		1	P. v	1 mes	M	
	Bonanza	2014	43	43 P. v	4 a 74	15 F 28 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Rosita		227	214 P. v 13 P. f	20 días a 75	124 F 103M	
	Siuna		10	10 P.v	3 a 34	5 F 5 M	
	Mulukukú		2	P. v	8 Y 15	2F	
	Bonanza	2015	42	39 P. v 3 P. f	1 a 67	25 M 17 F	Mayangna Mestizo Miskitu
	Rosita		334	319 P. v 13 P. f 2 mixta	1 a 97 años	180 M 154 F	
	Siuna		43	39 P. v 4 P. f	1 a 67 años	22 F 21 M	
	Mulukukú		10	P. v	14 a 58	6 F 4 M	

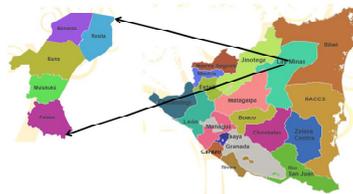
Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 24 se registran la distribución de los casos autóctonos de paludismos por municipios en el período de 2013 a 2015 en los municipios del SILAIS Las Minas: Bonanza, Rosita, Siuna y Mulukukú (figura 30).

Figura 30

SILAIS Las Minas, municipios



Fuente: MINSA 2021

Tabla 25

SILAIS Las Minas municipios con altas trasmisión 2016-2018

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
Las Minas	Bonanza	2016	130	104 P. v	11 meses a 63 años	67 F	Mayangna
				25 P. f		63 M	
	Rosita	2016	1,285	819 P. v	2 meses a 107 años	688 F	Mestizo
				459 P. f		596 M	
	Siuna	2016	137	77 P. v	1 a 83 años	58 F	Mayangna
				60 P. f		78 M	
	Mulukukú	2016	29	24 P. f	2 a 67 años	22 F	Mestizo
				5 P. v		7 M	
	Bonanza	2017	126	107 P. v	1 a 65 años	62 F	Mayangna
				18 P. f		64 M	
	Rosita	2017	1,142	573 P. v	2 meses 89 años	512 F	Mayangna
				563 P. f		630 M	
Siuna	2017	365	101 P. v	10 meses a 77 años	184 F	Mayangna	
			263 P. f		181 M		
Mulukukú	2017	16	15 P. f	3-89 años	16 M	Mestizo	
Paiwas	2017	2	1 P. v				
			2 P. v	26 años	2 M		
Bonanza	2018	171	153 P. v	11 meses a 64 años	100 M	Mayangna	
			18 P. f		71 F		
Rosita	2018	636	414 P. v	1 a 78 años	283 M	Mayangna	
			222 P. f		353 F		
Siuna	2018	211	121 P. v	2 a 78 años	86 F	Mestizo	
			90 P. f		125 M		
Mulukukú	2018	23	15 P. f	4 a 42 años	6 F	Mestizo	
			8 P. v		17 M	Miskitu	
Paiwas	2018	10	9 P. f	3 a 69 años	5 F	Mestizo	
			1 P. v		5 M		

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 25 se registra la distribución de los casos de paludismos por municipios en el período de 2016 a 2018 en los municipios del SILAIS Las Minas: Bonanza, Rosita, Siuna, Mulukukú y Prinzapolka (figura 30).

Tabla 26

SILAIS Las Minas municipios con altas trasmisión 2019-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
Las Minas	Bonanza	2019	212	201 <i>P. v</i> 10 <i>P. f</i> 1 <i>mixto</i>	1 a 68 años	94 F 118 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Rosita		356	258 <i>P. v</i> 96 <i>P. f</i> 2 <i>mixto</i>	9 meses a 84 años	161 F 195 M	
	Siuna		91	71 <i>P. v</i> 20 <i>P. f</i>	2 a 74 años	44 F 47 M	
	Mulukuku		6	5 <i>P. v</i> 1 <i>P. f</i>	9 a 36 años	1 F 5 M	Mestizo
	Paiwas		3	<i>P. v</i>	13,18 y 21	2 F 1M	
	Bonanza		2020	460	273 <i>P. v</i> 179 <i>P. f</i> 8 <i>mixto</i>	8 meses a 85 años	204 F 256 M
	Rosita	332		197 <i>P. v</i> 130 <i>P. f</i> 5 <i>mixtos</i>	1 meses 86 años	165 F 167M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Siuna	73		62 <i>P. v</i> 11 <i>P. f</i>	1 a 70 años	34 F 39 M	Mayangna Mestizo Miskitu
	Mulukuku	3		3 <i>P. v</i>	24, 39 y 64 años	3 M	Mestizos
	Paiwas	1		<i>P. f</i>	15 años	M	

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la Tabla 26 se registran la distribución de los casos de paludismos en los municipios del SILAIS Las Minas: Bonanza, Rosita, Siuna, Mulukukú, Prinzapolka y Paiwas por municipios en el periodo de 2019 a 2020 (figura 30).

