



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

Instituto Politécnico de la Salud

“Luis Felipe Moncada”

Departamento de Bioanálisis Clínico

Seminario de graduación para optar al título de:

Licenciatura en Microbiología

TEMA:

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

SUB TEMA:

MALARIA

Autores:

Br. Carlos Danilo Araica.

Br. Yosimar Antonio Narváez González.

Tutora: Kenia García Rosales

Licenciada en Microbiología

Managua, abril 2019.

DEDICATORIA

A Dios ser supremo y creador que nos ha dado sabiduría, inteligencia, entendimiento y el don del discernimiento a lo largo de nuestra carrera.

Nuestros padres y hermanos (as), por su apoyo incondicional, comprensión, por todos sus esfuerzos y sacrificios de los cuales hoy tienen su recompensa.

Nuestros docentes del departamento de Bioanálisis clínico quienes nos facilitaron sus conocimientos, y nos instruyeron bajo principios éticos y morales a lo largo de nuestra carrera, en especial nuestra tutora Lic. Kenia García Rosales por su ayuda incondicional que en estos meses nos ha brindado.

*Br. Carlos Danilo Araica.
Br. Yosimar Antonio Narvárez González.*

AGRADECIMIENTOS

Por la culminación de este trabajo investigativo damos infinitamente gracias a:

Dios nuestro padre celestial que sin excepción de personas sabemos que ha estado allí para colmarnos con los dones de su misericordia, a él le decimos gracias por todas esas ocasiones que a lo largo de nuestros estudios universitarios se presentaron para cultivar la paciencia, la tolerancia y la esperanza.

Nuestros padres y familiares por estar siempre para nosotras mostrándonos su amor y apoyo incondicional, porque con manos firmes nos educan y nos instruyen en el camino del bien y el éxito.

Nuestros docentes por brindarnos no solo sus conocimientos sino también su cariño y apoyo en los momentos más requeridos. Especialmente a nuestra tutora Lic. Kenia García Rosales por su gran empeño, esfuerzo y dedicación para que lográramos superar nuestras debilidades y de esta manera poder culminar nuestro trabajo investigativo con éxito.

Nuestros compañeros (as) de clases que nos han brindado su amistad, su amor y apoyo en todo momento.

A todos (as) les damos infinitamente GRACIAS.

*Br. Carlos Danilo Araica.
Br. Yosimar Antonio Narvárez González.*

VALORACIÓN DEL TUTOR

El presente trabajo contiene información científica actualizada, considero es un valioso aporte bibliográfico sobre la temática abordada de gran importancia para la salud pública. Esta investigación fue elaborada con mucho entusiasmo por sus autores.

Por lo antes expuesto, a través de la presente y en calidad de tutora hago constar que el trabajo documental con el **Tema: “Diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas”** y **Subtema: “Malaria”** presentado por los bachilleres *Carlos Danilo Araica* y *Yosimar Antonio Narvárez González*, reúne los requerimientos establecidos para ser presentado al comité de evaluación.

Lic. Kenia García Rosales
Departamento de Bioanálisis Clínico
Tutora

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue analizar la importancia de los métodos de laboratorio para la erradicación de la Malaria en Nicaragua además de presentar la historia, generalidades, métodos diagnósticos y problemática en el país.

Nuestro estudio es una investigación documental, está basado en la búsqueda de información por medio de libros, revistas científicas, artículos científicos, folletos de malaria documentos del MINSA y búsqueda cibernética (páginas web).

El estudio de malaria es de gran importancia ya que podemos observar que desde épocas antiguas el parásito se encuentra infectando nuestro organismo y ha sido muy difícil erradicarlo, más sin embargo se ha podido controlar en muchas ciudades a través del mundo.

La malaria en su naturaleza desde estas épocas remotas hasta la actualidad no ha cambiado, pero con el uso indiscriminado de fármacos puede crear resistencia en humanos lo cual es posible a que nuevos fármacos puedan surgir para la eliminación del parásito en el hombre.

El diagnóstico para malaria ha venido evolucionando con nuevos métodos directos e indirectos para facilitar la identificación de género y especie de malaria, pero desde hace siglos atrás se utiliza un método muy sencillo y específico que por medio de microscopia puede identificarse el parásito.

Nicaragua actualmente está en alarma por el alto índice de malaria en el Caribe, por lo cual el Ministerio de Salud se encuentra en un monitoreo minucioso en los municipios de Bilwi, Bonanza, Rosita, Waspám, Las Minas y Prinzapolka que son los más afectados y con un mayor índice de malaria en la actualidad.

Estos brotes se dan por el alto índice de pobreza que viven los países del tercer mundo ya que las instituciones tienen muchas limitantes para poder controlar al vector, pero hace todo lo necesario por mantener los índices de pacientes positivos bajos y esto se ejecuta con la ayuda de organismos internacionales como son OPS/OMS, USAID y otras organizaciones que están dispuestas a erradicar la malaria en el mundo.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
VALORACIÓN DEL DOCENTE	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN.....	v
I. Introducción	1
II. Justificación.....	3
III. Objetivos.....	4
3.1 Objetivo General.....	4
3.2 Objetivos Específicos	4
IV. Desarrollo del subtema	5
4.1 Historia de la Malaria en Nicaragua	5
4.2 Generalidades del género <i>Plasmodium</i>	9
4.2.1 Vector	10
4.2.2 Ciclo de Vida.....	10
4.2.3 Fisiopatología	14
5. Métodos de Laboratorio para el diagnóstico de Malaria.....	15
5.1 Métodos Directos:.....	16
5.1.1 Gota Gruesa	16
5.1.2 Coloración (Giemsa).....	17
5.1.3 Extendido de sangre periférica	17
5.1.4 Densidad parasitaria	18
5.2 Métodos Indirectos	20
5.2.1 Elisa:.....	20
5.2.2 Hemaglutinación indirecta:.....	21
5.2.3 Métodos rápidos (RDTs) por Inmunocromatografía:.....	22
5.2.4 Prueba de diagnóstico rápido (PDR).	24
6. Departamentos más afectados con malaria en Nicaragua.	26
V. Diseño Metodológico	31
VI. Conclusiones.....	33
VII. Bibliografía.....	34
VIII. ANEXOS	36

I. Introducción

El paludismo es una infección causada por parásitos del género *Plasmodium*, clase Sporozoa, que se trasmite de manera natural a través de la picadura del mosquito hembra Anopheles. La enfermedad causada por este parásito se caracteriza comúnmente por paroxismos febriles intermitentes, anemia y esplenomegalia. Las especies causante de la enfermedad son *Plasmodium malarie*, *P. ovale*, *P. falciparum* y *P. vivax*; estas dos últimas especies son las de mayor distribución en el mundo. El impacto de la malaria en la salud y en el desarrollo económico de las poblaciones humanas es mayor en los trópicos y subtropicos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que cada año ocurren entre 300 y 500 millones de nuevos casos clínicos y hasta 2,7 millones de muertes. Aunque la mayoría de muertes ocurren en el África al sur del Sahara, la malaria ocasiona considerable morbilidad en las Américas, principalmente en la Cuenca Amazónica.

En Nicaragua la malaria ha presentado un descenso significativo a partir de 1990. En ese año ocurrieron 37,785 casos, lo que representaba un IPA de 9.2 casos por 10,000 habitantes. En el año 2005, manteniendo un índice de muestreo hemático similar o mejor, los casos fueron 6,373, y el IPA fue de 1.1 por 10,000 habitantes. El Ministerio de Salud de Nicaragua, está conformado por 17 SILAIS (Sistemas Locales de Atención Integral en Salud) que corresponde a los 17 departamentos que conforman la división política administrativa del país. Los 17 SILAIS están conformados por 153 municipios, de los cuales, 36 municipios (24%) concentran el 93% de la carga de morbilidad de malaria del territorio nacional.

Los departamentos del Norte, Centro y Regiones Autónomas Caribe Norte y Sur se caracterizan por presentar las tasas más altas de transmisión del país. Los SILAIS involucrados (Chontales, Matagalpa, Región Autónoma Caribe Sur y Norte) aportan desde 1995 la mayor carga de morbilidad de casos positivos del país. En las Regiones Autónomas del país, se concentran el 95% de los casos de malaria por *P. falciparum*. Para el año 2005 de los 6373 casos positivos de malaria, el 83% correspondieron a *P. vivax* y el 17% a *P. falciparum*. Las especies de vectores involucradas en la transmisión son *An. Albimanus* y *el An. Pseudopunctipenis*, con predominio del *An. Albimanus*.

La mayoría de los casos de malaria en 2017 fueron en la Región de África según la OMS (200 millones o 92%), seguidos por la Región de Asia Sudoriental (5%) y la Región del Mediterráneo Oriental (2%). La tasa de incidencia de malaria a nivel mundial disminuyó entre 2010 y 2017, de 72 a 59 casos por cada 1000 personas en riesgo. Si bien esto representa una reducción del 18% durante este período, el número de casos por cada 1000 personas en riesgo se ha mantenido en 59 en los últimos tres años. *P. falciparum* es el parásito de la malaria más prevalente en la Región de África de la OMS, representando el 99,7% de los casos estimados de malaria en 2017, así como en las Regiones de la OMS del Sudeste Asiático (62.8%), Mediterráneo Oriental (69%) y Pacífico Occidental (71,9%). *P. vivax* es el parásito predominante en la Región de las Américas de la OMS, representando el 74,1% de los casos de malaria.

El Informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los insecticidas en los vectores de la malaria: 2010-2017, publicado recientemente, mostró que la resistencia a las cuatro clases de insecticidas más utilizadas (piretroides, organoclorados, carbamatos y organofosforados) está muy extendida en todos los principales vectores de malaria en las regiones de la OMS de África, América, Asia Sudoriental, Mediterráneo Oriental y el Pacífico Occidental (Ver Anexo 1).

Países y áreas con un incremento estimado de más del 20% fueron las siguientes; región de África (Botswana, Cabo Verde, Comoras, Eritrea, Eswatini, Madagascar, Namibia, Senegal, Sudáfrica y Zimbabwe); Regiones de las Américas (Belice, Brasil, Costa Rica, Guayana francesa, México, Nicaragua y Venezuela (República de Bolivariana de Venezuela)); Regiones de Asia sudoriental de la OMS (Nepal); y región del Pacífico occidental de la OMS (Camboya y las Islas Salomón). En la región de la OMS de las Américas, Venezuela representaron el 84% del aumento de casos (Ver Anexo 2).

La Malaria supone un grave problema de salud pública ya que causa una elevada morbilidad y mortalidad tanto en niños, como en adultos. Ocurre en 99 países y más de 3 mil millones de personas están en riesgo de padecer esta enfermedad (Ver Anexo 3).

II. Justificación

Nuestro trabajo es de tipo documental informativo, para su realización utilizamos libros de textos, búsqueda cibernética (páginas web), artículos científicos con referencia al tema de malaria, revistas científicas, con el objetivo de recaudar información acerca del tema.

La malaria constituye un problema de salud pública, cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en el ámbito sanitario, siendo una responsabilidad de todos, pero mayormente en Ministerio de Salud para poder erradicar el paludismo en nuestro país. Al igual que otros países del continente afectados por esta enfermedad, la detección rápida, un buen diagnóstico y su efectivo tratamiento hacen que la malaria pueda erradicarse de una forma más fácil y de esta manera no puede expandirse a otras personas sanas, de esta forma, la malaria es una de las patologías infecciosas más importantes y constituye un evento cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en salud pública.

Las pruebas diagnósticas y tratamiento logran el acceso universal de todos los casos presuntivos de malaria. Para confirmar el diagnóstico presuntivo de malaria en todos los casos se deben practicar pruebas de detección del parásito, como el examen microscópico de buena calidad o una prueba de diagnóstico rápido. Los servicios de salud, sean públicos o privados, deben confirmar el diagnóstico antes de administrar el tratamiento antimalárico. Todo caso confirmado deberá ser seguido muy de cerca y notificado al sistema de vigilancia, en cuyos datos se basa la planificación programática. Lograr el acceso universal a las pruebas de diagnóstico reducirá el uso excesivo del tratamiento combinado basado en la artemisinina, que es la pauta de primera línea para tratar la enfermedad sin complicaciones, y también la presión selectiva de los medicamentos sobre los parásitos. La ampliación del uso de las pruebas diagnósticas aportará datos oportunos y exactos de vigilancia basados en casos confirmados y no presuntos. (OMS, 2015)

III. Objetivos

3.1 Objetivo General

Analizar la importancia de los métodos de laboratorio para la erradicación de la Malaria en Nicaragua.

3.2 Objetivos Específicos

1. Exponer la historia de la Malaria en Nicaragua.
2. Explicar generalidades del género *Plasmodium*.
3. Describir los métodos de laboratorio para el diagnóstico de Malaria.
4. Mostrar los departamentos más afectados con Malaria en Nicaragua, 2014-2017.

IV. Desarrollo del subtema

4.1 Historia de la Malaria en Nicaragua

La Malaria o paludismo es una de las enfermedades más antiguas, afectando a la humanidad desde las épocas más remotas. Se piensa que el hombre prehistórico debió haber sufrido de malaria. Probablemente esta enfermedad se originó en África y acompañó a las migraciones humanas al Mediterráneo, la India y Asia Sur Oriental. Los antiguos escritos médicos de China, Siria e India describen fiebres intermitentes maláricas, las cuales eran atribuidas a espíritus diabólicos. En el siglo V A.C. Hipócrates describió los síntomas de la enfermedad, atribuyendo el origen de la misma a los vapores y emanaciones fétidas de los pantanos y esteros, lo cual, por veinticinco siglos se mantuvo y reforzó con la observación de que con la desecación de los pantanos disminuían los casos de Malaria (Castillo F., García V., & García V., 2015).

En 1880 Laveran descubrió formas asexuadas y gametos de *P. falciparum*; Romanowsky en 1891 creó una técnica para teñir frotis sanguíneos con la finalidad de estudiar la etapa eritrocítica del parásito. En 1897 William McCallum comprobó y describió el ciclo sexual de la malaria, observando la penetración y fertilización del gameto femenino en el mosquito Anopheles. En 1898 Sir Ronald Ross, demostró que, en el paludismo aviario, el protozoo se desarrollaba en el estómago de los mosquitos infectados, el cual emigraba a las glándulas salivales, donde podía infectar a pájaros sanos; más tarde, Bigman, Bastianelli y Grassi comprobaron la transmisión del paludismo al hombre por el mosquito Anopheles. Durante el siglo XX la aplicación de la medicina preventiva para el control de la malaria tuvo grandes logros. En 1906 William Gorgas trata de controlar al mosquito del género Anopheles en el canal de Panamá. En 1912 Bass y John fueron los primeros en reportar el desarrollo del parásito de la malaria in vitro, utilizando sangre defibrinada de pacientes infectados con *P. falciparum* y *P. vivax* la cual fue cultivada a 37 °C, en viales de vidrio a los que se les añadió glucosa (Historia de la Malaria, 2019).

