



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

**RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “DR. LUIS FELIPE MONCADA”
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS
CLÍNICO**

Tema: Frecuencia de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) y su relación con la malaria en pobladores de la Ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas en el período comprendido de octubre 2019 a marzo de 2020.

Autores:

Br. Fernando Noel Cuendis Mairena

Br. Belén Anahí Castillo Zamora

Tutor: Msc. Linda Ekaterina Saballos Morales

Asesor metodológico: Msc. María Soledad Mendoza Salty

Managua, 3 de diciembre de 2020

Índice

1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Justificación	5
4. Planteamiento del problema	6
5. Objetivos	8
5.1. Objetivo general	8
5.2. Objetivos específicos	8
6. Marco teórico	9
6.1. Deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	9
6.1.1. Bioquímica	10
6.1.2. Genética	11
6.1.3. Fisiopatología	12
6.1.4. Epidemiología	14
6.2. Plasmodium spp	15
6.2.1. Ciclo biológico y Estructura	17
6.2.2. Mecanismos patogénicos	18
6.2.3. Mecanismos de respuesta	21
6.2.4. Epidemiología	22
6.2.5. Métodos diagnósticos	23
6.3. Método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso	25
6.3.1. Principio	26
6.3.2. Interpretación	26
6.3.3. Características del método	26
7. Hipótesis	27
8. Diseño metodológico	28
9. Análisis y discusión de resultados	49
10. Conclusiones	57
11. Recomendaciones	58
12. Referencias bibliográficas	59
13. Anexos	68

Dedicatoria

Dedicamos el presente trabajo investigativo a:

Dios: por habernos concedido la vida, salud, sabiduría, fortaleza y por guiarnos en cada paso que tomamos.

Padres: por su apoyo incondicional en el trayecto de la carrera y en la presente investigación, por los valores que desde niños nos enseñaron para ser personas que aporten a la sociedad.

Docentes y personal del laboratorio clínico-docente: por brindarnos sus conocimientos y una educación de calidad y calidez para nuestra formación como profesionales de la salud.

Agradecimientos

A nuestra tutora, Msc. Linda Ekaterina Saballos Morales y a nuestra asesora metodológica, Msc. María Soledad Mendoza Salty, por su confianza brindada, por el apoyo que nos ofrecieron a lo largo de la investigación, por su ferviente compromiso en la corrección del trabajo investigativo y por los consejos proporcionados que estamos seguros consolidarán nuestra formación como personas y como profesionales.

Al Dr. Walter Rodríguez Romero, docente de la cátedra de hematología de la facultad de microbiología de la Universidad de Costa Rica (UCR) por la asesoría técnica en la investigación.

A la dirección de parasitología del centro nacional de diagnóstico y referencia (CNDR) por habernos brindado su apoyo incondicional cuando más lo necesitábamos, por facilitarnos sus recursos humanos, financieros, materiales, por su respaldo y acompañamiento en el transcurso de la investigación.

Al sistema local de atención integral en Salud (SILAIS), Bilwi, Puerto Cabezas, por su respaldo, autorización de la investigación y del uso de equipamiento de los laboratorios de su red de salud en el municipio de Puerto Cabezas.

Al laboratorio clínico del Centro de Salud Policlínico Ernesto Hodgson Wright, por brindarnos recursos materiales y sus instalaciones para el procesamiento de las muestras.

Al laboratorio regional del SILAIS Bilwi por proporcionarnos acompañamiento en el proceso de muestreo y por su apoyo técnico en las lecturas de las láminas de gota gruesa.

Al Instituto Politécnico de la Salud “Dr. Luis Felipe Moncada” de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-MANAGUA) por ser el centro de educación donde nos formamos como profesionales y por hacer más fácil la gestión de las investigaciones mediante sus extensiones.

A la clínica de emergencias de la UNAN-MANAGUA, a cargo de la Dra. Dionnys Cecilia Detrinidad Espinoza por apoyarnos con recursos materiales necesarios para el desarrollo de la investigación.

A los que participaron en la investigación por habernos proporcionado su confianza y facilitarnos sus muestras sanguíneas.

¡¡¡A todos muchas gracias!!!