Tabla 27

SILAIS RACCS municipios con altas trasmisión 2013-2015

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
RACCS	Bluefields	2013	1	1 P. v	18 años	1F	Miskitu
	Desem. Rio Grande		18	17 P. v 1 P. f	7 a 38 años	12 F 6 M	Miskitu Mayangna Creole
	El Tortuguero		4	4 P. v	4 y 13 años	4 F	Mestizo
	Desem. Rio Grande	2014	38	37 P. v 1 P. f	6 a 62 años	19 F 19 M	Mestizo Miskitu
	El Tortuguero		11	11 P. v	3 a 38 años	5 F 6 M	Mestizos
	La Cruz de Rio Grande		3	2 P. v 1 P. f	3,1 y 14 años	1 F 2 M	
	Laguna de Perlas		11	11 P. v	8 a 40 años	2 F 9 M	Miskitu Creole
	Bluefields	2015	10	10 P. v	14 a 64 años	3 F 7 M	Mestizo Miskitu Creole
	Desem. Rio Grande		19	19 P. v	7 a 51 años	13 F 6 M	Mayangna Miskitu Mestizo Ulwa
	El Tortuguero		10	10 P. v	2 a 60 años	5 F 5 M	Mestizo
	La Cruz de Rio Grande		22	22 P. v	5 a 40 años	8 F 14 M	
	Laguna de Perlas		201	201 P. v	4 meses a 87 años	89 F 112 M	Mestizo Miskitu Otras etnias

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

La tabla 27 presenta los datos del SILAIS RACCS de los casos autóctonos de paludismo que se registraron en los años 2013 a 2015 de los municipios: Bluefields, Desembocadura de Rio Grande, El Tortuguero, La Cruz de Rio Grande y Laguna de Perlas (figura 28).

Figura 31

SILAIS RACCS, municipios



Fuente: MINSA 2021

Tabla 28

SILAIS RACCS municipios con altas trasmisión 2016-2018

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
RACCS	Bluefields	2016	17	14 P. v 3 P. f	7 a 66 años	7 F 10 M	Mestizo Miskitu Creole
	Corn Island		1	1 P. v	55 años	1 M	Miskitu
	Desem. Rio Grande		121	112 P. v 9 P. f	1 a 79 años	56 F 65 M	Mayangna Miskitu Mestizo Otras etnias
	El Tortuguero		2	2 P. v	10 y 29 años	2 M	Mestizo
	Kukrahill		22	22 P. v	8 a 58 años	3 F 19 M	Mestizo Miskitu Otras etnias
	La Cruz de Rio Grande		33	28 P. v 5 P. f	2 y 70 años	12 F 21 M	Mestizo
	Laguna de Perlas		130	130 P. v	1 y 83 años	61 F 69 M	Miskitu
	Bluefields	2017	13	8 P. v 5 P. f	6 a 26 años	19 F 19 M	Mestizo Miskitu
	Corn Island		1	P. v	16 años	M	Mestizo
	Desem. Rio Grande		55	54 P. v 1 P. f	6 a 74 años	18 F 37 M	Mayangna Mestizo Miskitu Otras etnias
	El Tortuguero		13	13 P. v	5 a 73 años	7 F 6 M	Mestizos
	Kukrahill		1	P. v	29 años	M	
	La Cruz de Rio Grande		55	51 P. v 4 P. f	1 a 72 años	19 F 32 M	Mestizo Miskitu
	Laguna de Perlas		13	13 P. v	2 a 85 años	9 F 4 M	Miskitu Mestizo Creole
	Bluefields	2018	12	12 P. v	18 a 49 años	8 F 4 M	Mestizo Miskitu Creole
	Corn Island		4	P. v	16,21,13 y 12	2 F 2 M	Mestizo Miskitu
	Desem. Rio Grande		11	19 P. v	13 a 14 años	2 F 9 M	Miskitu Mestizo Otras etnias
	El Tortuguero		5	5 P. v	9 a 74 años	1 F 4 M	Mestizo
	La Cruz de Rio Grande		10	10 P. v	6 a 67 años	10 M	
	Laguna de Perlas		8	7 P. v 1 P. f	4 a 42 años	5 F 3 M	Mestizo Miskitu

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 28 se muestran los municipios del SILAIS RACCS que presentaron casos autóctonos de paludismo durante los años de 2016 a 2018: Bluefields, Corn Island, Desembocadura de Rio Grande, El Tortuguero, Kukrahill, La Cruz de Rio Grande y Laguna de Perlas, (figura 31).