Alrededor de 1945, se organiza en Nicaragua, la 8va División Sanitaria, que se encargaba del control de insectos y enfermedades metaxénicas, generando la Primer Campaña

de erradicación del *Aedes aegypti*, la cual dio inicio en 1949, llegando a un feliz término hacia el año de 1956. A partir de ese año (1956), se promulga la Ley de Erradicación de la Malaria. La campaña mundial de erradicación de la malaria estaba representada en Nicaragua por el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria, (SNEM), organismo del Ministerio de Salubridad Pública y de la Organización Nicaragüense Americana de Cooperación Técnica, (ONACT), cuyos fondos provenían del gobierno de Nicaragua y del gobierno de Estados Unidos de América, mediante la Alianza para el Progreso. (Gutierrez, 1983)

Nicaragua inicio el programa de erradicación de la malaria en 1956 con la asistencia técnica de la SNEM/ONACT y contribuciones retoriales y equipos de UNICEF. Desde 1957 se utiliza sistemáticamente el DDT, al empezar se ha comprobado la resistencia de *A. albimanus*, entre 1957 y 1958 se usa el Dieldrín, dándose el caso más dramático de resistencia del *A. albimanus* que es el vector de la malaria en nuestro país. Ante la gran epidemia del año 1970, 27.760 casos (1 de cada 77 nicaragüenses) se emplea propoxur (baygón). El resultado inmediato es espectacular, para 1971 solo se registraron 4.246 casos, un numero apenas mejorado, en 1959 con los primeros éxitos del DDT, 1.875 casos. Pero desde 1973 hasta 1976 el saldo rojo de la resistencia al mismo insecticida que la naturaleza agrega la catástrofe del terremoto, la dictadura, el despilfarro de la generosa ayuda internacional para la tragedia; dispara para 1976 el número de casos 26.228. una comisión de la ONU que visita al país en 1975 recomienda suspender el rociado con propoxur, cae nuevamente la incidencia. En 1979 tres departamentos registran el 73.6 % del total de 18.418 casos estos son: Chinandega, León y Managua. Para 1980 se dan 25.465 casos a nivel nacional, una tasa de morbilidad de 9.1 por mil (Gutierrez, 1983).

Las acciones para reducir la carga de morbimortalidad por malaria han logrado avances sustanciales, disminuyendo la incidencia de la enfermedad en más del 96% en la última década con relación al año 2000, sobrepasando el Objetivo de Desarrollo del Milenio (ODM) para el año 2015, durante el período (2006-2011), se produjo un descenso significativo de los casos de malaria registrados, pasando de 3,114 casos en el 2006 a 925 casos en el 2011. De los 153 municipios en total a nivel nacional, más de la mitad se encuentran actualmente

sin transmisión, el resto de los municipios, es objeto de incrementar esfuerzos hasta alcanzar en el futuro la meta nacional propuesta para finales del 2013, cuyo objetivo es disminuir a menos de 25% los casos de malaria confirmados por laboratorio y registrados en todos los establecimientos de salud (MINSA, 2013).

Desde 2015, los casos de malaria en las Américas aumentaron un 71%. El 95% del total se concentraron en cinco países: Brasil, Ecuador, México, Nicaragua y Venezuela. Muchos de los afectados son poblaciones indígenas y poblaciones móviles como mineros y migrantes. (Organizacion Panamericana de la Salud, 2016)

Después de un descenso sostenido en el número de casos de malaria desde 2005 hasta 2014 en la Región de las Américas, se observó un aumento entre 2015, 2016, y 2017. En 2016, nueve países de la Región (Colombia, Ecuador, El Salvador, Guyana, Haití, Honduras, Nicaragua, Panamá, y la República Bolivariana de Venezuela) notificaron un aumento de casos de malaria. En 2017, cinco países notificaron un incremento de casos: Brasil, Ecuador, México, Nicaragua y Venezuela. Adicionalmente, Cuba y Costa Rica notificaron casos autóctonos y Honduras registró casos de malaria en un área donde no se habían detectado casos recientemente. (Organizacion Panamericana de la Salud, 2016)

En Nicaragua, entre la SE 1 y la SE 52 de 2017, se notificaron 10.846 casos de malaria, lo que representa un aumento con respecto al mismo periodo de 2016 cuando se notificaron 6.209 casos. La mayoría de los casos se han presentado en la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte. (Organizacion Panamericana de la Salud, 2016)

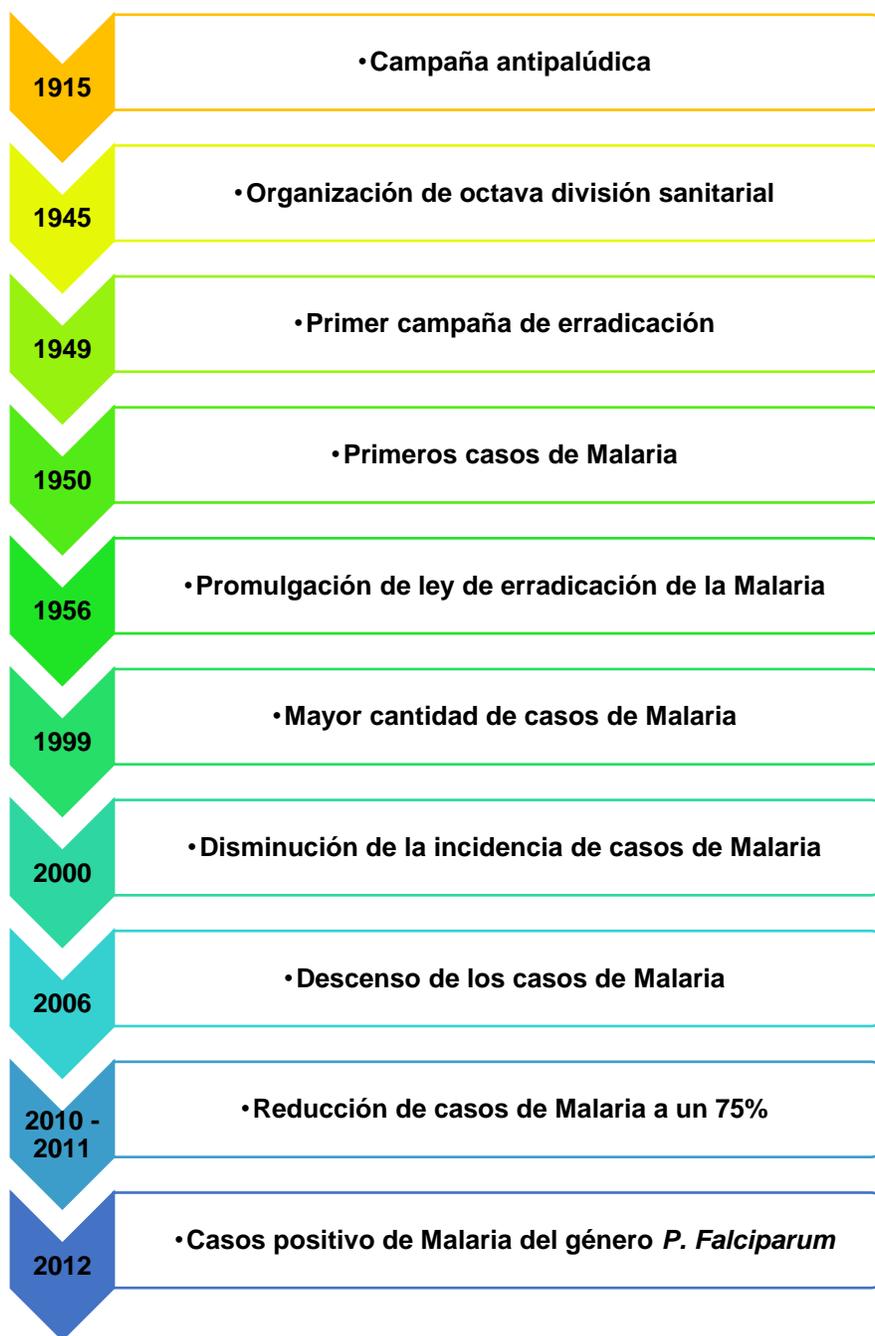


Figura 1. Línea de tiempo Historia de la Malaria en Nicaragua.

Fuente: Normativa 114, Ministerio de Salud (MINSa).

4.2 Generalidades del género *Plasmodium*.

El Paludismo es la enfermedad parasitaria más importante en el mundo y, con excepción de la tuberculosis, es la que más decesos provoca cada año. El organismo que produce el paludismo es un protozooario del género *Plasmodium* perteneciente al *phylum Apicomplexa* (Pavon Ramos, 2009).

La malaria es una enfermedad infecciosa, que se transmite mediante la picadura de la hembra del mosquito *Anopheles* infectada por el parásito. Son cinco las especies del parásito del género *Plasmodium* que tienen la capacidad de infectar a los humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*. Este último ha sido recientemente identificado; proviene de los primates, pero tienen la capacidad de infectar humanos, como se ha reportado en las zonas de Malasia y Borneo, ubicados en el continente asiático; los afectados tienen en común el antecedente de haber permanecido en un entorno selvático. La especie *P. falciparum*, es la principal causante de los episodios mortales por malaria; además es la especie más común en el continente africano. En contraste, *P. vivax* es la especie más frecuente en los demás continentes y es responsable de 80 millones de episodios anuales de la enfermedad. Las formas más graves de la malaria se deben a *P. falciparum*, esta clase de *Plasmodium* tiene la capacidad de ubicarse en la microvasculatura venosa profunda y producir manifestaciones clínicas severas entre las cuales se incluyen anemia profunda, insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal, malaria cerebral y malaria severa del embarazo. *P. vivax* y *P. ovale*, pueden originar formas latentes en el hígado, llamadas hipnozoitos, los cuales son los responsables de recurrencias de la enfermedad, después de abandonar la zona endémica. Por su parte, *P. malariae*, puede causar episodios febriles muchos años más tarde y acompañarse de síndrome nefrótico. (Giraldo Arizabal, Martínez Sánchez, Quintero Moreno, Muñoz Ríos, & Valencia Asprilla, 2017)

La característica que lo define en este subfilo es la compleja disposición de estructuras apicales conocidas como roptrias y micronemas, las cuales participan en la entrada del parásito a su célula blanco y desaparecen en las etapas que no son invasivas. En Nicaragua, solamente *P. falciparum* es la especie más agresiva, causando la muerte principalmente por

coma o por anemia y *P. vivax* que causa infecciones debilitantes y recurrentes, pero raramente causa la muerte; ambas especies tienen una distribución global (Pavon Ramos, 2009).

4.2.1 Vector

Los vectores del Paludismo son mosquitos hembras del género *Anopheles* que son hematófagos (antropofílicos), pues necesitan sangre para tener los elementos nutritivos necesarios para la maduración de sus huevos. El mosquito es un díptero que presenta una metamorfosis completa: huevo, larva, pupa y adulto. El tiempo de vida de los anofelinos adultos no suele ser mayor de 45 días. El nicho ecológico de estos es un ambiente que tenga depósitos de agua de preferencia tranquila, temperatura ambiental y altitud sobre el nivel del mar apropiados a cada especie vectora. (Atias, 2012)

La hembra coloca alrededor de 100 huevos por vez y los deja flotando en forma individual, para lo cual poseen flotadores que les permiten permanecer en la superficie del agua. Las larvas son elementos alargados, semejan gusanos, cuyo tamaño es de aproximadamente 4-5 mm de longitud, en los que se pueden distinguir una cabeza y un cuerpo segmentado no poseen sifón respiratorio, por lo que las larvas deben aproximarse a la superficie y adosar todo su cuerpo a la superficie del agua para respirar. (Atias, 2012)

Las larvas, al transformarse, en pupas, adquieren la forma de una coma de 3-4 mm de longitud, en que la parte ancha superior corresponde al cefalotórax, donde se pueden distinguir dos sifones respiratorios o trompetas cortas que el insecto adosa a la superficie para respirar. De las pupas salen los adultos o imagos que miden aproximadamente 1.5 cm de largo y presentan los tres segmentos del cuerpo, bien diferenciados cabeza, tórax y abdomen (Atias, 2012)

4.2.2 Ciclo de Vida

El ciclo de vida del Plasmodium incluye dos hospederos, el vertebrado y el mosquito durante su desarrollo, *Plasmodium* expresa proteínas específicas para

sobrevivir y desarrollarse en dos ambientes distintos, el intracelular y el extracelular, invadir varios tipos

de células y evadir la respuesta inmunitaria de ambos hospederos, cuando el mosquito se alimenta con la sangre del hospedero vertebrado, inyecta esporozoítos, los cuales alcanzan el hígado, invaden los hepatocitos y se convierten en esquizontes y después en merozoítos, la siguiente fase invasiva, dotada de organelos secretores que les permiten invadir eritrocitos. Dentro del eritrocito, los parásitos se encuentran en una vacuola parasitófora donde pueden seguir dos vías de desarrollo; crecer y diferenciarse en esquizontes productores de nuevos merozoítos, que invaden a otros eritrocitos, o producir formas sexuales: gametocitos macho y hembra. (Duarte, Juan, 2011)

El período de incubación del parásito, depende de la especie de *Plasmodium*; siendo *P. malariae* el de mayor duración con un período que va entre 18 y 40 días, seguido de *P. falciparum* con un período que oscila entre 10 y 12 días, el de *P. vivax* y *ovale* es de 14 días en promedio y, por último, *P. knowlesi*, que es de 11 días. Se han estudiado dos tipos de reproducciones, la sexual, la cual se produce en las hembras de los mosquitos del género *Anopheles*; y la de tipo asexual se da en el hígado y los glóbulos rojos de los seres humanos infectados. (Giraldo Arizabal, Martinez Sanchez, Quintero Moreno, Muñoz Rios, & Valencia Asprilla, 2017)

Cuando un mosquito susceptible toma los gametocitos, tiene lugar otra etapa del ciclo evolutivo del parásito durante la cual se diferencian en gametos macho y hembra, que al fecundarse originan cigotos; estos últimos acaban por transformarse en oocinetos móviles. Los oocinetos invaden el epitelio intestinal del mosquito hasta alcanzar la lámina basal, donde se convierten en ooquistes y producen miles de esporozoítos. Los esporozoítos se liberan a la hemolinfa, por medio de la cual se distribuyen en todo el cuerpo del mosquito e invaden las glándulas salivales; es desde estas glándulas que son inoculados en el hospedero cuando el mosquito se alimenta y de esa manera se reinicia el ciclo. (Duarte, Juan, 2011)