Resumen

Las vías metabólicas del cuerpo humano en general son catalizadas por enzimas, la Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa cataliza la vía de las pentosas fosfato derivada de la vía de Embden Meyerhof, esta ruta metabólica tiene relación directa con la protección del eritrocito contra el daño oxidativo. La deficiencia de esta enzima provoca pérdida de poder reductor y por ende estrés oxidativo en el eritrocito. La deficiencia es un importante problema de salud pública, una causa no reconocida de morbi-mortalidad y su relación con la malaria es aún más importante considerando a esta última la mayor causa del déficit enzimático.

Se realizó un estudio analítico de corte transversal con el objetivo de analizar la frecuencia de la deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y su relación con la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas en el período comprendido de octubre 2019 a marzo 2020.

El estudio se realizó en 25 Barrios de la Ciudad Bilwi, muestreándose a 237 personas sanas y/o con antecedentes maláricos, de ambos sexos y edades comprendidas entre 1 a 67 años. Las muestras hemáticas con anticoagulante EDTA K3 fueron procesadas por el método de reducción de azul de metileno en el laboratorio del Policlínico Ernesto Hodgson Wrigth de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas. La frecuencia general de la deficiencia de G6PD en la población estudiada es relativamente alta con un 53.2%, siendo mayor en personas de sexo femenino con 66.7% aunque estadísticamente no hay relación entre sexo y deficiencia, ($\phi = -.075$, $p = 0,253$ / $r = -.075$, $p = 0,253$) y el rango de edades predominante fue de 6 a 30 años con un 73.01%.

En cuanto a la asociación de la deficiencia de G6PD con la malaria se midió en una muestra de 237 casos (N=237). Al asociar la deficiencia de G6PD y la malaria se encontró una relación estadísticamente significativa y directamente proporcional ($\phi = .222$, $p < 0.05$ / $r = .222$, $p < 0.05$) entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria.

Valoración de tutor

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) constituye uno de los desórdenes hemolíticos hereditarios más comunes, afectando a cerca de 400 millones de personas a nivel mundial. Caracterizada por ocasionar estrés oxidativo en los eritrocitos, por si misma puede ser causa de hemolisis y se potencia cuando la persona que la posee entra en contacto con un agente de amplio poder oxidante como son los antimaláricos (Primaquina, Cloroquina) los cuales son utilizados a nivel nacional como tratamiento de primera línea, la reincidencia de episodios maláricos, hacen que la persona sea expuesta a dosis continuas de estos fármacos.

Investigaciones realizadas en Centroamérica por Costa Rica, estudiaron la prevalencia de las mutaciones de la G6PD-a y G6PD-b, con sus respectivas variantes deficientes (a-y b-) en población costarricense, por su parte Honduras estudió las frecuencias en la población de áreas maláricas, para las variantes G6PD A⁺ y G6PD A⁻. Sin embargo, en Nicaragua este es el primer estudio que se realizó en conjunto con el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, CNDR-MINSA, y sentara las bases de futuras investigaciones que permitirán conocer la prevalencia y variantes electroforéticas que presenta nuestro país. El presente trabajo tuvo como objetivo principal analizar la frecuencia de la deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y su relación con la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto cabezas. Los resultados obtenidos en este estudio comprobaron la necesidad de conocer más de esta patología en el territorio de mayor incidencia de malaria de modo que se valore una alternativa de tratamiento para pacientes con episodios repetitivos.

Como tutora científica de este trabajo, me siento satisfecha con los resultados encontrados y el trabajo realizado por estos jóvenes. Por consiguiente, doy fe que este trabajo reúne todos los requisitos científicos establecidos por la UNAN-Managua para presentarse frente a un jurado.

*Msc. Linda Saballos Morales.
Responsable del Laboratorio Nacional de Malaria
Dirección de Parasitología
CNDR/MINSA*

Valoración metodológica

Por este medio, hago constar que la Monografía con el Tema: **Frecuencia de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) y su relación con la malaria en pobladores de la Ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas en el periodo comprendido de octubre 2019 a marzo de 2020.** Tiene la coherencia metodológica y científica consistente, cumpliendo de esta manera con los parámetros necesarios para su defensa final, como requisito para **optar al grado de “Licenciatura en Bioanálisis Clínico”**, que otorga el Politécnico de la Salud, Luis Felipe Moncada UNAN-Managua.