Tabla 29

SILAIS RACCS municipios con altas trasmisión 2019-2020

SILAIS	Municipio	Año	Casos	Especie	Edad Rango más afectado	Sexo más afectado	Etnia más afectada
RACCS	Bluefields	2019	11	9 <i>P.v</i> 2 <i>P.f</i>	8 a 53 años	4 F 7 M	Mestizo Miskitu
	Corn Island		6	6 <i>P.v</i>	15 a 58 años	1 F 5 M	Mestizo Miskitu Creole
	Desem. Rio Grande		39	35 <i>P.v</i> 4 <i>P.f</i>	3 a 49 años	15 F 24 M	Miskitu Mestizo Otras etnias
	Kukrahill		2	1 <i>P.v</i> 1 <i>P.f</i>	20 a 44 años	2 M	Mestizo Miskitu
	La Cruz de Rio Grande		4	4 <i>P.v</i>	22 a 28 años	1 F 3 M	Mestizo Miskitu
	Laguna de Perlas		180	7 <i>P.v</i> 173 <i>P.f</i>	1 y 86 años	82 F 98 M	Mestizo Miskitu Otras etnias
	Bluefields	2020	38	16 <i>P.v</i> 20 <i>P.f</i> 2 <i>mixto</i>	1 a 68 años	13 F 25 M	Mestizo Miskitu Creole
	Corn Island		19	17 <i>P.v</i> 2 <i>P.f</i>	7 a 69 años	8 F 11 M	Mestizo Miskitu
	Desem. Rio Grande		198	60 <i>P.v</i> 138 <i>P.f</i>	1 a 78 años	96 F 102 M	Mayangna Mestizo Miskitu Otras etnias
	Kukrahill		21	1 <i>P.v</i> 20 <i>P.f</i>	7 a 71 años	14 F 7 M	Miskitu Mestizo
	La Cruz de Rio Grande		6	5 <i>P.v</i> 1 <i>P.f</i>	14 a 43 años	4 F 2 M	Miskitu Mestizo
	Laguna de Perlas		392	4 <i>P.v</i> 388 <i>P.f</i>	1 a 84 años	190 F 202 M	Miskitu Mestizo Otras etnias

Diseño propio MSc. Betzabé Rodríguez 2021

Fuente: Base de Datos Ministerio de Salud Nicaragua DPE-MINSA

En la tabla 29 se registran los municipios del SILAIS RACCS que presentaron casos autóctonos de paludismo durante los años de 2019 y 2020: Bluefields, Corn Island, Desembocadura de Rio Grand, Kukrahill, La Cruz de Rio Grande y Laguna de Perlas,

ANEXO 13

Tablas y figuras del objetivo 3

Línea base de los genotipos encontrados en *P. falciparum* y *P. vivax* a partir de resultados de estudios moleculares y vigilancia a la resistencia de los antipalúdicos realizados en Nicaragua durante 2013 a 2020.

Tabla 30

Frecuencias de alelos de resistencia en el estudio de eficacia de fármacos in vivo en la Región Autónoma del Atlántico Norte, Nicaragua, 2005-2006

Gene (puestos clave)	Alelos	Municipio		Total, no. (%)
		Siuna, No. (%)	Rosita, No. (%)	
<i>pfcr</i> (72, 73, 74, 75, 76)	CVMNK [†]	35 (97,2)	16 (94,1)	51 (96,2)
	CV IET	1 (2,8)	1 (5,9)	2 (3,8)
	Total	36	17	53
<i>pdhfr</i> (50, 51, 59, 108, 164)	CNCS [†]	33 (94,3)	17 (100)	50 (96,2)
	CNC N I	1 (2,85)	0 (0)	1 (1,9)
	C IRN I	1 (2,85)	0 (0)	1 (1,9)
	Total	35	17	52
<i>pdhps</i> (436, 437, 540, 581, 613)	SAKA [†]	35 (97,2)	13 (100)	48 (97,9)
	S G KAA	1 (2,8)	0 (0)	1 (2,1)
	Total	36	13	49

Fuente: Sankar Sridaran et al. Am J Trop Med Hyg. 7 de mayo de 2014; 90(5): 840-845

En la tabla 30 se presentan los resultados del estudio molecular de la vigilancia en los Sitios Centinela del SILAIS Las Minas, Siuna y Rosita de 2005 y 2006 en muestras hemáticas en papel filtro de pacientes con *P. falciparum*, para la búsqueda de mutaciones en los genes *pfcr*, *Pfdhfr* y *pdhps* con el objetivo de evaluar la resistencia a los antimaláricos, Cloroquina, Sulfadoxina y Pirimetamina que son utilizados en Nicaragua.