Cuando el mosquito infectado pica a un ser humano, los esporozoítos pasan de la glándula salival del insecto al torrente circulatorio de la persona, donde se quedan aproximadamente 1 hora. Posteriormente, el protozoo en forma de esporozoíto penetra las

células parenquimatosas del hígado, donde se multiplica mediante reproducción asexual y produce otra forma de protozoo denominado merozoito. Con el paso del tiempo, los hepatocitos infectados se lisan, liberando un gran número de merozoitos móviles, que pasan al torrente sanguíneo; luego invaden los eritrocitos y cada 48 a 72 horas se multiplican entre 6 y 20 veces a través de reproducción asexual, causando lisis celular y liberación de un mayor número de merozoitos infecciosos. Dicho proceso, puede repetirse muchas veces; agravando cada vez más la sintomatología de la enfermedad. Finalmente, algunos merozoitos regresan al hígado y constituyen la base para nuevos episodios de malaria; mientras que otros se convierten en gametocitos ya sean masculinos o femeninos, retornando al torrente circulatorio. Por último, un mosquito hembra de tipo *Anopheles*, succiona la sangre de una persona infectada y los gametocitos pasan al intestino del mosquito; en dichos órganos se convierten en gametos maduros, los cuales se fusionan para la formación del cigoto, dando lugar así a la reproducción sexual. (Giraldo Arizabal, Martínez Sánchez, Quintero Moreno, Muñoz Ríos, & Valencia Asprilla, 2017)

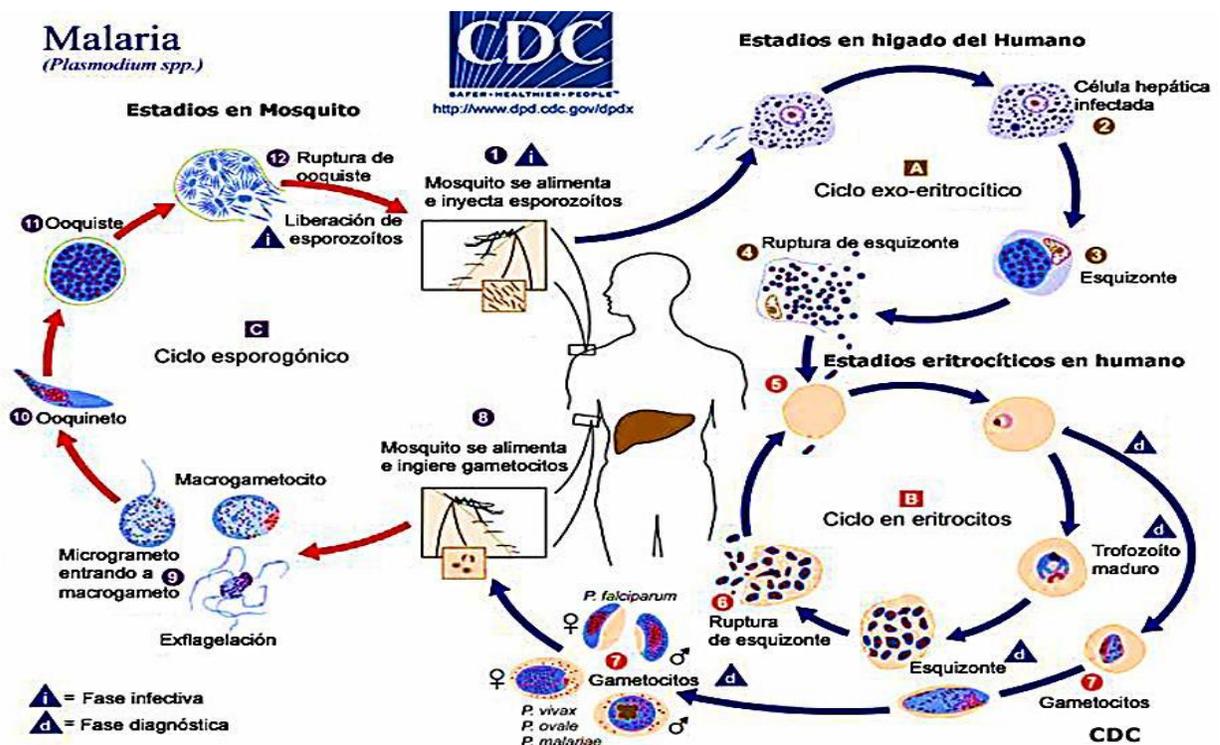


Figura 2. Esquema del ciclo vital de *Plasmodium* sp.
Fuente: Centers for Disease Control and Prevention

Los síntomas de esta enfermedad pueden incluir fiebre, vómito y/o dolor de cabeza. La forma clásica de manifestación en el organismo es "fiebre, sudoración y escalofríos" que aparecen 10 a 15 días después de la picadura del mosquito. Las muestras de sangre son examinadas con un microscopio para diagnosticar el paludismo, en donde el parásito es detectado dentro de los glóbulos rojos. Las pruebas de diagnóstico rápido (RDTs) son usadas para diagnosticar el paludismo en áreas remotas en donde el microscopio no puede ser utilizado. Los parásitos *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* son los más comunes en el paludismo, mientras que la *P. malariae* y *P. ovale* son parásitos menos conocidos. De todos estos, la infección adquirida por *P. falciparum* es la más fatal si no es tratada a tiempo y podría tener serias complicaciones renales y cerebrales, e inclusive la muerte. La Cloroquina fue el tratamiento de elección para el paludismo y es aún usado en la mayoría de los países para el tratamiento de *P. vivax*, sin embargo, el parásito *P. falciparum* ha desarrollado una muy diseminada resistencia a este medicamento, y actualmente se recomienda una terapia de combinación basada en la Artemisinina, como tratamiento principal contra este parásito. Entre las medidas preventivas se recomienda el uso de mosquiteros impregnados con insecticida y rociado interno residual de los insecticidas; sus funciones consisten en disminuir el riesgo de las picaduras de los mosquitos infectados. (Duarte, Juan, 2011)

En seres humanos, los esquizontes hepáticos aparecen como grupos de pequeños cuerpos basófilos localizados dentro de los hepatocitos del huésped. Miden entre 40-80 μm de diámetro cuando maduran. Los estadios intraeritrocíticos consisten en pequeños trofozoítos con formas de anillo que miden entre 1 y 2 μm de diámetro. Los esquizontes amorfos multinucleados miden hasta 7 u 8 μm de longitud. Y los micro y macro gametocitos, que varían en longitud desde los 7 hasta 14 μm . Otras características morfológicas que los distingue de otros protozoarios, es que durante su desarrollo en seres humanos los microgametocitos tienen un núcleo más grande y difuso, mientras que los macrogametocitos tienen un citoplasma de tinción más oscura. En los mosquitos, durante el desarrollo de los *Plasmodium* en mosquitos, los microgametos son largos y delgados, de entre 15-25 μm de longitud. Los oocinetos móviles son de 15-20 x 2-5 μm . Los oocitos ovales pueden llegar a medir hasta a 50 μm de diámetro en la superficie exterior. En el 2015 hubo 212 millones de

casos de paludismo causando cerca de 429.000 muertes, muchos de ellos niños africanos. En las Américas, hubo 568.000 casos de paludismo y cerca de 220 muertes fueron reportadas en el 2016. (Giraldo Arizabal, Martínez Sánchez, Quintero Moreno, Muñoz Ríos, & Valencia Asprilla, 2017)

4.2.3 Fisiopatología

La fisiopatología de la malaria y las manifestaciones clínicas están estrechamente ligadas a la especie de parásitos y su ciclo de vida (Ver Anexo 4), y a la inmunidad del hospedero con malaria. Los síntomas clásicos de la malaria corresponden con la ruptura del gran número de esquizontes circulantes que liberan merozoítos a la sangre, y después de varios ciclos eritrocíticos aumenta la concentración del Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α). Se ha encontrado que con la salida de los merozoítos del esquizonte se liberan múltiples moléculas con capacidad de activar macrófagos. La molécula del parásito con mayor potencial para estimular macrófagos, entre algunas otras poco comprendidas, son los fragmentos de glicosil-fosfatidil-inositol (GPI) del parásito. La estimulación de los macrófagos por esta molécula induce la producción de citoquinas proinflamatorias y altas concentraciones de TNF- α , que generan un estado de inflamación sistémica produciendo los síntomas clásicos de la malaria.

P. falciparum es la especie de Plasmodium que más produce secuestro de parásitos en la microcirculación, debido a la expresión de moléculas de adherencia en su membrana y a las alteraciones que causa en los eritrocitos que parasita. El secuestro de *P. falciparum* lleva a la caída del aporte de oxígeno y glucosa, a acidosis y disfunción celular, que son claves para explicar muchas de las manifestaciones y complicaciones de la infección. El secuestro de *P. falciparum* evita que éste sea depurado por el bazo, favorece su multiplicación en grandes cantidades, y aumenta su sobrevivencia en las vénulas postcapilares donde hay menor presión de oxígeno, y en consecuencia menor estrés oxidativo. (German & Silvia, 2010)

5. Métodos de Laboratorio para el diagnóstico de Malaria.

El paludismo se considera la primera parasitosis a nivel mundial debido a que todos los años causan la muerte de 1.5 a 2.7 millones de personas de todo el mundo la mortalidad secundaria al paludismo se explica porque el diagnóstico es poco acertado y sus principales manifestaciones clínicas como fiebre, cefalea y nauseas se confunden con los síntomas de otros padecimientos como el resfriado común. (Biomédica, 2014)

El diagnóstico y tratamiento son los elementos fundamentales de la Estrategia Global de Control de la Malaria. La detección precoz de los casos y la administración de tratamiento, además de ser una medida altamente efectiva en términos de atención individual, con rápida reducción de la incapacidad y cura en 100% de los casos oportunamente detectados, es en términos colectivos, la acción más importante de prevención primaria e interrupción de transmisión en el control de la malaria. (Biomédica, 2014)

En 1880, el médico militar francés Charles Louis Alphonse Laveran observa por primera vez al parásito en un extendido de sangre periférica de un paciente que acababa de morir por malaria, posibilitando desde entonces el diagnóstico parasitológico. Poco tiempo después, Dimitri Romanowsky en 1891 logra diferenciar el núcleo y citoplasma usando una tinción de eosina y azul de metileno oxidado, lo cual sirvió para posteriores desarrollos en las tinciones para sangre. Gustav Giemsa en 1904 logra obtener una mezcla estable derivada de la tinción de Romanowsky. La tinción de Giemsa y algunos otros derivados de la tinción de Romanowsky (por ejemplo, tinción de Field) fueron desarrollados posteriormente, y se usan para colorear las placas de gota gruesa y el extendido delgado de sangre periférica. (Castillo F., García V., & García V., 2015)

5.1 Métodos Directos:

5.1.1 Gota Gruesa

Según recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, el diagnóstico de la malaria debe realizarse mediante la técnica de la Gota Gruesa, obteniendo una buena cantidad de parásitos de malaria en sangre, garantizando un diagnóstico rápido y eficaz de la especie de *Plasmodium* involucrada en la infección. La muestra de sangre debe ser obtenida antes de que el paciente haya recibido tratamiento antimalárico. (OMS, 2011)

La gota gruesa consiste en el examen al microscopio de una gota de sangre obtenida mediante punción digital de un dedo de la mano sobre una lámina portaobjeto. Permite detectar parásitos circulantes aun cuando la parasitemia es baja, ya que concentra varias capas de sangre (20 – 30 en relación con el extendido) para ser examinadas simultáneamente y se considera 15 veces más sensible que el extendido. El umbral de detección de infección por gota gruesa ha sido estimado en 4 – 20 parásitos/ μL . La probabilidad de no detectar el parásito cuando la parasitemia es de 20 parásitos/ mm^3 al examinar 200 campos, es menor de 1%. Se considera que la sensibilidad de la gota gruesa es del 80-98% y depende de la experticia del lector y de los buenos procedimientos técnicos hechos con calidad. Sin embargo, la morfología de los parásitos puede presentarse algo distorsionada por el proceso de deshemoglobinización y por el secado lento de las láminas. La coloración para la gota gruesa consta de dos pasos: La pre coloración y la coloración propiamente dicha (Duarte, 2011).

Las ventajas de la gota gruesa para una mejor identificación del *plasmodium* es de mucha utilidad para un diagnóstico rápido y efectivo, una de las ventajas que tiene el extendido es que contiene 20 veces más glóbulos rojos que el extendido normal lo cual se puede observar rápidamente las diferentes especies del parásito. Otra ventaja es que no hay destrucción de los glóbulos rojos, ni hay coágulos parciales por ende se puede ver las características de los trofozoítos dentro de los glóbulos rojos con mucha más facilidad. Para hacer un buen extendido se debe lograr uniformidad por la distribución homogénea de los elementos de la sangre por lo cual se facilita la deshemoglobinización, la coloración y la observación microscópica para que se aprecie correctamente la densidad parasitaria.

Las desventajas de la gota gruesa tienen como principal elección la mala técnica del personal de laboratorio, lo que percibimos de una mala técnica es la destrucción de glóbulos rojos por manipulación mecánica, la coagulación de la sangre, esto se da debido a una mala técnica de toma de muestra, cuando hacemos el extendido y no tenemos una buena técnica hacemos un mal extendido, por ende hay una acumulación de elementos sanguíneos en ciertas zonas y escasez de los mismos en otras zonas y esto dificulta la deshemoglobinización y la coloración seguido de esto las posibilidades de diagnósticos falsos-positivos o falsos-negativos debido a parásitos enmascarados bajo niveles superpuestos de sangre seca.

5.1.2 Coloración (Giemsa)

En el proceso de coloración se llega a la diferenciación de la estructura parasitaria y se completa la deshemoglobinización. El color esperado para la cromatina es el rojo, para el citoplasma el azul y el pigmento malárico varía entre el amarillo y el carmelito oscuro.

Para realizar el recuento parasitario en la gota gruesa, se procede a establecer una relación entre el número de parásitos presentes por 200 leucocitos y el número de leucocitos del paciente, cuando se usa este método, generalmente se asume que el recuento leucocitario de los individuos es 8.000 leucocitos/uL (8.000 leucocitos/mm³), en promedio. Idealmente se trabaja con el recuento leucocitario del paciente. Se debe tener en cuenta que; Formas asexuadas corresponden a trofozoítos y esquizontes. Mientras que las formas sexuadas corresponden a gametocitos. (Rosas Aguirre, Gamboa, Rodríguez, & Zavalaga., 2010).