Se extiende la presente valoración, en la ciudad de Managua a los once días del mes de agosto del año dos mil veinte.

Atentamente.

*Msc. María Soledad Mendoza Salty
Bioanalista Clínico
Coordinadora de Investigación
Docente del POLISAL-UNAN-Managua*

1. Introducción

La deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) constituye el “defecto enzimático más común a nivel mundial” (Sáenz, 2016, p.113). La deficiencia de la enzima G6PD se identificó en 1956, su determinación cromosómica se conoció en 1958 y las variantes electroforéticas se demostraron en 1962, reflejando la importancia genética, clínica y bioquímica del polimorfismo del gen G6PD (Alatorre, González, López, y Rojo, 2017).

El eritrocito posee sistemas metabólicos bien establecidos que mantienen un equilibrio para que éste funcione en óptimas condiciones a pesar de la pérdida de la vía de fosforilación oxidativa. El eritrocito compensa dicha pérdida con la presencia de la vía de Embden-Meyerhof, suplantada con otras, como la vía de las pentosas fosforadas, el ciclo del glutatión, el desvío de Rapaport Leubering y el ciclo de los nucleótidos (Sáenz, 2016).

Una de las vías metabólicas que se deriva de la vía de Embden-Meyerhof es la vía de las pentosas fosfato o fosforadas, la importancia de esta vía metabólica en el estudio radica en que esta vía es regulada por la G6PD, la función de esta ruta es la protección del eritrocito contra el daño oxidativo, la deficiencia de esta enzima está relacionada directamente con la hemólisis oxidativa.

Epidemiológicamente la presencia de “la deficiencia se ha asociado a su efecto protector contra *Plasmodium falciparum*” (Sáenz, 2016, p. 114). Sabiendo que las mutaciones en Xq28 llevan a deficiencia de G6PD y esto, a su vez, a alteraciones de la homeostasis oxidativa, luego se evidenció que la prevalencia de este defecto en zonas no endémicas para malaria (<0,5%) es muy inferior a la encontrada en zonas endémicas para malaria (5% a 25%) (Ramírez y Zarante, 2009).

La deficiencia de G6PD es un problema importante de salud pública. Alrededor del 7,5% de la población mundial tiene uno o dos genes por deficiencia de G6PD, la proporción que oscila entre un máximo del 35% en partes de África, y el 0,1% en Japón y partes de Europa. Alrededor del 2,9% de la población mundial tiene deficiencias genéticas de la G6PD. Es importante señalar que, aunque se suele pensar que los trastornos ligados al cromosoma X afectan sólo a los varones, en este caso, debido a la alta frecuencia del gen, y la alta incidencia de matrimonios

consanguíneos, las mujeres homocigotas contribuyen alrededor del 10% de las deficiencias de G6PD (World Health Working Group, 1989).

En muchos países en vías de desarrollo endémicos de malaria existen pocos estudios o un vacío absoluto de información sobre la prevalencia y frecuencia de alelos deficientes del gen de la G6PD. Para la región centroamericana, los dos únicos países que registran publicaciones relacionadas son Panamá, Honduras y Costa Rica (Zúñiga y Fontecha, 2015).

2. Antecedentes

En Nicaragua no se reportan estudios sobre la prevalencia o incidencia de la deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) en la población nicaragüense, a pesar de los muchos reportes en otros países de Latinoamérica, aun en Centroamérica no se han hecho más investigaciones que en Costa Rica, Honduras y Panamá.

En el estudio que realizaron Fontecha, Zúñiga y Mejía (2015) sobre la Deficiencia de Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa en individuos infectados con malaria en Honduras obtuvieron como resultado el primer reporte de la variante Santamaría en Honduras, además se determinó que las frecuencias en la población de áreas maláricas de Honduras, para las variantes G6PD A+ y G6PD A- (4.50 % y 12.00 %) es mucho mayor a la predicción teórica esperada.

En Costa Rica entre los años 2001 al 2003 se estudió la prevalencia de las mutaciones de la G6PD-a y G6PD-b, con sus respectivas variantes deficientes (a-y b-) en población costarricense.