Tabla 31

Genotipos de aislamientos de parásitos con alelos de resistencia estudio de eficacia de fármacos in vivo RAAN Nicaragua 2005-2006

Aislados	Lugar	Alelos		
		<i>pfcr</i>	<i>pdhfr</i>	<i>pdhps</i>
Tipo silvestre		CVMNK	CNCSI	SAKAA
Aislado 1	Rosita	CV IET	CNCSI	SAKAA
Aislado 2	Siuna	CV IET	C IRNI	SGKAA
Aislado 3	Siuna	CVMNK	CNC NI	SAKAA

Fuente: Sankar Sridaran et al. Am J Trop Med Hyg. 7 de mayo de 2014; 90(5): 840–845

En la tabla 31 se presenta como estaban distribuidos los alelos de resistencia en los genes *pfcr*, *pdhfr* y *pdhps* de las muestras de Rosita y Siuna que amplificaron los alelos mutantes.

En resumen este estudio de fármaco vigilancia realizados en el país en los años 2005-2006 al *P. falciparum* donde se comenzó a incursionar en la vigilancia a los antimaláricos y se reportó el hallazgo de alelos mutantes en tres muestras procedentes del SILAIS Las Minas de los municipios Rosita, Bonanza y Siuna, al evaluar los marcadores *pfcr*, *pdhfr* y *pdhps* para detectar resistencia a CQ, PQ y SP, una cepa presentó un alelo mutante a la resistencia de CQ, otra para PS y la tercera presentó dos alelos mutantes para PQ, sin embargo los pacientes no presentaron problemas con el esquema de tratamiento, según el registro encontrado por el Ministerio de Salud.

Tabla 32

Evaluación de genes pfcr1, pfdhfr y pfdhps en muestras de la vigilancia a los antimaláricos de la región Atlántico Norte, Nicaragua 2011-2012

Gen y posición	Alelos	Total n (%)
<i>Pfcr1</i> (CQ resistencia)	CVMNK	45 (100%)
(72, 73, 74, 75, 76)	CV <u>ET</u>	0 (0%)
<i>Pfdhfr</i> (pyrimethamine resistencia)	CNCSI	45 (100%)
(50, 51, 59, 108, 164)	Mutación	0 (0%)
<i>Pfdhps</i> (sulphadoxine resistencia)	SAKAA	45 (100%)
(436, 437, 540, 581, 613)	Mutación	0 (0%)

Fuente: Rodríguez *et al* 2013 Amé. Soc. Trop. Hyg. Poster

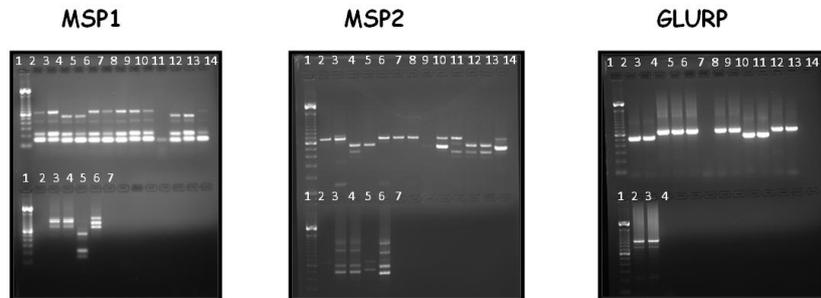
En la tabla 32 se pueden observar el resultado de las evaluaciones de los genes *pfcr1*, *pfdhfr* y *pfdhps*, en 45 muestras de pacientes de la RAAN con *P. falciparum* de los años 2011 y 2012 en las que se aprecia que todas las muestras amplificaron para los alelos silvestre o salvajes por lo que no se encontraron alelos de resistencia a la Cloroquina, Sulfadoxina y Pirimetamina en las 45 muestras evaluadas.

Evaluación de la variación genética *msh1*, *msh2* y *GLURP* en *P. falciparum*

El uso de los genes *msh1*, *msh2* y *GLURP*, se han descrito como de utilidad para evaluar la múltiple infección, variabilidad genética del *P. falciparum* y diferenciar entre nuevas infecciones de recrudescentes.

Figura 32

Genes msp1, msp2 y GLURP vigilancia a los antimaláricos en la región Atlántico Norte, 2011-2012



Fuente: Ministerio de Salud, CNDR-Dpto. Malaria 2012 y Laboratorios Malaria CDC, resultados de vigilancia a los antimaláricos datos no publicados.

En la figura 32 se muestran los resultados de las amplificaciones del ADN de parásitos de *P. falciparum* en muestras de la Región Atlántico de Nicaragua para los genes *msp1*, *msp2* y *GLURP*.

Se amplificaron 45, de las que 34 correspondían a muestras del año 2011 y 11 muestras a una parte del 2012, procedentes del SILAIS Bilwi: Waspán (15), Puerto Cabezas (1) y Prinzapolka (6) y del SILAIS Las Minas: Siuna (15), Rosita (5) y Bonanza (3), las muestras hemáticas en papel filtro las que correspondían a dos diferentes días desde el inicio de la infección, Día cero (D0) inicio de la infección con diagnóstico, y Día tres (D3), sólo una muestra de Siuna presentó tres muestras D0, D3 y D7 que correspondía al séptimo día después de la infección y con tratamiento.