5.1.3 Extendido de sangre periférica

La sangre periférica extraída por pinchazo con lanceta o sangre venosa recién tomada, es la opción de preferencia para la examinación con la técnica de la gota gruesa. Para su obtención, se recomienda realizar la punción en el dedo índice de la mano izquierda, el lóbulo de la oreja. En niños muy pequeños: el dedo gordo del pie o el talón. Esto hace posible la realización del diagnóstico rápido y eficaz de la especie de plasmodium involucrada, debido

a que, las células están concentradas, garantizando el medio para la localización rápida de las parasitemias escasas.

Aunque es mucho menos sensible que la gota gruesa, permite observar todas las características morfológicas del parásito y del eritrocito parasitado, lo cual facilita el diagnóstico de la especie de *Plasmodium*. En el extendido la sangre se fija con metanol, lo que permite observar al parásito dentro del eritrocito y de esta forma suministra información adicional para la identificación de la especie. Por lo tanto, el extendido en principio puede ser más específico que la gota gruesa y puede ser usado como complemento de la primera para aclarar el diagnóstico de especie al permitir observar las características del glóbulo rojo parasitado (por ejemplo, para diferenciar infecciones por *P. vivax* de *P. falciparum* cuando solamente se observen formas de trofozoítos jóvenes).

Los parásitos se identifican por las características morfológicas y por la coloración diferencial de sus estructuras, es decir, citoplasma, cromatina y pigmento. Las coloraciones supra vitales tipo Romanowsky, incluyen varias tinciones como Romanowsky modificado, Field, Giemsa y de Wright, que tienen colorantes ácidos (eosina) y básicos (azul de metileno, azur I y azur II) que colorean los componentes celulares acidofílicos y basofílicos, respectivamente. En el caso de *Plasmodium*, el citoplasma se colorea azul, la cromatina (núcleo) se colorea rojo y el pigmento malárico, pardo-amarillo (Montoya & Sevilla, 2007).

5.1.4 Densidad parasitaria

La determinación de la densidad parasitaria en los pacientes con malaria es una herramienta auxiliar para el manejo clínico del paciente. Todos los laboratorios clínicos que cuentan con diagnóstico microscópico de malaria, ya sea gota gruesa o extendido fino, están en la capacidad de calcular la densidad parasitaria o parasitemia. La densidad parasitaria es producto, entre otros factores, de la dosis infectante inicial, los días de evolución de la fase sanguínea y la inmunidad adquirida. La parasitemia permite estimar la intensidad de la infección, la que, a su vez, se relaciona con la severidad de las manifestaciones clínicas. En situaciones de transmisión acentuada y estable de la malaria, la adquisición de inmunidad

(premunición) produce una protección clínica de los sujetos, quienes podrían no presentar fiebre aún con densidades parasitarias moderadas a altas. En la malaria aguda, la densidad parasitaria permite evaluar la evolución clínica del paciente y el manejo de complicaciones tales como anemia, acidosis metabólica e hipoglicemia. En la malaria crónica, la parasitemia es generalmente baja, pero de larga duración. La parasitemia también provee al clínico con un dato objetivo para evaluar la respuesta terapéutica y permite vigilar la susceptibilidad in vivo a las drogas esquizonticidas sanguíneas como la cloroquina. (Alger, 2011)

Al determinar la parasitemia, se debe informar de manera independiente los estadios asexuales y los estadios sexuales (gametocitos). Esto es así, debido a que los estadios asexuales son los responsables de las manifestaciones clínicas y complicaciones. Por otro lado, también es necesario conocer la eficacia parasiticida de los medicamentos que se utilizan para realizar una interpretación correcta; por ejemplo, la cloroquina no tiene efecto sobre los gametocitos de *Plasmodium falciparum*. Existen varios métodos para determinar la densidad parasitaria. El sistema de cruces utilizado por el Ministerio de Salud, el sistema de cruces recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), ambos métodos a partir de la gota gruesa, y un método semicuantitativo que permite estimar la parasitemia en la gota gruesa y en el extendido fino, y que se informa como número de parásitos en 100 leucocitos (gota gruesa) o porcentaje de eritrocitos parasitados (extendido fino). Tanto en la gota gruesa como en el extendido fino, el cálculo inicial se puede traducir a número de parásitos por microlitro de sangre, unidad estandarizada que permite comparaciones. (Alger, 2011)

Sistema de Cruces: Es el sistema utilizado por el Ministerio de Salud y el recomendado por la OMS, la estimación de la parasitemia se debe realizar con la observación de 100 campos microscópicos. En los Anexos 5 y 6 se describe la densidad parasitaria correspondiente al sistema de cruces. En ambos sistemas, la parasitemia de tres cruces equivale a una densidad parasitaria alta.

Densidad parasitaria estimada por microlitro de sangre: Se debe disponer de conteo de eritrocitos y de leucocitos. Si no se cuenta con un hemograma, se asumen concentraciones constantes de 5,000,000 eritrocitos/ul y 8,000 leucocitos/ul de sangre. *Gota Gruesa:* Si se contaron 40 parásitos en 100 leucocitos, entonces $40 \times 8000/100 = 3,200$ parásitos/ul de

sangre. *Extendido fino*: Si se estimó una parasitemia de 0.4%, entonces $0.4 \times 5,000,000/100 = 20,000$ parásitos/ul de sangre.

En la actualidad se cuenta con métodos moleculares que permiten ir más allá de la parasitemia al determinar la presencia de diferentes genotipos de parásitos de la misma especie, es decir, infecciones policlonales. La utilización de la densidad parasitaria y su adecuada interpretación es un ejemplo de la interacción entre el laboratorio y el clínico para el manejo exitoso del paciente infectado. La implementación apropiada de este método permitirá fortalecer la capacidad local de abordar el problema de la malaria. (Alger, 2011)

5.2 Métodos Indirectos

Las **sondas de DNA** permiten el diagnóstico temprano del parásito en el mosquito, son específicas de especies de *Plasmodium*, pero su sensibilidad es muy limitada requiriendo de 1000 esporozoítos por mosquito para obtener una detección confiable. La prueba de **ELISA** es útil de manera retrospectiva, en personas no inmunes tratadas en forma empírica, sin un diagnóstico microscópico. Los anticuerpos monoclonales contra el *Plasmodium* se utilizan contra la proteína circumsporozoito, su valor es limitado al no detectar los esporozoítos inmaduros presentes en el oocisto. En áreas endémicas, la mayoría de las personas tienen títulos de anticuerpos de infecciones previas, se haya o no infectado en fechas recientes y se requieren 3 a 4 semanas para elevar el título de anticuerpo al valor diagnóstico, en tanto que la decisión para el tratamiento se debe tomar en las primeras horas de la valoración.

5.2.1 ELISA:

Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay Test Inmunoadsorbente Ligado a Enzimas esta prueba se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, uno de los cuales debe ser de reactividad conocida, El color se genera por la interacción de un sustrato cromogénico y una enzima que ha sido acoplada al anticuerpo detector. Si debe medirse el anticuerpo, se coloca el antígeno en la fase sólida, como una capa de captura, Después de la reacción del antígeno

con el suero del paciente, la capa de detección puede ser un reactivo anti inmunoglobulina clase específica (IgM o IgG) para detectar respuesta de anticuerpos clase específicos. (Muñoz, Rojo-Marcos, & Olivencia, 2013)

Se desarrolló la prueba DOT-ELISA para el diagnóstico de infección activa por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, mediante la detección de antígenos de estos parásitos presentes en la sangre de pacientes. Anticuerpos policlonales, obtenidos en conejos con especificidad para cada una de las dos especies del parásito, fueron utilizados para sensibilizar cuadrículas de papel de nitrocelulosa, que, al ser incubados con el lisado de eritrocitos parasitados, capturaron el material antigénico para el cual tenían especificidad. (Muñoz, Rojo-Marcos, & Olivencia, 2013)

5.2.2 Hemaglutinación indirecta:

Es una técnica de diagnóstico clínico de laboratorio *in vitro* que emplea hematíes o eritrocitos (de origen humano o animal) como partículas marcadoras. Consiste, como en toda técnica de aglutinación indirecta, en provocar la aglutinación de partículas artificialmente recubiertas con antígenos (proceso llamado "sensibilización") mediante la reacción de los anticuerpos presentes en la muestra de estudio (generalmente suero sanguíneo) con dichos antígenos frente a los que son específicos. Por lo tanto, se basa, como toda técnica inmunológica, en la demostración de la reacción antígeno-anticuerpo.

Existe una variante, llamada hemaglutinación indirecta inversa, en la que son los anticuerpos los que se fijan a las partículas marcadoras (los hematíes), siendo esta vez detectados los antígenos solubles presentes en la muestra.

En ambos casos, los hematíes marcadores actúan como portadores pasivos de los antígenos o anticuerpos fijados. Otras posibilidades son la utilización de partículas inertes (cómo el látex) u otras células como marcadores. Se diferencia fundamentalmente de la hemaglutinación directa (la cual es empleada, por ejemplo, en la determinación de grupos sanguíneos), en que los hematíes-marcadores han sido sensibilizados o unidos de forma

artificial al antígeno o anticuerpo. Se usa, por ejemplo en la VDRL (Venereal Disease Research Laboratory). (Botero, D & Restrepo, M, 2012)

5.2.3 Métodos rápidos (RDTs) por Inmunocromatografía:

El fenómeno de resistencia a las quinolinas y la implementación de terapias combinadas con derivados de la artemisinina han incrementado los costos del tratamiento para malaria. Los análisis costo-beneficio han mostrado que el diagnóstico parasitológico previo al inicio de tratamiento es la mejor estrategia, pues se evita iniciar un tratamiento costoso en pacientes que no lo requieren. Hacia finales del siglo pasado se desarrollaron las RDTs basadas en Inmunocromatografía para el diagnóstico de malaria, que dan resultados entre 15 a 20 minutos. En zonas donde no se tiene acceso a microscopía, especialmente en algunas regiones de África, se han convertido en una importante estrategia de bajo costo para diagnosticar malaria. En varios ensayos clínicos, las RDTs han mostrado una sensibilidad y especificidad de aproximadamente 77% a 100% y 83% a 100%, respectivamente.

Estos métodos se basan en la detección de antígenos del parásito usando Inmunocromatografía de flujo lateral, con anticuerpos monoclonales contra diferentes antígenos de *Plasmodium* presentes en la sangre de individuos infectados. La capacidad de detectar el antígeno depende de su concentración en sangre y la carga de parásitos total, y no se ve afectada por el fenómeno de falsos negativos por el secuestro de parásitos como la microscopía. Los anticuerpos pueden ser específicos para *P. falciparum*, contra antígeno pan-malárico (todas las especies) o para antígenos de especies diferentes a *P. falciparum*. Otro tipo de anticuerpo monoclonal es usado como la fase inmóvil de la cromatografía para capturar los anticuerpos solubles sólo cuando éstos se unen al antígeno de *Plasmodium* (Anexo 7). Sin embargo, estos métodos son pobres en la información que proveen sobre severidad y pronóstico, algunos no diferencian la especie de *Plasmodium* infectante, y la cuantificación de la parasitemia sigue siendo un problema con estos métodos. Además, su poca capacidad de discriminar parásitos viables de aquellos no viables limita su uso para el seguimiento de los pacientes que han recibido tratamiento o para el diagnóstico de pacientes que han tomado medicación.

Aunque hay decenas de pruebas rápidas comerciales, tres prototipos han sido las más importantes y representativas. El primero está representado por el ParaSight F® (IgG) y la ICT Malaria Pf® (IgM) que detectan la proteína rica en histidina 2 (HRP-2, del inglés Histidine Rich Protein) de *P. falciparum*. Los métodos basados en detección de HRP-2 tienen una sensibilidad entre 77% y 100%, y una especificidad entre 83% y 93% con parasitemias >100 parásitos/mL, para diagnosticar malaria por *P. falciparum* comparado con la gota gruesa. Las principales limitaciones de los dispositivos de Inmunocromatografía que detectan la HRP 2 son su poca utilidad para hacer seguimiento al tratamiento por persistencia de la HRP-2 hasta 7 días después de haberse iniciado el tratamiento en un 68% de los pacientes, y 28 días en un 27%. Otro problema son las cepas de *P. falciparum* que expresan variaciones de la proteína o que no producen la proteína en concentraciones detectables. Se ha determinado que la ParaSight F presenta reacción cruzada con factor reumatoide.

El segundo prototipo importante de prueba de detección rápida se basa en la detección de la enzima lactato deshidrogenasa de *Plasmodium* (pLDH) y está representada por la prueba OptiMal. La pLDH se expresa en diferentes isoformas en los estadios asexuales de todas las especies de *Plasmodium* que infectan humanos. La prueba comercial OptiMAL® usa un panel con tres anticuerpos monoclonales: dos pan-específicos y uno específico contra pLDH de *P. falciparum*. La prueba tiene un desempeño diagnóstico semejante a las basadas en la HRP-2, aunque puede ser un poco menor para *P. ovale* y *P. malariae*. Un estudio en Colombia comparó la prueba OptiMAL® con la gota gruesa para diagnóstico de malaria en 107 pacientes con síndrome febril agudo y 82 pacientes con malaria. Para *P. falciparum* se encontró una sensibilidad de 40% y una especificidad de 98%, y para *P. vivax*.

El tercer prototipo utilizado es la prueba que detecta la aldolasa de *Plasmodium* que se expresa principalmente en trofozoítos. Los anticuerpos contra la aldolasa son específicos. Se han implementado pruebas que combinan la detección de HRP-2 y aldolasa, encontrando en un estudio con 560 pacientes con sospecha de malaria, una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de 95%, 75%, 50% y 98%, respectivamente. La detección de aldolasa también parece estar influenciada por la parasitemia viable y puede ser útil para el seguimiento.

Otras aplicaciones de las RDTs basadas en Inmunocromatografía son: centros sin microscopía o sin microscopista entrenado disponible; centros en regiones con baja prevalencia donde la calidad de la microscopía puede ser menor por la poca experiencia del personal de laboratorio; horas de trabajo extremas; diagnóstico en personal que trabaje en áreas remotas de manera temporal (investigadores, compañías mineras); investigación de brotes o epidemias donde la evaluación por microscopía no da abasto; autodiagnóstico por personal entrenado que esté realizando trabajo de campo en zonas endémicas donde no hay microscopía; apoyo diagnóstico en pacientes con microscopía negativa y alta sospecha de malaria; y, en el diagnóstico de malaria mixta, entre otras. (Campuzano-Zulugaga G; Blair-Trujillo S, 2010)

5.2.4 Prueba de diagnóstico rápido (PDR).

Las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria, a veces denominadas “tiras reactivas” o “dispositivos de diagnóstico rápido de la malaria”, detectan antígenos específicos (proteínas) producidos por los parásitos de malaria. Estos antígenos están presentes en la sangre de las personas infectadas o recientemente infectadas. La PDR muestra su presencia mediante un cambio de color en una tira de nitrocelulosa absorbente. Algunas PDR solo pueden detectar una especie (*Plasmodium falciparum*), generalmente al detectar la proteína 2 rica en histidina (HRP2) o la lactato-deshidrogenasa específica del parásito (pLDH). Algunas pruebas, al descubrir otros antígenos, detectan una o más de las otras tres especies de parásitos de la malaria que infectan a los seres humanos.