Carmona, Álvarez, Rios y Vásquez (2008) investigaron la Deficiencia de G6PD en hombres sanos y en pacientes maláricos en Turbo (Antioquia, Colombia) y obtuvieron como resultado que los promedios masculinos (sanos vs. maláricos) fueron estadísticamente diferentes ($p = 0,028$). Únicamente 9,5% (13/137) de los enfermos con paludismo, todos de sexo masculino, presentaron d-G6PD. Concluyeron que la d-G6PD es relativamente alta (14,8%) en la población masculina sana de Turbo y en los enfermos maláricos por *P. vivax* (9,5%, todos hombres).

En un estudio preliminar para evaluar la prevalencia de G6PDd en zonas representativas de la malaria endémicas de Colombia mediante la medición del fenotipo y los genotipos de G6PD, se obtuvo como resultados que un total de 28 individuos (6,56 %) G6PDd grave o intermedio. La mayor prevalencia (3,51 %) fue en Buenaventura, mientras que la prevalencia de G6PDd fue menor (<1 %) en Tierralta y Quibdó. Los alelos A fueron los más frecuentes (15,23 %) particularmente en Buenaventura y Tumaco. En general, se encontró una alta frecuencia del genotipo G6PD A, seguido del genotipo A+ en la población analizada (Herrera, Darío, Arce, Recht y Arévalo, 2016).

Bastidas, Pérez y Vizzi (2015) realizaron una revisión sobre aspectos bioquímicos, estructura, genética, bases moleculares, defecto enzimático, prevalencia de la deficiencia en el mundo y en Venezuela, y el papel de la deficiencia de G6PD en el tratamiento de la malaria por el incremento

en el riesgo de hemólisis que lleva consigo la tendencia de aumentar la dosis total de Primaquina en sujetos con paludismo, particularmente en las regiones donde predomina la infección por *Plasmodium vivax*.

3. Justificación

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) es la enzimopatía más común en el ser humano y el quinto defecto congénito más común a nivel mundial. Tiene una distribución global pero asimétrica debido a la ventaja selectiva que ofrece en las zonas con prevalencias altas de paludismo. La importancia del estudio de la deficiencia de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa radica en la necesidad de proveer información epidemiológica, científica y de interés social, considerando que hasta la actualidad no existen en Nicaragua investigaciones publicadas al respecto.

Con los avances tecnológicos que se han realizado en el campo de la salud se han proporcionado numerosas técnicas y métodos para el estudio de enzimopatías, el método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso es una de las tantas técnicas asequibles y es de interés porque permite estudiar la deficiencia de G6PD, además la viabilidad del método es eficiente en gran manera y accesible para un estudio de grandes proporciones.

Los avances científicos en el área de la salud en Nicaragua son de relevancia nacional porque generan un marco de respuesta adecuada a las necesidades de un subgrupo de la población. El conocimiento de la deficiencia de G6PD y la relación que existe entre ésta y la malaria será de relevancia clínica, actualmente, se ha demostrado que la prevalencia global de la malaria y de ciertos desórdenes hemolíticos se correlacionan geográficamente; tal es el caso de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el hallazgo de ésta enzimopatía en la población conlleva a una respuesta médica adecuada brindando soluciones a patologías como las metahemoglobinemias e incluso una anemia hemolítica por estrés oxidativo.

La investigación servirá de base teórica, científica y práctica para futuros estudios que permitirán un enriquecimiento de conocimiento, el estudio analizará el cruce de variables y establecerá una relación entre las mismas. Además, sugiere una forma práctica, sencilla y económica de estudiar la deficiencia más a fondo en las costas del caribe y zonas endémicas para malaria.

4. Planteamiento del problema

La malaria es una infección causada por *Plasmodium spp*, las incidencias en Nicaragua son tasas extremadamente altas, principalmente en zonas del caribe de Nicaragua. Según el mapa nacional de salud del Ministerio de salud (MINSA, 2019) en el 2017 se reportaron 9,092 casos confirmados por *Plasmodium vivax* y 1857 casos por *Plasmodium falciparum* sin ninguna muerte. En el 2018 se reportaron 14,464 casos confirmados de *Plasmodium vivax* con un total de 3 muertes y 1347 casos por *Plasmodium falciparum*. En el boletín epidemiológico hasta la semana 38 del 2019 del MINSA (2019) se reportan 8,735 casos de malaria por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* a nivel nacional.