Las muestras amplificaron para los genes *msp1*; RO33 y MAD20 (335,183,202,380 pb), *msp2*; 3D7 (327pb) y *GLURP* (880-1000pb), en el gel se muestran una parte de estos resultados las que están dispuestas en las mismas posiciones en los tres geles en la parte superior del gel se ubicaron en el pozo 1 escalera de 100 pb y después las muestras correspondiente a Puerto Cabezas D0 y D3, pozos 2 y 3, Rosita D0 y D3, pozos 4 y 5 Waspán D0 y D3, pozos 6 y 7, Prinzapolka D0 y D3, pozos 8 y 9, Bonanza D0 y D3, pozos 10 y 11, Siuna D0, D3 y D7, pozos 12, 13 y 14, en la parte inferior del gel para *msp1* y *msp2* se ubicaron controles negativos pozo 2

y 7 y positivos 3 al 6 para cada gen, sólo en el gel de *glurp* se pusieron dos controles positivos, pozos 2 y 3 y un negativo pozo 4.

Para *msp1*, este gen lo asocian a múltiples infecciones, se observan muchas bandas, a excepción de la muestra de Bonanza D3 en el pozo 11 y Siuna D7 en el pozo 14, para *msp2* todos amplificaron con señal fuerte a excepción de Prinzapolka que presentó una señal muy débil en el pozo 9 y para *glurp*, todas las muestras amplificaron a excepción de la muestra de Waspán y Siuna, en los pozos 7 y 14 respectivamente, *msp2* y *glurp* muy asociados a la diversidad genética y para diferenciar infecciones nuevas de recrudescencia como el caso de *glurp*, para las muestras de estudio no se observó variabilidad genética.

Las 34 muestras amplificaron policlonal para *msp1* en D0 y en D3 únicamente, una muestra en D3 de Bonanza y otra en D7 Siuna no amplificaron múltiples bandas, para *msp2*, 34 muestras amplificaron para D0, en este gen una muestra amplificó una señal débil en D3, para el gen *glurp* todas las muestras amplificaron en D0 sólo Waspán y Siuna en D3 y D7 no amplificaron nada, estos dos genes amplificaron monoclonal.

Línea de base de *P. vivax*

Se evaluaron el gen de la proteína del circumsporozoíto CSP a través de PCR-RFLP muestras hemáticas en papel filtro positivas a *P. vivax* colectadas en zonas endémicas de este plasmodio de agosto de 2006 a diciembre de 2007, esta proteína posee una región repetitiva central y dos dominios conservados para los que se han descrito dos fenotipos el VK210 y VK247, en los resultados de estudios realizados por investigadores en México han descrito que VK210 está en alguna proporción vinculada a la proteína de superficie del oocineto, y VK247 a la infección del vector

Tabla 33

Frecuencia de los fenotipos del CSP en muestras de P. vivax procedentes de Chinandega, Nicaragua 2006-2007

Municipio	No muestra	RFLP(CSP-CRR)	
		VK210	VK247
El Viejo	15	15	0
El Realejo	6	6	0
Chichigalpa	9	9	0
Chinandega	5	5	0
Posoltega	2	2	0

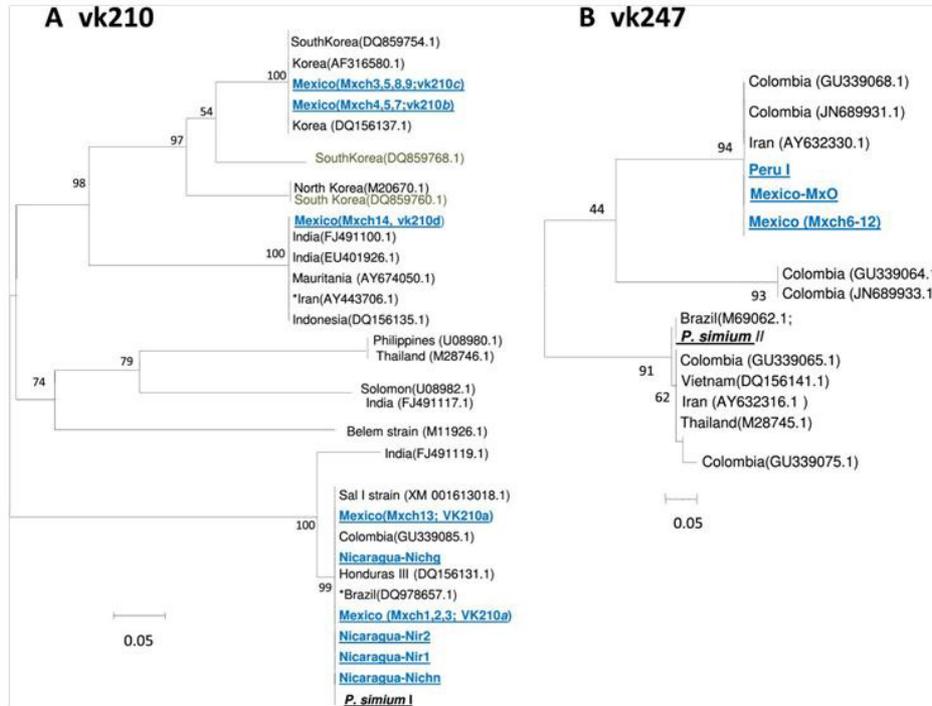
Fuente: González-Cerón et al. Malaria Journal 2013, 12:243