Generalmente las PDR vienen en tres formatos; la forma más sencilla es una tira reactiva, que se coloca en pocillos que contienen sangre y amortiguador. La tira de nitrocelulosa puede colocarse en un cartucho de plástico o en una tarjeta. Los cartuchos y las tarjetas tienden a ser más costosos, pero más sencillos de utilizar. En buenas condiciones, algunos productos pueden alcanzar una sensibilidad similar a la que se obtiene habitualmente con la microscopía del campo (~100 parásitos/ μ l). La sensibilidad puede diferir de un

producto a otro. La sensibilidad recomendada es de 95% con 100 parásitos/ μ l en el caso de *P. falciparum*. (Ver Anexo 8).

Cuando se usa correctamente, una PDR de la malaria puede proporcionar una indicación útil de la presencia de infección malárica clínicamente significativa. Una PDR no reemplaza el examen con microscopio, pero puede aplicarse en particular cuando no se dispone de microscopía de alta calidad. Sin embargo, las decisiones terapéuticas no deben basarse sólo en el resultado de la PDR.

Las PDR pueden aportar beneficios considerables en el tratamiento de la malaria si se produce un efecto beneficioso claro en los resultados sanitarios; la demostración de la parasitemia permite el uso más racional de los fármacos antimaláricos; se elabora un plan de acción claro para manejar los resultados positivos y negativos; se mantiene buen entrenamiento y monitoreo de los agentes sanitarios; se vigila la precisión de la PDR (control de calidad); si están protegidas de las temperaturas altas y son asequibles.

Quizá haya situaciones, en las zonas con prevalencia de la malaria muy alta, en las que la confirmación de la parasitemia no contribuya significativamente al tratamiento de la enfermedad. En estas situaciones, es posible que exista parasitemia, pero sin que el parásito cause la enfermedad. Puede haber tan pocas personas sin parasitemia que, pese al gran costo del diagnóstico y al riesgo de resultados negativos falsos de la PDR, el ahorro en medicamentos será mínimo. En tales zonas con prevalencia alta, se recomienda tratar a los niños menores de 5 años con fármacos antimaláricos basándose en la sola manifestación de los síntomas, siempre que se haya descartado la posibilidad de otras enfermedades. Las PDR deben utilizarse para orientar el tratamiento de adultos.

Al igual que la microscopía, la precisión de una PDR depende de la atención y la pericia con la que se prepara e interpreta. Realización de la prueba Si después de abrir el sobre se retrasa la preparación, la humedad puede dañar la PDR. Las líneas problema pueden tornarse “positivas” varias horas después de la preparación: léase solo durante el periodo fijado por el fabricante. Interpretación del resultado El resultado de una PDR de la malaria siempre debe interpretarse en función del estado clínico del paciente, teniendo en cuenta la

falibilidad de la prueba. El técnico debe entender lo que indica cada línea. Esto varía de un producto a otro. Debe estar presente una línea de control para que el resultado sea válido, aunque la presencia de dicha línea no demuestra que el resultado de la PDR sea preciso. Por consiguiente, se puede indicar la repetición de la prueba al cabo de uno o dos días si persiste la enfermedad o se deteriora el estado del paciente. (OPS; OMS , 2006)

6. Departamentos más afectados con malaria en Nicaragua.

A nivel mundial, la morbilidad y mortalidad por malaria ha disminuido de manera significativa a partir del año 2000. Entre el 2000 y 2012 la tasa de mortalidad por malaria se redujo en un 42% y la tasa de incidencia disminuyó en un 25% a nivel mundial (Ver Anexos 9 y 10). Las metas para el 2015 de la iniciativa Hacer Retroceder la Malaria (RBM por sus siglas en inglés) son reducir casos de malaria por 75% y muertes prevenibles a casi 0 a nivel mundial. Algunos países ya lograron reducciones de más del 75% en la mortalidad por malaria entre 2000 y 2012, incluyendo varios países en Centroamérica y Suramérica.

El compromiso declarado por la Fundación Bill and Melinda Gates (BMGF) en el 2007 para apoyar la erradicación de la malaria en el mundo, así como la participación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la iniciativa Hacer Retroceder la Malaria (RBM por sus siglas en inglés) renovó el interés por erradicar malaria. Los actores claves incluyendo instituciones multilaterales, países donantes, países con malaria endémica, la sociedad civil, el sector académico y el sector privado, entre otros hicieron un compromiso a largo plazo para erradicar la malaria, emprendiendo estrategias de eliminación en áreas en donde la malaria ha disminuido a niveles muy bajos con su participación en RBM.

Los países latinoamericanos están avanzando mucho en la erradicación de la malaria, aunque también hay datos preocupantes. El nuevo peligro es que las autoridades se confíen en que el fin está cerca y desaceleren sus esfuerzos para contrarrestar la malaria, debidos a los brotes que existen en los últimos meses en la costa caribe, lo cual muestra la problemática para la erradicación del parásito en nuestro país. (COMISCA, 2015)

En la Región de las Américas, el número de casos de malaria bajó un 67% entre el 2000 y el 2014 y las muertes relacionadas con la malaria disminuyeron un 79%. Actualmente, la malaria es endémica en 21 países y territorios de la Región: Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guayana Francesa, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Surinam y Venezuela. En la 58ª Asamblea Mundial de la Salud se estableció la meta de una reducción de 75% en la morbilidad por malaria usando como línea de base el año 2000, tal como se describe en la meta 6.C de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM). Esta meta, establecida en el 2005, se ha alcanzado en 14 de los 21 países endémicos. (Organización Panamericana de la Salud, 2016)

A fines del 2014, todos los países endémicos de la Región, excepto Haití y Venezuela, habían reducido la morbilidad por malaria en comparación con el 2000. Actualmente, 13 países de la Región se encuentran en la fase de control. Belice, Ecuador, El Salvador, México y la República Dominicana, se encuentran en la fase de pre eliminación, mientras que Argentina, Costa Rica y Paraguay se encuentran en la fase de eliminación. En el 2014, Argentina solicitó oficialmente a la Organización Mundial de la Salud (OMS) la certificación de país en malaria. A pesar de estos logros, todavía hay unos 108 millones de personas en riesgo de malaria, de las cuales al menos 5,7 millones corren un gran riesgo. (Organización Panamericana de la Salud, 2016)

Aunque la transmisión en Haití aún sigue siendo dispersa, en América Central la transmisión es más focalizada. Algunos países como parte de su vigilancia ya reportan los focos activos como por ejemplo para el 2013 Belice reportó 6 focos activos, Costa Rica 1 y El Salvador 2. Además, entre 2010 y 2011 los casos reportados a nivel de municipio disminuyeron en casi todos los 30 municipios con mayor carga de malaria en Centroamérica (Anexo 12). Las áreas de más alta transmisión de malaria en Centroamérica están circunscritas al municipio de La Gomera en Escuintla, Guatemala, la Moskitia ubicada en la frontera entre Honduras y Nicaragua, en el Valle de Bajo Aguan en Honduras (área de conflicto agrario), zona sur de Honduras adyacente a noroeste de Nicaragua y en el área de Kuna Yala en Panamá. Las poblaciones más afectadas incluyen indígenas, trabajadores del azúcar, palma africana, banano y poblaciones migrantes entre otras. (COMISCA, 2015)

La malaria es endémica en La Moskitia, zona situada a lo largo de la costa Atlántica, en el noroeste del país, que comparte una frontera con Honduras. En el 2014, Nicaragua notificó 1.163 casos de malaria, pero ninguna muerte. La Región Autónoma de la Costa Caribe Norte (RACCN) (Ver Anexo 13), tiene el mayor número de casos y abarca algunos de los municipios más afectados del país, como Waspám (26,2% de los casos de malaria del 2014), Rosita (22,6%), Puerto Cabezas (15,4%) y Prinzapolka (9,8%) (Ver Anexos 14,15,16,17). Sin embargo, también hay malaria en otras partes del país, incluso a lo largo de la costa norte del Pacífico, en el departamento de Chinandega, donde las plantaciones de caña de azúcar son zonas en las que proliferan los mosquitos. En la Región Autónoma de la Costa Caribe Sur (RACCS), los casos han aumentado en los últimos años. En el municipio de Desembocadura de la Cruz de Río Grande, los casos casi se triplicaron en el 2014 respecto del año anterior. Ambas regiones autónomas representan un 90% de los casos de malaria en Nicaragua. En el 2012-2014, siete municipios notificaron más de 1 caso por 1.000 habitantes en uno o más años. Los principales factores que contribuyen a la malaria en Nicaragua son la migración, los desastres naturales (inundaciones) y el narcotráfico. La mejora de la vigilancia también ha llevado a la detección de más casos. Alrededor del 2% de los casos del 2014 fueron importados. En cambio, Costa Rica ha notificado cinco casos importados de Nicaragua desde el 2011. (Organización Panamericana de la Salud, 2016)

El financiamiento gubernamental para la malaria a nivel nacional ha variado de un año a otro. En el 2014 fue menor que en el 2013, pero mayor que cualquier año del 2010 al 2012. El Fondo Mundial ha sido el principal contribuyente de recursos externos desde el 2006, por medio de subvenciones nacionales y recursos proporcionados por medio de la iniciativa EMMIE. Otras fuentes externas de fondos han sido la USAID, por medio de la Iniciativa AMI/RAVREDA, y la OPS/OMS. Nicaragua en la actualidad, se encuentra en una etapa favorable para dar inicio al proceso de pre eliminación y eliminación de la malaria. El territorio nacional está conformado por un total de 154 municipios, de los cuales un 60% de estos se encuentran actualmente sin transmisión de malaria, razón por la cual requieren de evaluación y monitoreo para iniciar un proceso de certificación. El 60% de los casos de Malaria en Nicaragua están concentrados en Bilwi, Puerto Cabezas, donde esta enfermedad ha incrementado en los últimos dos años, Waspám, el 27.2% de los casos totales del país,

seguido por Puerto Cabezas, con el 20.4% del país, Bonanza, con el 11% del país, Rosita, con el 9.3% y Prinzapolka, con el 7% del país. (MINSA, 2013)

En el 2012, se registraron a nivel nacional un total de 1,235 casos positivos de Malaria, de ellos 236 por *P. falciparum*, siendo los SILAIS de mayor transmisión los de: Bilwi, con el 55% de los casos positivos del nivel nacional, Las Minas con el 24% y Chinandega con el 11%, en estos tres SILAIS tenemos registrado el 90% de los casos de Malaria a nivel nacional hasta la actualidad estos son los municipios con el mayor brote de malaria en el país. Según el registro de casos de Malaria en Nicaragua en poblaciones vulnerables: poblaciones indígenas, poblaciones móviles que se desplazan para atender actividades agrícolas de cultivo de caña de azúcar, café, ganadería, minería, palma africana situadas en zonas fronterizas del corredor norte y sur del país, así como en el corredor norte-central con ecosistema favorable a la transmisión o reintroducción de la enfermedad, encontramos lo siguiente de acuerdo al Sistema de Información de Malaria (SIMALARIA).

Los hombres fueron más afectados que las mujeres en el 2014, con tasas de incidencia de 17,7 y 14,9 casos por 100.000 personas, respectivamente. El análisis por grupos etarios muestra que los hombres presentan una incidencia mayor en la mayoría de las edades. Los niños (de 10 a 14 años) y los adolescentes (de 15 a 19 años) presentaban la mayor incidencia de malaria. Se estima que hubo 17 casos de malaria por 100.000 embarazos en el 2014, cifra similar a la incidencia en las mujeres en edad fértil no embarazadas, lo cual implica que las embarazadas obtuvieron un alto índice en comparación con las mujeres en edad fértil no embarazadas lo que conlleva a una atención exhaustiva en pacientes embarazadas. (Organización Panamericana de la Salud, 2016)

La brecha en términos de atención oportuna de los casos diagnosticados se encontró que el 55% de los casos en 2017 accedió a servicios de salud en un período de tiempo mayor a 3 días. El 85% de las personas son tratados en los siguientes tres días al diagnóstico. La Red Diagnóstica de Malaria está constituida por cada uno de los laboratorios de los establecimientos de salud del MINSA y laboratorios privados, que garantiza el diagnóstico oportuno de la Malaria. En función de mejorar la pesquisa de casos febriles, el MINSA a nivel nacional, desde 2016 se implementan las Unidades de Atención a Febriles (UAF) en todos los establecimientos de salud, las cuales cuentan con salas para la observación de pacientes con

fiebre. De acuerdo con normativa del MINSA a todo caso con diagnóstico de Malaria se le garantiza el tratamiento específico de Malaria (oral o parenteral), según esquema establecido en la Norma Nacional de Malaria (MINSA, 2013)

Como parte de la respuesta nacional a la Malaria, Nicaragua ha elaborado instrumentos de gestión para la prevención y control de esta enfermedad, tales como: Norma Nacional para la Prevención, Control y Tratamiento de la Malaria, elaborada en el 2006 y Plan Estratégico para el control de la Malaria, 2009-2013.

El objeto de la Norma fue el de establecer los procedimientos y criterios técnicos para la prevención, control, vigilancia, diagnóstico y tratamiento de la Malaria, enmarcada en las Políticas, Planes y Programas del Ministerio de Salud. Desde 2000 se impulsa en Nicaragua, la Iniciativa hacer Retroceder la Malaria o Roll Back Malaria (RBM), apoyado por la OPS, cuya meta definida en el año 2000 era reducir al 50% la carga de malaria para 2010. El control de la malaria en el país, es apoyado por el Fondo Mundial y el proyecto AMI-RAVREDA. Por otro lado, a partir del año 2017 la estratificación epidemiológica de la malaria se ha llevado hasta el nivel de localidades y casa malárica, ha reorientado las estrategias de control y fortalecido la detección de casos, mejorando el acceso al diagnóstico y tratamiento, y ha permitido alcanzar niveles óptimos de control. Prosiguen los esfuerzos dirigidos a mejorar el diagnóstico parasitológico en los lugares de difícil acceso y de poblaciones indígenas. El país utiliza Cloroquina (CQ) y Primaquina (PQ) como tratamiento de primera línea para las infecciones por *P. falciparum* y *P. vivax* (Ver Anexo 18). (COMISCA, 2015)

VII. Diseño Metodológico

7.1 Tipo de estudio

Se realizó una investigación documental sobre el diagnóstico microbiológico enfocado a la Malaria, basada en la consulta de documentos libros, artículos, web, cuyo compromiso es analizar de forma descriptiva y explorativa un tema en particular.