Las regiones del caribe son zonas prevalentes de malaria, no obstante, es necesario destacar que de acuerdo con datos del MINSA (2019) en el 2017 el municipio de puerto cabezas albergó 7,169 (78.9 %) casos de malaria por *Plasmodium vivax* y 713 (38.4%) casos de *Plasmodium falciparum* y en el 2018 presento 12,642 (87.4%) casos de malaria por *Plasmodium vivax* y 733 (54.4%) casos de malaria por *Plasmodium falciparum*.

Las causas de la deficiencia son multifactoriales, no obstante, se han presentado numerosas investigaciones que lo asocian a su efecto protector contra especies de *Plasmodium* causantes de malaria. Ramírez y Zarante (2009) menciona que en el estudio realizado por “Butler encontró una incidencia más baja de malaria en varones afroamericanos adultos no inmunes deficientes comparados con sus contrapartes no deficientes” (p.71). A pesar de que no en todas las investigaciones se han obtenido resultados similares, si se relacionan los mapas epidemiológicos de malaria con los de la deficiencia de G6PD (ver figura 1 y 2).

En nicaragua no se reportan estudios sobre la prevalencia o incidencia de la deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), aunque se conoce la relación que existe entre la deficiencia enzimática como causante de una anemia hemolítica no esferocítica, así lo reporto Marengo (2016) en su estudio sobre caracterización Clínico epidemiológico de los pacientes con Diagnóstico de Anemias Hemolíticas en el hospital Manuel de Jesús Rivera en donde reporto que la causa del 0,71% de pacientes era el déficit de G6PD.

Conociendo la asociación de la malaria con la deficiencia de G6PD y considerando el aumento significativo de casos de malaria en el municipio de Puerto Cabezas y demás zonas del caribe

sur pone de manifiesto el interés para efectuar un estudio que permita conocer la relevancia clínica y epidemiológica de esta enzimopatía.

La anterior es fundamental para cuestionar y solventar la causa de la rescindida investigación del tema, por tanto, se realiza la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la frecuencia de la deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y su relación con la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto cabezas?

4.1. Sistematización del problema

- ¿Cuáles son las características sociodemográficas y antecedentes clínicos de los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas?
- ¿Cómo es la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de puerto cabezas?
- ¿Cuál es la relación entre la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas?

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Analizar la frecuencia de la deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y su relación con la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto cabezas en el periodo comprendido de octubre 2019 a marzo 2020.

5.2. Objetivos específicos

1. Describir las características sociodemográficas y antecedentes clínicos de los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas.
2. Determinar la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa aplicando el método de reducción de azul de metileno en los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas.
3. Establecer la relación entre la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la malaria en los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas

6. Marco teórico

El paludismo o malaria es causado por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*, los llamados vectores del paludismo. Hay cinco especies de parásitos causantes del paludismo en el ser humano, si bien dos de ellas - *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* - son las más peligrosas (World Health Organization [WHO], 2018).

La malaria es una enfermedad infecciosa que ha infectado a los humanos durante más de 50 000 años, y puede que haya sido un patógeno humano durante la historia entera de nuestra especie. De cierto, especies cercanas a los parásitos humanos de la malaria se han encontrado en los chimpancés. Se encuentran referencias de las peculiares fiebres periódicas de la malaria a lo largo de la historia, comenzando desde el 2700 a. n. e. en China (EcuRed, 2018).

Aunque se pudo haber reportado infecciones similares, sin embargo, se ha estudiado desde el año 1880 cuando el médico militar francés Charles Louis Alphonse Laveran, trabajando en Argelia, observó los primeros parásitos y los clasificó como protozoarios.

Ante una infección de cualquier tipo, el cuerpo humano está capacitado para dar una respuesta eficiente y de magnitud que en ocasiones no es proporcional al daño del agente infeccioso. Esto se ha demostrado en ciertas enfermedades en las cuales la causa de decesos no es la infección en sí, sino la respuesta inmunológica que ejerce el cuerpo. La malaria es una enfermedad que como todas las otras, el sistema inmunológico monta una respuesta, no obstante, considerando las altas tasas de malaria, también se han desencadenado efectos genéticos que prevén las infecciones a largo plazo y generan un mecanismo de respuesta de igual magnitud.