En la tabla 33 se observa el análisis de 37 muestras en papel filtro que fueron colectadas en el SILAIS Chinandega, de los Municipios Chinandega, Chichigalpa, El Viejo, Posoltega y El Realejo, tomadas entre agosto de 2006 y diciembre 2007.

Se identificó sólo la variante VK210, en las muestras de parásitos de Nicaragua lo que sugiere una baja prevalencia o inexistencia de CSP vk247, se encontraron además seis subtipos (a, b, c, d, e, f) de los cuales tres se encontraron en las muestras de Nicaragua y uno de ellos predominó la variante VK210a y las menos frecuentes fueron la e y la f en la que concluyeron podrían estar relacionadas a las altas migraciones de las poblaciones y a la competencia vectorial a los del subtipo a *Anopheles pseudopuntipennis* para México y *Anopheles albimanus* para Nicaragua.

Figura 33

Relación filogenética región terminal 3' del circumsporozoito de P. vivax



Fuente: González-Cerón *et al* Malar J 12, 243 (2013).

En la figura 33 se puede observar, en azul, en el árbol filogenético, de 37 muestras 20 presentaron subtipos VK210a, 12 VK210e y 5 VK210f, mostrando resultados muy consistentes con los de otros países en Latino América.

Los subtipos obtenidos de las secuencias CSP vk210 b y c obtenidos de México se agrupan a las variantes de corea y la vk210 d se agrupa con la secuencia de parásitos de otras regiones que no son de Latinoamérica, en la variante vk247 no hubo variación genética, pero en los genotipos CSP vk210 del sur de México y Nicaragua si se detectó variación genética, la variante vk210a tanto de Nicaragua como la de México son muy similares a la que presentaron estudios realizados con parásitos en Estados Unidos, las otras variantes, vk210 b, c y d no eran frecuentes y su dominio ANKKAEDA en su extremo carboxilo se asociaba más a los aislados asiáticos. Mostrando los aislados vk210a un patrón geográfico agrupado heterogéneo que separa los aislados de Latinoamérica de los otros continentes.

Polimorfismo del gen *pymdr1* en *Plasmodium vivax*

Tabla 34

Polimorfismo del gen y la proteína del Plasmodium vivax mdr-1 de diferentes sitios de Mesoamérica

fragmento de gen (codones)	444-580 ^{NT11330-1740}				923-1105 ^{NT276-338}			
	(Número de codón) codón/código de aminoácido de una letra							
Número de codón	(500)	(529)	(927)	(958)	(976)	(1021)	(1070)	(1076)
Sal I secuencia *	at/D	aca/T	gca/A	acg/T	tac/Y	ttc/F	ttc/F	ttt/F
	a./N	..g/T	a./T	.t./M	.t./F	..t/F	c../L	c../L
	n				n			
	Frecuencia (%) de los cambios de nucleótidos							
Sur de México, 2008-11	74	0	97.3	64	0	96.8	0	4.6 ^a 3.2 ^b 0
Nicaragua								
NE, 2011-12	66	0	59.1	65	24.6	95.4	63.1	93.8 3.1 ^c 86.1
NO, 2012	16	100	0	18	0	100	100	100 0 100
NO, 2006-7	7	28.5	57.1	8	0	87.5	62.5	37.5 0 62.5
Muestras totales	163				155			

Fuente: González-Cerón et al Malaria Journal 2017 Jul 1;16(1):261.

Nomenclatura de símbolos: NE Noreste de Nicaragua, NO Noroeste de Nicaragua, n número de aislamientos, D ácido aspártico, T treonina, A alanina, Y tirosina, F fenilalanina, N asparagina, M metionina, L leucina, Sal I secuencia de la cepa; XM001613678

En la tabla 34 se presentan los resultados de las evaluaciones del gen *mdr-1* en 91 muestras hemáticas en papel filtro de pacientes con paludismo causado por *P. vivax*; confirmado por microscopía, de Nicaragua: 66 de la RACCN (2011 y 2012), 18 del Noroeste del país del año 2012 y 8 del noreste de los años 2006 y 2007 y 74 muestras del sur de México, Donde se analiza

del fragmento del gen de *pvm_{dr}1* de 1536 pb, en el análisis se detectaron dos cambios de nucleótidos sinónimos y seis no sinónimos

En los resultados reflejados en la tabla 33 se analizaron dos fragmentos de gen *pvm_{dr}1* (444–580_{nt 1330–1740}) y (923–1105_{nt 2767–3315}), se detectaron dos cambios en los nucleótidos (1330-1740) uno sinónimo y otro no sinónimo, sólo en las muestras de noroeste de Nicaragua se observaron cambios no sinónimos en el codón 500 (D → N) únicamente. El cambio sinónimo en el codón 529, fue muy frecuente en las muestras de sur de México y del Noreste de Nicaragua.