7.2 Área de estudio

Área de parasitología, estudia la morfología, ciclo de vida, métodos diagnósticos y tratamiento del parásito, uno de los aspectos más relevantes de la parasitología es el estudio de parásitos hemáticos y tisulares causantes del paludismo, estudiando la detección de estos a través de diferentes procedimientos diagnósticos para así darle paso a la prevención y tratamiento de las enfermedades causadas.

7.3 Recolección de la información

La información fue recolectada de fuentes secundarias, se utilizaron publicaciones de artículos de revistas científicas, páginas web, libros, monografías, seminario relacionado a la malaria. Una vez revisado todo el material documental, se analizó la información la cual se ordenó y esquematizó toda la información útil para cumplir con los objetivos planteados en dicha investigación.

7.4 Instrumento de recolección

Para la recolección de la información se realizó un bosquejo del subtema acorde a los objetivos planteados para proceder a la búsqueda y análisis de la información.

7.5 Presentación de la información

La información fue procesada en el programa Microsoft office Word 2017, para la presentación del trabajo se utilizó el programa Microsoft Power Point 2016.

7.6 Ética y Confidencialidad de los datos

Para la realización de este estudio no se empleó ninguna técnica de recolección o intervención o modificación que afecte directamente a alguna persona, ni que violaran los principios éticos en investigación.

7.8. Limitaciones del estudio

Nuestra investigación se basa en la búsqueda de información de paginas web, artículos, revistas y libros, ya que no hay informes actuales publicados oficialmente por el Ministerio de Salud (MINSA), la información sobre cifras actuales no fue proporcionada lo que conlleva a una limitación del estudio de Malaria por lo cual trabajamos en base a los recursos antes mencionados.

VIII. Conclusiones

1. La malaria ha infectado a los humanos durante más de 50.000 años, y puede que haya sido un patógeno humano durante toda la historia de nuestra especie. Sin embargo, no fue hasta 1880, cuando gracias al médico militar francés Charles Louis Alphonse Laveran, se descubrió que la enfermedad era producida por un protozoo que se encontraba dentro de los glóbulos rojos de los infectados, durante el siglo XX hasta la fecha con la medicina preventiva se ha estado controlando al vector y esto ha dado resultados ya que hay países que no tienen índices de malaria.
2. El agente etiológico de la malaria son parásitos protozoarios del género *Plasmodium* donde el mosquito *Anopheles* es el vector de la malaria. Los parásitos son inoculados en el hospedador humano por un mosquito anofelino hembra durante su alimentación. Las cuatro especies principales de *Plasmodium* que infectan a los seres humanos son *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*. Es de gran importancia la lucha contra el vector, ya que de este modo estaremos evitando la aparición de nuevos casos (especialmente en caso de viajes a zonas endémicas si se proviene de zona no endémica).
3. Los métodos diagnósticos para la identificación de malaria tienen un alto índice de sensibilidad, pero la técnica de oro según la OMS es la gota gruesa ya que con esta técnica podemos identificar al parásito y podemos diferenciar su especie, hay otras técnicas donde podemos identificar malaria dentro de las cuales tenemos: Extendido Periférico, Tinción de Giemsa. También hay métodos indirectos que son serológicos estos tienen un costo más elevado que los métodos directos, pero son más específicos dentro de estos tenemos: Elisa, Hemaglutinación Indirecta, Inmunocromatografía, PCR y Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDR).
4. En el 2017 en Nicaragua se ha incrementado los casos de malaria significativamente en zonas del Caribe, y esto es un problema para el Ministerio de Salud, las zonas más afectadas son Waspám, Rosita, Puerto Cabezas y Prinzapolka.

IX. Bibliografía

- Atias, A. (2012). *Parasitología médica*. Chile : Fondo editorial de la CIB.
- Biomédica. (2014). *Revista del Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud de Colombia*.
Obtenido de Revista del Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud de Colombia:
file:///C:/Users/memorias_malaria.pdf
- Botero, D & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis humanas 5a edicion.*. Medellin, Colombia:
Fondo Editorial de la CIB. .
- Campuzano-Zulugaga G; Blair-Trujillo S. (2010). *Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. Medicina & Laboratorio*. Antioquia : Editora Médica Colombiana S.A., 2010©.
- Castillo F., K., García V., F., & García V., M. (2015). Concordancia de los resultados del método cuantitativo frente al método semi-cuantitativo en el diagnóstico microscópico de la Malaria, utilizando paneles de referencia en el centro de diagnóstico de referencia durante los meses julio - octubre 2014. *Tesis de grado para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis*. Managua.
- COMISCA. (Mayo de 2015). *Consejo de Ministerios de Salud de Centroamerica y Republica Dominicana*. Obtenido de Plan estrategico de la eliminacion de la malaria en America Central Y la Isla Española :
file:///C:/Users/articulos/Plan%20Estrategico%20Regional%20Malaria,%20VF%2002-06-15(1)%20arto%20de%20nic.pdf
- Duarte, J. (2011). Bogota : Editorial planet works .
- Duarte, Juan. (2011). *Concordancia entre OptiMAL y la gota gruesa para el diagnostico de malaria*. Obtenido de Concordancia entre OptiMAL y la gota gruesa para el diagnostico de malaria:
<http://atlas.umss.edu.bo:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/121/CONCORDANCIA%20ENTRE%20EL%20OptiMAL%20Y%20LA%20GOTA%20GRUESA%20PARA%20EL%20DIAGNOSTICO%20DE%20MALARIA%20EN%20EL%20MUNICIPIO%20DE%20RIBERALTA%20%202011.pdf?sequence=1>
- German, C. Z., & Silvia, B. T. (2010). *Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico*. Bogota: Editora Médica Colombiana S.A.,. Obtenido de Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico.
- Giraldo Arizabal, M. A., Martinez Sanchez, L. M., Quintero Moreno, D. A., Muñoz Rios, J. H., & Valencia Asprilla, L. E. (Febrero de 2017). *Malaria, Enfermedades tropical multiples metodos diagnosticos*. Obtenido de Malaria, Enfermedades tropical multiples metodos diagnosticos :
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273854673019>

- Gutierrez, H. C. (Octubre de 1983). *t4.pdf* . Obtenido de t4.pdf : <http://repositorio.unan.edu.ni/4585/1/t4.pdf>
- Historia de la Malaria*. (18 de Febrero de 2019). Obtenido de <https://rph.health.wa.gov.au/labs/haem/malaria/spain/history.html>
- MINSA. (2013). Normativa 114. Managua: Ministerio de Salud.
- Montoya, P., & Sevilla, C. (Octubre de 2007). *Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico de malaria*. Obtenido de Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico de malaria: http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/Manual_diagnostico_microscopico_malaria_P1.pdf
- Muñoz, J., Rojo-Marcos, G., & Olivencia, G. R. (26 de Agosto de 2013). *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica* . Obtenido de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica : www.elsevier.es/eimc
- OMS. (2011). *universal access to malaria diagnostic testing*. Obtenido de universal access to malaria diagnostic testing: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44657/9789241502092_eng.pdf?sequence=1
- OMS. (10 de Marzo de 2015). *Estrategia Técnica mundial contra la malaria* . Obtenido de Estrategia Técnica mundial contra la malaria : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/186671/9789243564999_spa.pdf?sequence=1
- OPS; OMS . (2006). *Uso de las pruebas en el Diagnóstico Rápido de la Malaria*. Obtenido de Uso de las pruebas en el Diagnóstico Rápido de la Malaria: www.wpro.who.int/rdt
- Organizacion Panamericana de la Salud. (2016). *Situación de la Malaria en la Región de las Américas*. Obtenido de Situación de la Malaria en la Región de las Américas: <file:///C:/Users/2016-cha-situacion-malaria-americas.pdf>
- Pavon Ramos. (2009). *Malaria en las Americas* . Obtenido de Malaria en las Americas : <http://www.anlis.gov.ar/inst/consulta/infecciosas/malaria/malaria.htm>
- Rosas Aguirre, Á., Gamboa, D., Rodriguez, H., & Zavalaga., & F. (2010). *Uso de paneles de láminas estandarizadas para la evaluacion de competencias en el diagnóstico microscópico de la malaria en la amazonia peruana*. Peru.

X. ANEXOS

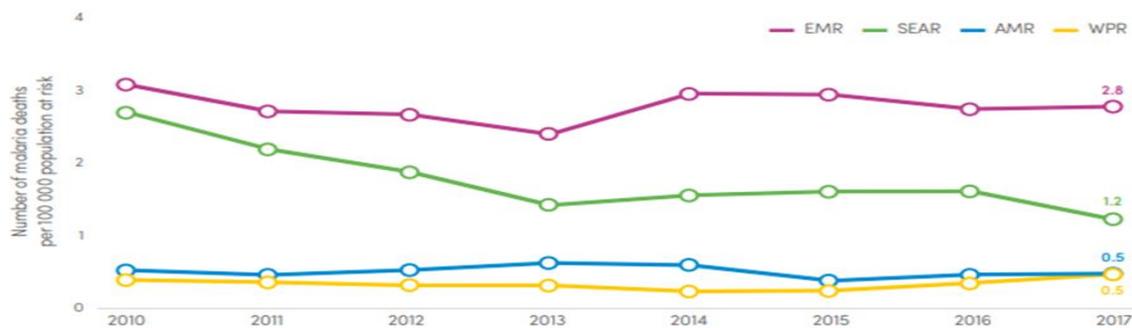
Anexo 1. Tabla de resistencia de los vectores en las regiones de África, América, Asia.

Fuente: OMS

	Number of deaths							
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
African	555 000	517 000	489 000	467 000	446 000	432 000	413 000	403 000
Americas	480	450	400	400	300	320	460	630
Eastern Mediterranean	8 070	7 280	7 340	6 750	8 520	8 660	8 160	8 300
European	0	0	0	0	0	0	0	0
South-East Asia	39 800	32 800	28 400	21 800	24 100	25 200	25 600	19 700
Western Pacific	3 770	3 340	3 850	4 600	4 420	2 860	3 510	3 620
World	607 000	561 000	529 000	500 000	483 000	469 000	451 000	435 000
World (children aged under 5 years)	444 600	405 000	371 000	344 000	322 000	302 000	283 000	266 000

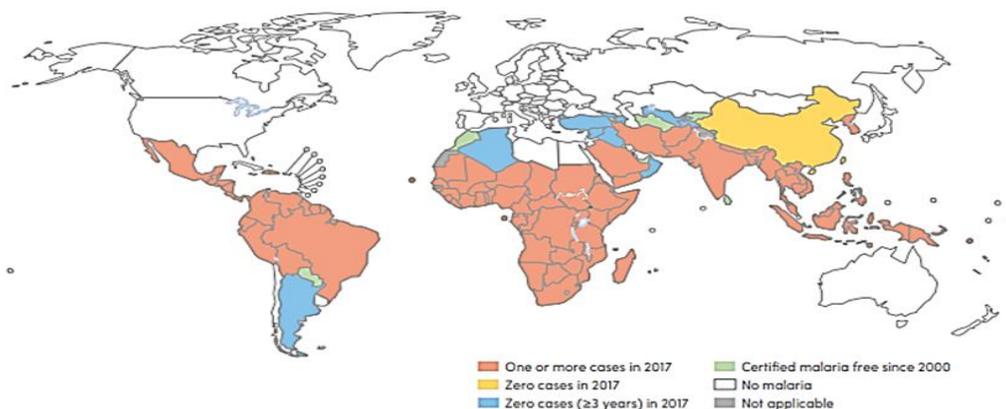
Anexo 2. Países y áreas con incremento estimado de más del 20%

Fuente: OMS



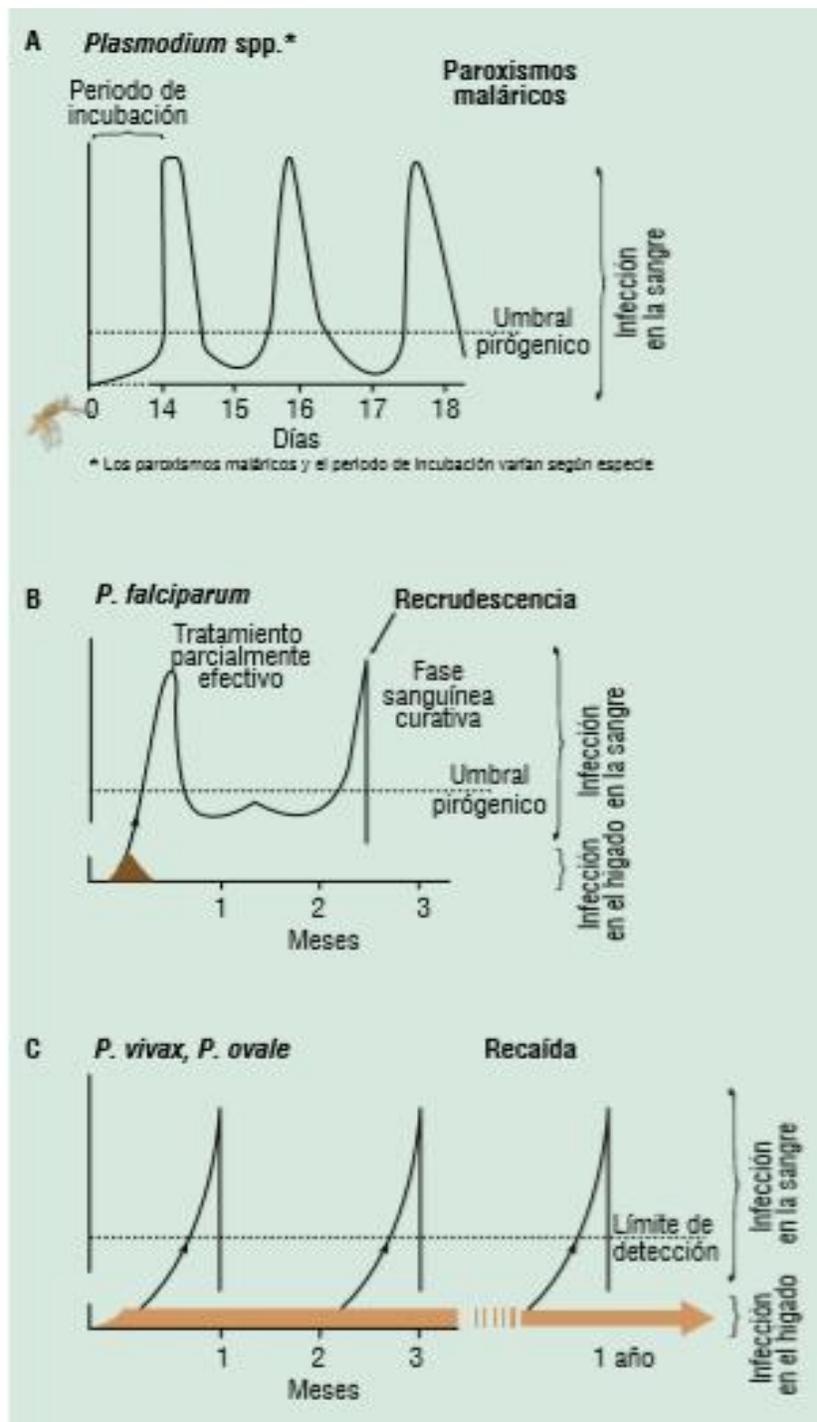
Anexo 3. Países con más afectaciones con malaria a nivel mundial.