Al respecto Mandal (2019) aborda que la extensión y la vulnerabilidad a la malaria se pueden trazar por la evolución de las mutaciones de G6PD, de la talasemia y de la célula falciforme. Éstos en su estado de la onda portadora, dan a seres humanos resistencia a la malaria.

6.1. Deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa

La deficiencia de la enzima G6PD se identificó en 1956, su determinación cromosómica se conoció en 1958 y las variantes electroforéticas se demostraron en 1962, reflejando la importancia genética, clínica y bioquímica del polimorfismo del gen G6PD. La deficiencia de G6PD es, casi siempre, un padecimiento asintomático, que, manejado correctamente, poco

limita la calidad y expectativa de vida del paciente, aunque la ausencia completa de G6PD es incompatible con la vida (Alatorre et al, 2017).

Es una eritroenzimopatía causada por el bloqueo de la vía enzimática de la hexosa monofosfato que lleva al acúmulo de peróxido de hidrógeno causando daño oxidativo al eritrocito. Fue descrita por primera vez por Alving y colaboradores cuando investigaban la reacción inusual que ocurría en personas de raza negra luego de la administración de primaquina, para el tratamiento de la malaria (Fonseca, Mateus, Silva, Contreras y Restrepo, 2005).

Muchos países han implementado programas de tamizaje neonatal para contrarrestar de forma significativa las consecuencias de esta deficiencia que se presenta como una anemia hemolítica, en este caso hay un aumento de bilirrubina indirecta y es de interés este tipo de bilirrubina considerando que es una causa de retardo mental y muerte en los neonatos.

6.1.1. Bioquímica

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es una enzima " housekeeping", vital para la vida de cada célula. Se desconoce la ausencia completa de la enzima en la especie humana. Dentro del metabolismo restringido de los glóbulos rojos, G6PD ocupa un lugar particularmente importante.

En los mamíferos es citoplasmática y se encuentra en todas las células del cuerpo, pero su deficiencia se manifiesta más en los glóbulos rojos posiblemente por tener éstos una larga vida sin núcleo y porque contienen proteasas que degradan la enzima mutante más que las proteasas de otros tejidos (Fonseca et al, 2005).

El monómero de la G6PD consta de 515 aminoácidos con un peso molecular de 59,256 dalton. La enzima activa consiste en subunidades idénticas que forman dímeros y tetrámeros, la proporción de las dos formas depende del pH, contiene un sitio de unión a nicotinamidaadenina-dinucleotidofosfato (NADP), y así la agregación de los monómeros inactivos a la forma de dímeros catabólicamente activos requiere de la presencia de NADP, éste se une a la enzima, como componente estructural y como sustrato para la reacción (Alatorre et al, 2017). (Ver figura 6)

El paso de la vida aerobia a la vida anaerobia supone un cambio enorme en el ciclo del eritrocito, las rutas metabólicas necesarias para su eficiente funcionamiento deben ser múltiples, su

relevancia funcional en el cuerpo justifica la presencia de diferentes rutas como la vía de Embden-Meyerhof, vía de Rapaport Leubering y el ciclo de los nucleótidos. De la vía de Embden Meyerhof se deriva la vía de las pentosas fosforadas que es donde la enzima toma relevante importancia (ver figura 8).

La G6PD cataliza el primer paso en la vía monofosfato de hexosa, convirtiendo glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona y reduciendo el cofactor nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADP) a NADPH. El segundo paso enzimático en la vía también está asociado con la reducción de NADP a NADPH.

En el glóbulo rojo, este paso anaeróbico en el metabolismo de la glucosa es la única fuente de NADP reducido (NADPH), el cual es requerido para la acción normal de la metahemoglobina reductasa y el mantenimiento de un nivel adecuado de glutatión reducido. El glutatión peroxidasa remueve el peróxido del eritrocito; el glutatión reducido sirve como sustrato para esta enzima y debido a que la NADPH es esencial para la reducción del glutatión oxidado que es un factor esencial en las cadenas de reacción que defienden al glóbulo rojo del peróxido (Alatorre et al, 2017) (ver figuras 9 y 10).