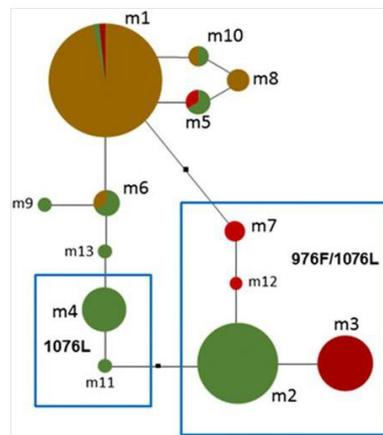
En el fragmento de 549 pb en los nucleótidos (2767-3315) se detectaron seis cambios de nucleótidos en 155 muestras 65, 26 y 64 de noroeste, noreste y del sur de México, cambios no sinónimos en los codones Y976F y F1076L y sólo se detectaron en las muestras de Nicaragua y no se encontraron en las del sur de México, cambios sinónimos en el codón 1021 también se registraron en las muestras de Nicaragua y no en las de México.

Se detectó cambio en el codón A927T exclusivo en las muestras del noreste de Nicaragua específicamente del municipio de la región misquita y minera, también se encontró sustitución en T958M en estos lugares pero el cambio F1070L se detectó sólo en dos aislamientos del noreste de Nicaragua, los municipios de Rosita y Prinzapolka en dos aislamientos del sur de México, en el tercer fragmento genético de 576 pb (nucleótidos 2032-2607), obtenido de todos los parásitos de Nicaragua y México se observó que eran idénticos a la secuencia Sal I.

Los estudios realizados en el gen *pvm_{dr}1* generaron datos que plantean cambios en los haplotipos 976F y/o 1076L, los que fueron exclusivos tanto de los parásitos del sur de México como de las regiones noroeste y noreste de Nicaragua. Estas mutaciones podrían ser el resultado de una diversificación reciente según la red de haplotipos y es notable que los haplotipos 1076L, presentes en parásitos del noreste de Nicaragua parecieran ser producto de un cambio evolutivo al de otros sitios geográficos del país.

Figura 34

Red de haplotipos de *P. vivax* de Nicaragua y México



Fuente: González-Cerón *et al* Malaria Journal 2017 jul 1; 16(1): 261.

En la figura 34 se presenta la red de haplotipos de la multidrogo resistencia de *P. vivax* (*pvmdr1*) la que incluye haplotipos de muestras del Sur de México en color marrón claro, muestras de Nicaragua del Noreste en color verde y Noroeste en color rojo oscuro, en la que cada círculo del diagrama indica un haplotipo diferente y las líneas los conectan.

Debido a lo antes explicado de los círculos y las líneas, aquí se puede apreciar como todos los haplotipos están estrechamente relacionados. En esta red de haplotipos se puede apreciar que hay diversificación de genes. Se encontraron amplificaciones de Sal I XM001613678 corresponde al haplotipo m8 e incluyen 141 secuencias, haplotipos que muestran 1076L y 976F/1076L.

Si π incrementa expone una selección positiva, es decir incrementa las frecuencias alélicas, los parásitos del noreste de Nicaragua y la mayoría de la región mesoamericana mostraron una $\pi=0.0036$, con una diversidad de similar a la encontrada en otros orígenes geográficos, La presencia de algunos haplotipos *pvmdr1* en todos los sitios del noroeste y noreste del país así como los encontrados en el sur de México presume un flujo de parásitos por la región de Mesoamérica, este flujo puede ser dinámico o no dependiendo de muchos factores tanto ambientales, geográficos, culturales y de intervención en el control de la malaria, para el caso de las muestras del noroeste y noreste del país un arco volcánico las separa y sin embargo se

obtuvieron, pero además el predominio de las infecciones con un sólo haplotipo *pvm-dr 1*, infecciones monoclonales que podrían estar ocurriendo por transmisión clonal de *P. vivax* en esas zonas del país, esta presencia de haplotipos exclusivos sugiere un flujo parcial de los parásitos entre las regiones de estudio.

Evaluación de *pvdhfr* resistencia del *P. vivax*

El gen *pvdhfr* es usado como marcador para buscar resistencia a la Pirimetamina en el dihidrofolato reductasa de *P. vivax*.