Fuente: OMS



Anexo 4. Fisiopatología de malaria

Fuente: *Malaria, Consideraciones sobre su diagnóstico (German & Silvia)*

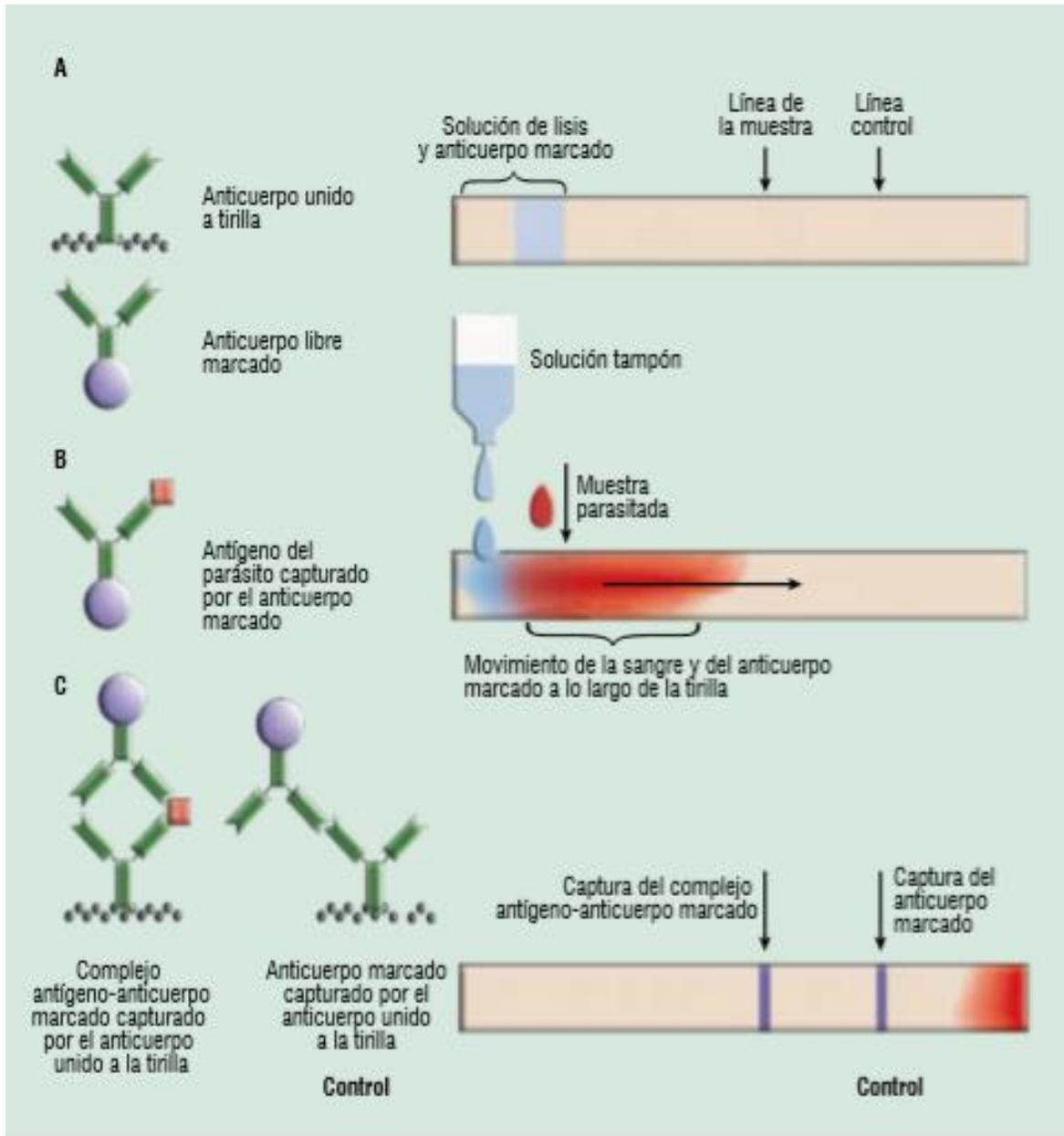


Anexos 5 y 6. Densidad parasitaria estimada por leucocitos y por microlitro de sangre, gota gruesa y extendido fino. Fuente. OMS

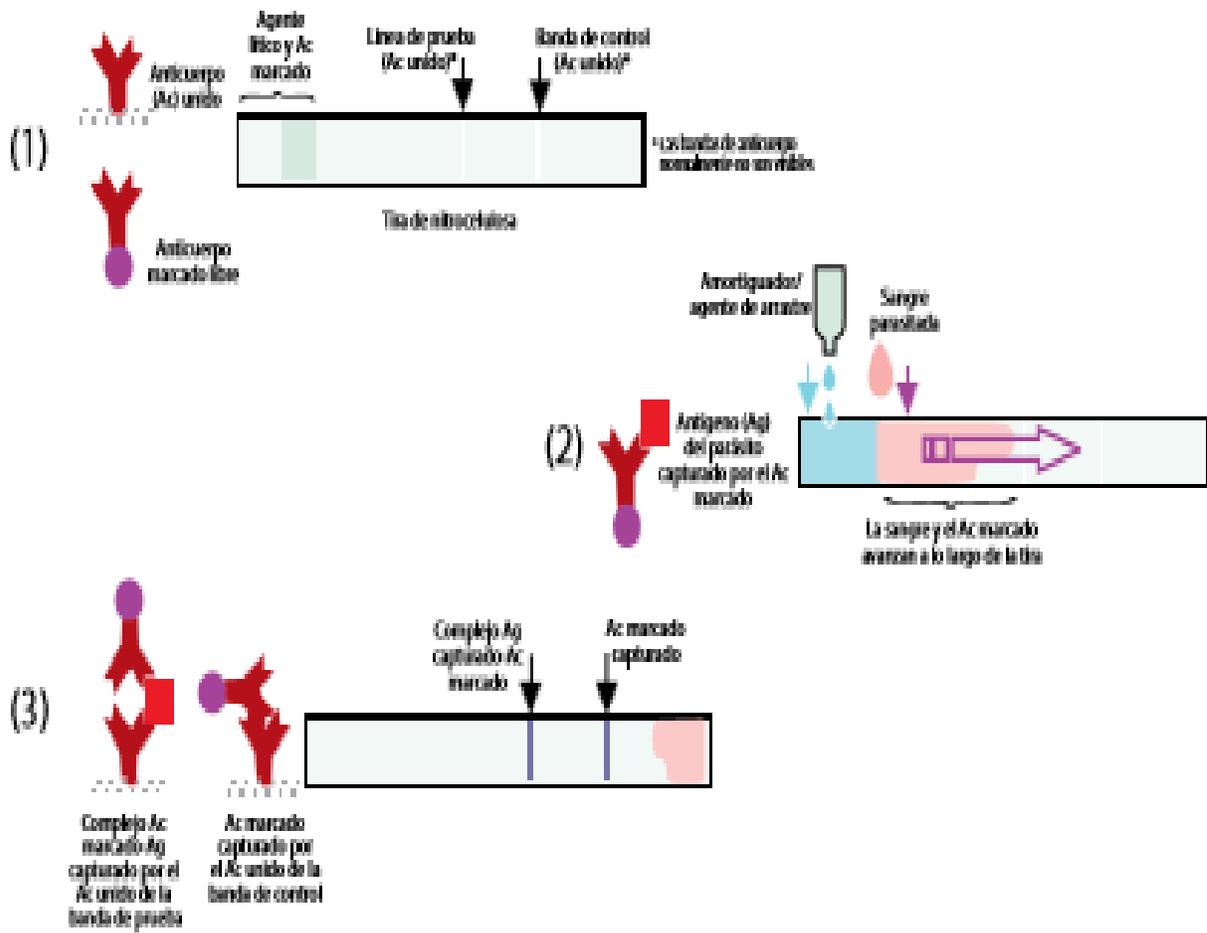
Densidad parasitaria por Cruces	Parasitemia observada
+	1-10 parásitos en 100 campos
++	11-100 parásitos en 100 campos
+++	2-10 parásitos por campo
++++	>10 parásitos por campo

Densidad	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>	
	Por 100 leucocitos	Por microlitro	Por 100 leucocitos	Por microlitro
Baja	< 10	<800	< 10	<800
Moderada	10- 50	800-4000	10 - 30	800-2400
Alta	>50	>4000	>30	>2400

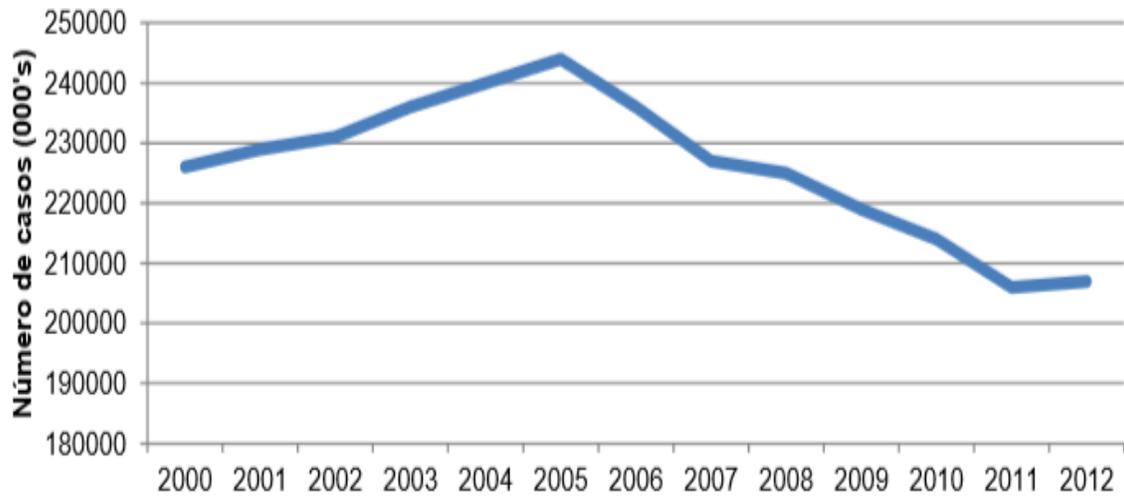
Anexo7. Métodos rápidos por Inmunocromatografía
Fuente: OPS/OMS



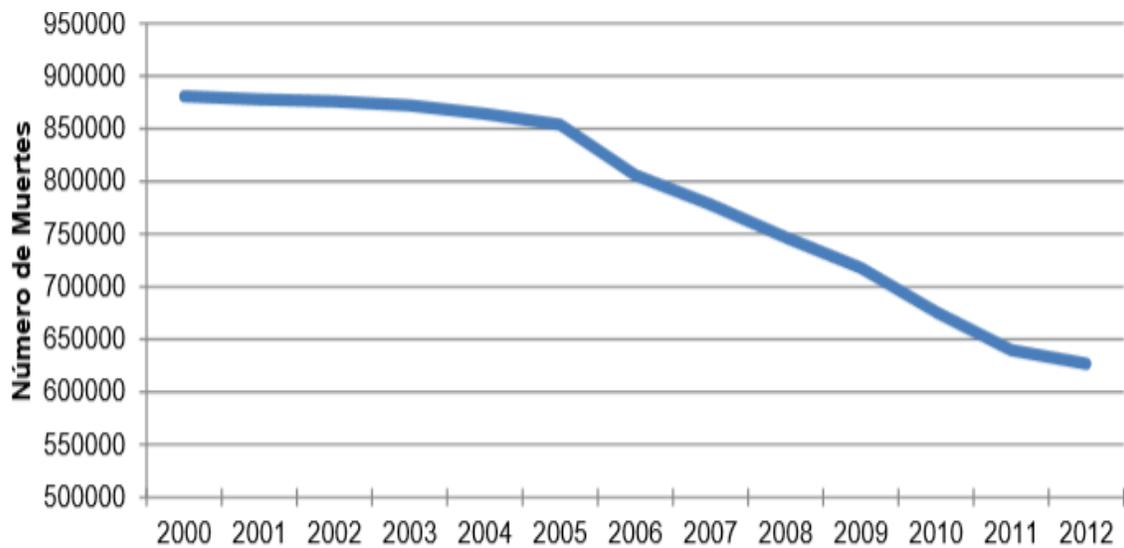
Anexo 8. Diferenciación de las tiras reactivas de PDR
Fuente: OPS/OMS