Tabla 35

Variación molecular en pvdhfr en Latino América 2011-2012

		Sustitución de amino ácidos y su frecuencia %				
# de residuos		57	58*	117	173	
Cepa Sal I		F(ttc)	S(agc)	S(agc)	I(att)	Otras mutaciones S, sinónimos NS, No sinónimos (%)
Sustitución del amino ácido		L(ttg)	R / N / K	N(aac)	L(ctt)	
Origen muestra	Periodo	N				
Nicaragua (todas las áreas)	2011-2012	78	-	-	-	SY69 (25.6)
México (sureste)	2008-2010	73	-	-	-	-
México (sureste)	2001-2008	19	-	-	-	-
Honduras (todas las áreas)	2004-2009	59	3.4	3.4	-	-
Colombia	2005	9	-	100	100	-
Colombia (todas las áreas)	2001-2004	53	-	98.1	100	-
Colombia (Noreste)	2011-2013	7	-	57/42.8/	100	-
Colombia (costa pacífico)	2012-2013	24-31	-	73.3/4.1/	100	-
Colombia (amazonas)	No indicado	41	2	83/-/15	98	17
Peru (norte)	2008-2013	21-37	-	95.4/22.8/	100	2.7
Brasil (Manaos)	2007-2008	19-14	-	76-64	84-93	5-36
Brasil (Acre)	2011	2-4	-	100	100	50
Guyana Francesa	2001-2005	90	-	98.9	100	34.4
						S: Y69(82.9), V19 (12.2), SN: A15V (12.2), N501(2.4), G1 75E (5), 57L (ttg), 58R [agg, aga], K [aag]
						58R [agg, aga], 58N[aac]
						No se dieron cambios en los amino ácidos
						S: Y69(85.6), L19 (3.3), SN: A15V (6.7), S116G(3.5), 58R [agg, aga, cgt]

Fuente: González– Cerón

En la tabla 35 se presentan los resultados de 78 muestras de Nicaragua de 2011-2012 y 73 muestras de México del 2008-2010, frente a muestras con resultados publicados en el banco de genes de México de los años 2001-2008, Colombia, Perú Brasil y Guyana Francesa, con los que se hicieron las comparaciones con los resultados encontrados.

Las muestras de Nicaragua no tuvieron sustitución de aminoácidos, pero si mutaciones sinónimas en el codón Y69, México obtuvo resultados similares, las muestras las muestras de Honduras obtuvieron residuos con una frecuencia de 3.4%. Las muestras de los países del sur si obtuvieron un alto porcentaje de sustitución de aminoácido.

Tabla 36*Tipos limitados de repetición de Tandem de pvdhfr en aislados de Latinoamérica*

	RACCN* 2011-2012	NPC* 2006-2012	SCH* 2008-2010	HOND 2004-2009	FG 2001-2005	COL 2001-2004
DHFR arreglo de Tandem repetitivos	Numero de aislados					
	%					
	54	24	73	54	90	48
GGDNTS‡ GGDNTH GGDNAD	100	17	100	78	100	75
GGDNTS GGDNTH GGDNTS GGDNAD	0	83	0	22	0	0
GGDNTS GGDNAD	0	0	0	0	0	16.5
GGDNTS GGDNTH GGDNTH GGDNAD	0	0	0	0	0	2.1

* Este estudio

‡ Secuencia de la cepa SAL I (NBCI, Gen Bank: XM_001615032): amino ácidos 89-106

Los amino ácidos están indicados por un código de letra.

G, glycine; D, aspartic acid; N, asparagine; T, threonine; H, histidine; A, alanine; S, serine.

Fuente: González-Cerón *et al* 2020

En la tabla 36 se puede observar los resultados del fragmento del gen DHFR que comprende los codones 16–198, en el que se evaluaron 78 muestras de Nicaragua 54 procedentes de la RACCN de los años 2011-2012 y 24 de la costa del pacífico del país, así como las 73 muestras procedentes del sur de México.

Las 54 muestras de la RACCN procedentes de sitios centinelas: Rosita, Bonanza y Waspán colectadas entre diciembre de 2011 y marzo de 2012 todas presentaron el dominio de Sal I, (GENBANK: XM 001615032), 100% de sustitución para los amino ácidos del 89-106, similares resultado se obtuvieron de las muestras del Sur de México colectadas entre 2008-2010 y correspondió a las muestras de referencia de la Guyana francesa de los años 2001-2005, de las 24 muestras de la costa pacífico de Nicaragua sólo 4 dieron para el dominio de Sal I.

Las 24 muestras de Nicaragua de los años 2006-2012, 20 dieron una mutación en el codón Y69 y generaron 18 nucleótidos adicionales que codificaron para el dominio GGDNTS entre los codones 103 y 104, similar a las muestras de Honduras, en las que 11 muestras de 54 generaron este dominio y 43 dieron para el dominio de Sal I y 8 muestras tuvieron supresión del dominio, pero 39 muestras si generaron resultados igual a los de Sal I.