Anexo9. Morbilidad y mortalidad de malaria
Fuente: OMS

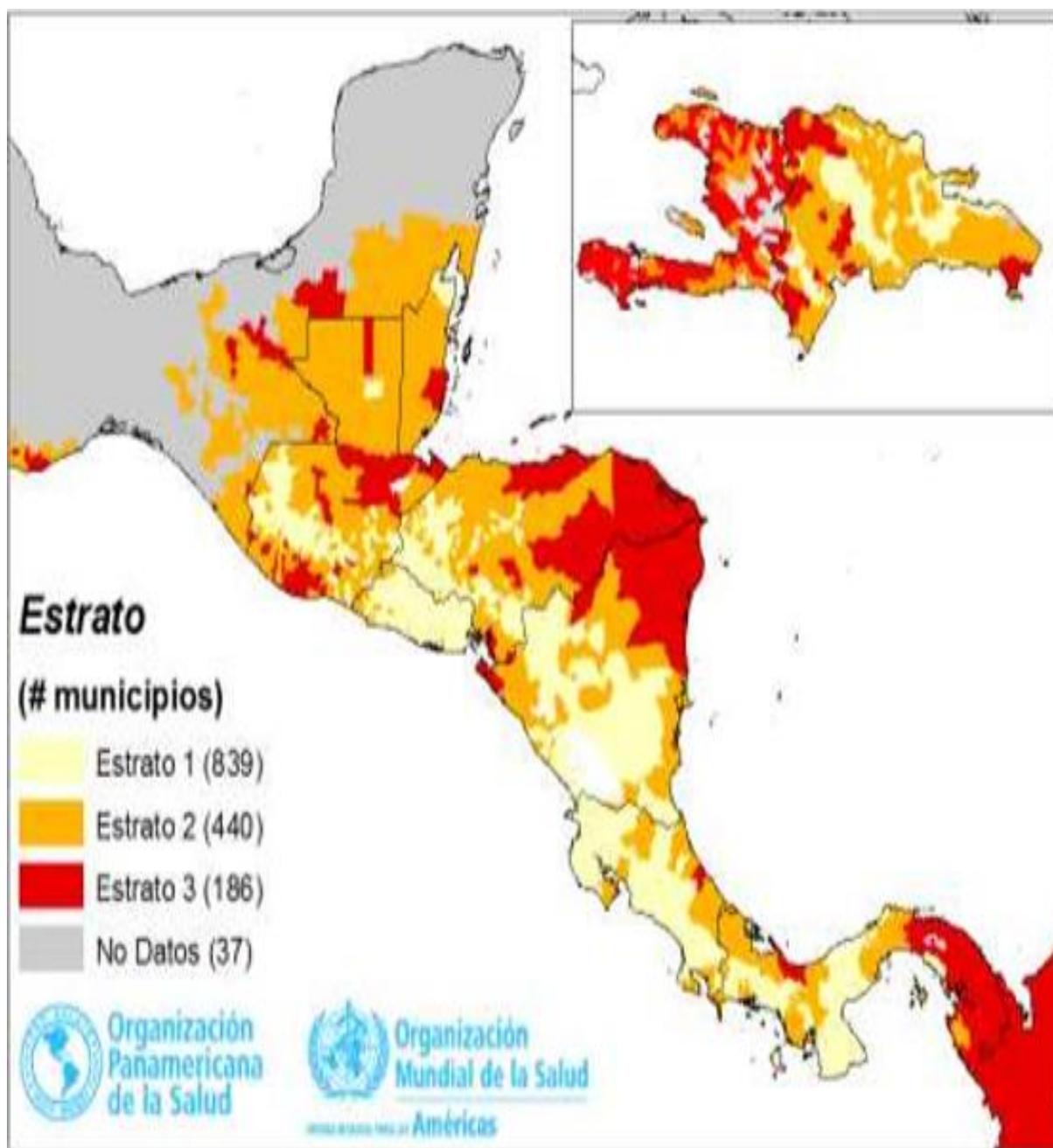


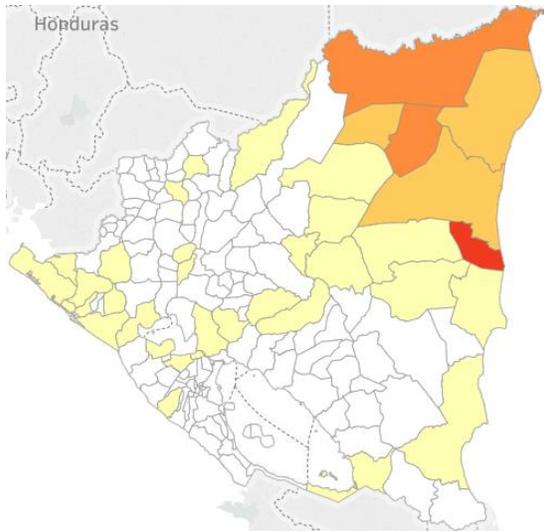
Anexo 10. Morbilidad y mortalidad de malaria
Fuente: OMS



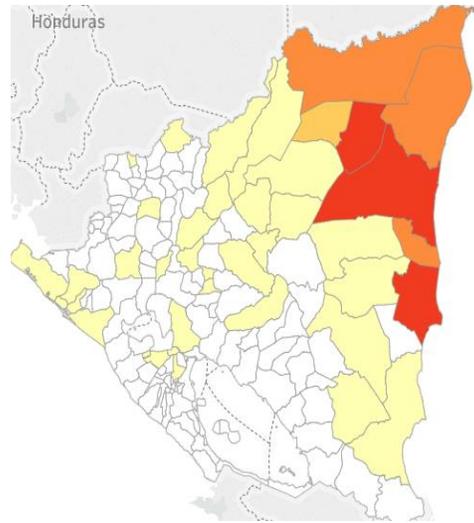
Anexo 11. Distribución de la malaria en Centroamérica

Fuente: OMS

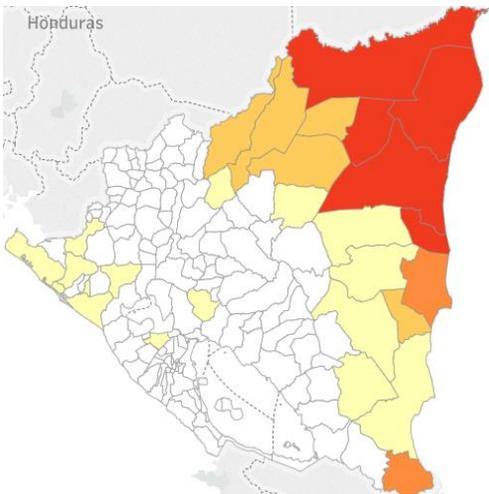




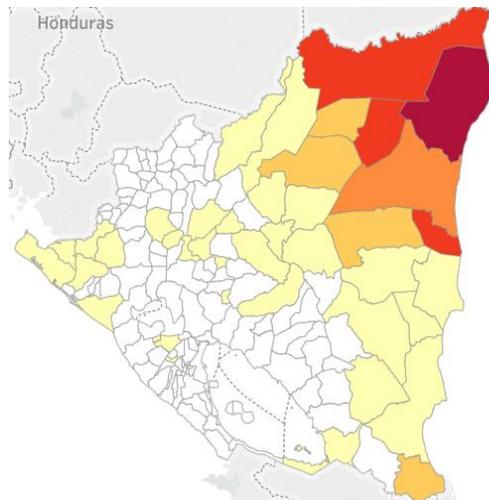
Nicaragua 2014



Nicaragua 2015



Nicaragua 2016

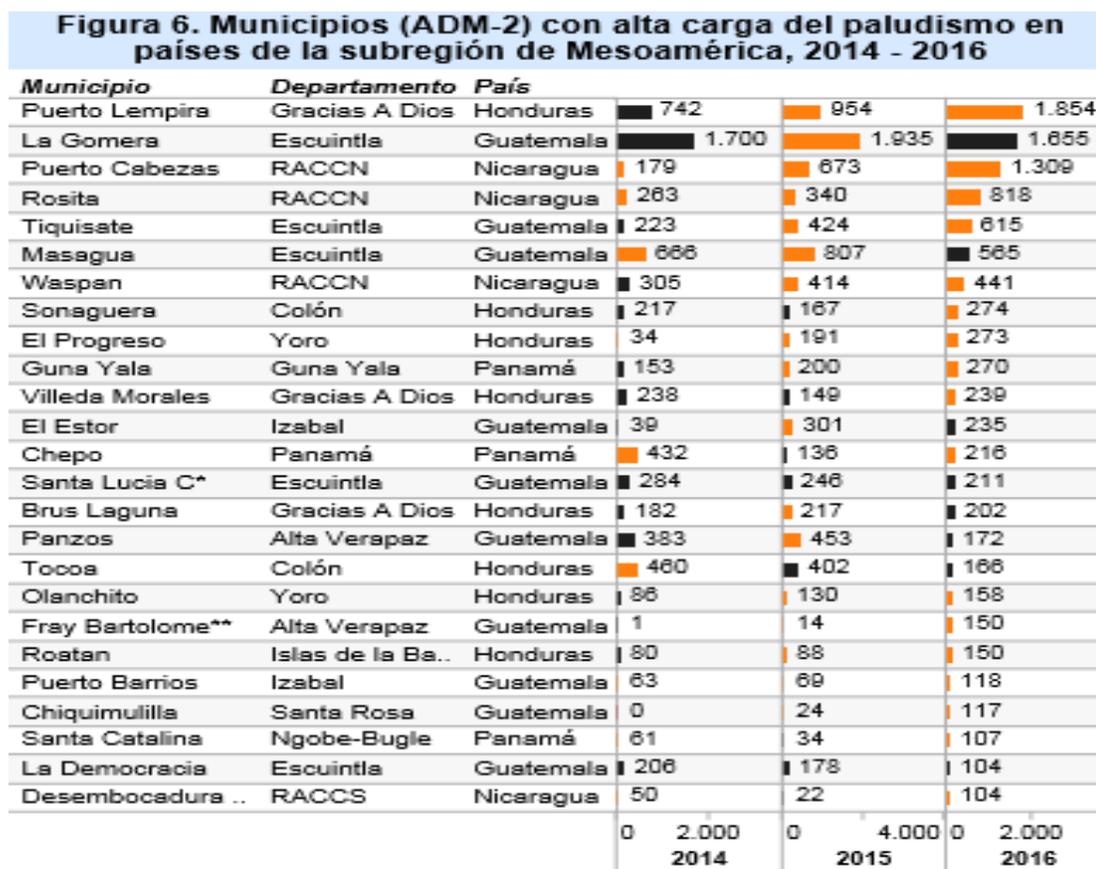


Nicaragua 2017

Evolución de la malaria en Nicaragua. Anexo 12

Fuente: OMS

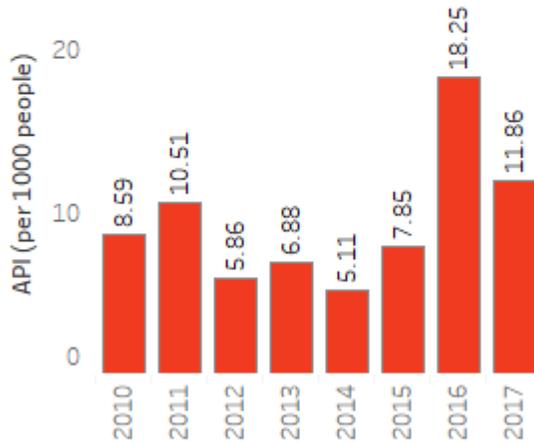
Anexo 13. Número de casos en el Caribe de Nicaragua
Fuente: OMS



* Santa Lucia Cotzumalguapa, ** Fray Bartolome de las Casas; RACCN-Región Autónoma de la Costa Caribe Norte; RAACS- Región Autónoma de la Costa Caribe Sur

District/Municipality: Waspan
 State: Region Autonoma del Atlantico Norte
 API: 10.01 - 50 (11.86) in 2017

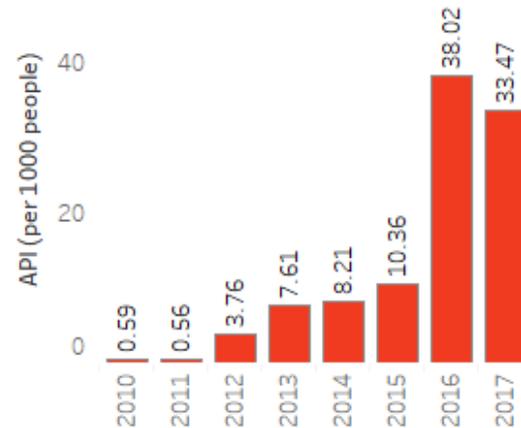
**Annual Parasite Incidence (x1000 inhabitants)*



Anexo 14

District/Municipality: Rosita
 State: Region Autonoma del Atlantico Norte
 API: 10.01 - 50 (33.47) in 2017

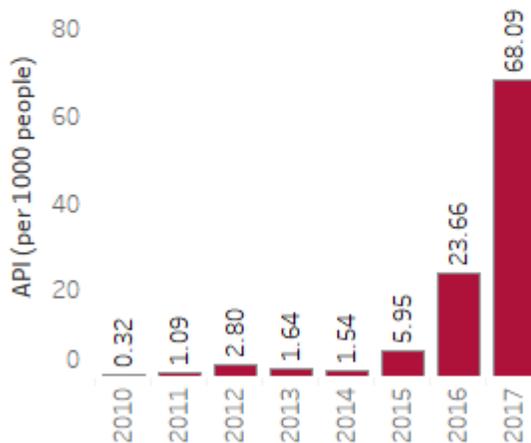
**Annual Parasite Incidence (x1000 inhabitants)*



Anexo 15

District/Municipality: Puerto Cabezas
 State: Region Autonoma del Atlantico Norte
 API: >50 (68.09) in 2017

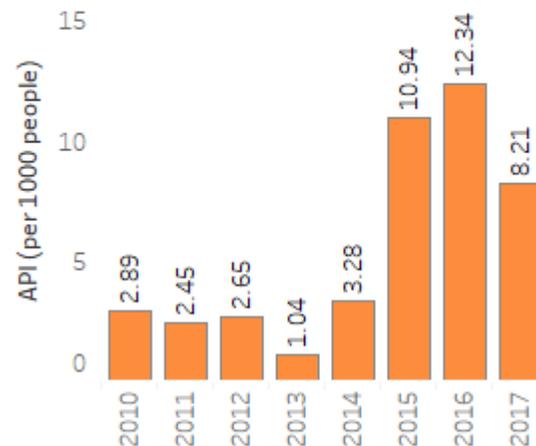
**Annual Parasite Incidence (x1000 inhabitants)*



Anexo 16

District/Municipality: Prinzapolka
 State: Region Autonoma del Atlantico Norte
 API: 5.01 - 10 (8.21) in 2017

**Annual Parasite Incidence (x1000 inhabitants)*



Anexo 17

Tablas de la evolucion de Malaria en Nicaragua desde el 2010 hasta 2017.

Fuente: OMS

Anexo 18. Tratamiento de elección en Centroamérica

Fuente: OMS

País	Plasmodium. vivax	Plasmodium falciparum
Belice	CQ(3d) +PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (1d)
Costa Rica	CQ(3d) +PQ (7 y 14d)	CQ(3d)+PQ
El Salvador	CQ (3d)+PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (1d)
Guatemala	CQ(3d)+PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (3d)
Haití	CQ(3d)+PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (1d)
Honduras	CQ(3d)+PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (1d)
Nicaragua	CQ(3d)+PQ (7d)	CQ(3d)+PQ (1d)
Panamá	CQ(3d)+PQ (7 y 14d)	AL (3d)
República Dominicana	CQ(3d)+PQ (14d)	CQ(3d)+PQ (1d)