6.1.2. Genética

En 1865 el Monge austriaco Gregorio Mendel publica sus estudios que posteriormente se denominaron la herencia mendeliana y supuso el fundamento de la genética. La herencia ligada al sexo es una de las causas más comunes de enfermedades heredadas cuando no hay una recombinación genética adecuada en poblaciones de una determinada localidad. Se reportan numerosos casos de enfermedades ligadas al sexo como la hemofilia. La deficiencia de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa es una enfermedad en la que los alelos que generan la deficiencia se encuentran en el cromosoma X.

Incluso antes de que fuera descrito el defecto básico, ya se había descrito un modo de herencia ligado al X para la “sensibilidad a la primaquina”. Los árboles genealógicos de familias afroamericanas mostraban que el defecto era transmitido principalmente de madres a hijos. Con la identificación gracias a estudios de medición de la actividad enzimática, movilidad electroforética del defecto básico, como la deficiencia de la G6PD, se confirmó ligamiento al cromosoma X. El gen de la G6PD está localizado en la región terminal del brazo largo del

cromosoma X (Xq28), cercano al gen del factor VIII de la coagulación (Fonseca et al, 2005) (ver figura 3).

Dado el tipo de herencia de la deficiencia de G6PD, los hombres son normales o deficientes, las mujeres pueden ser normales, heterocigotas u homocigotas; es bastante difícil establecer esta diferenciación basándose únicamente en la expresión fenotípica.

Los padres varones deficientes de la enzima no transmiten el trastorno a los hijos, pero si a las hijas. Sin embargo, el trastorno rara vez se observa en mujeres, porque la situación homocigota ($X^* X^*$) significa herencia de un gen mutante proveniente de cada progenitor, lo cual no es común. En la mujer afectada que usualmente es heterocigota ($X^* X$), por lo general hay una expresión parcial del carácter (Sáenz, 2016).

Se han nombrado más de 400 variantes, y muchas de las variantes son causadas por sustituciones de aminoácidos. Hay cinco genotipos conocidos: dos son normales y tres son anormales con diferentes cantidades de hemólisis (ver tabla 1). Las personas con deficiencia de G6PD también tienen protección durante las infecciones por paludismo (Ciesla, 2007).

El gen tiene un tamaño de 18,5 Kb y consta de 13 exones y 12 intrones que codifican un producto de 1545 pb. De una manera inusual, los primeros 600 pb de los 5' del gen *g6pd*, que corresponden al exón 1 y parte del exón 2, no se traducen y, como consecuencia, el codón de inicio ATG se encuentra en la base 115 de los 127 pb del exón 2 (Figura 3). Esta secuencia 5' no traducida contiene dos codones ATG fuera del marco de lectura y exhibe dos subregiones con un alto nivel (80%) de guanina y citosina, que es una característica común entre los genes con expresión constitutiva. En cuanto a la región promotora de la *g6pd* gen, se han identificado varias características: (i) alto contenido de GC (más del 70%); (II) la ausencia del elemento CAAT a menudo ubicado en la posición -70 a -90 de varios genes eucariotas (sitio esencial para el proceso de transcripción); (III) la sustitución de la caja TATA clásica por la secuencia ATTAAAT ubicada a -202 pb del codón de inicio ATG; y (IV) la presencia de al menos nueve sitios CCGCCC, que parecen estar involucrados en la regulación de genes (Gómez et al, 2016).

6.1.3. Fisiopatología

Las vías metabólicas del cuerpo humano en general son catalizadas por enzimas, la Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa cataliza la vía de las pentosas fosfato derivada de la vía de Embden

Meyerhof (glicolisis), esta ruta metabólica tiene relación directa con la protección del eritrocito contra el daño oxidativo. Específicamente la función de la G6PD es mantener al glutatión en su forma reducida.

El glutatión es un compuesto que actúa como sustancia detoxificante, protege a la célula contra agentes oxidativos externo e interno en unión de otras enzimas antioxidantes. Para lograr este propósito, el ciclo genera a forma reducida de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) como producto de la acción de enzima G6PD. Esta vía es la principal fuente de NADPH en los glóbulos rojos, pues se producen 2 moles de NADPH por cada mol de glucosa metabolizada. El NADPH sintetizado, en conjunto con la enzima reductasa del glutatión, mantiene al glutatión en su forma reducida para que, en conjunto con la peroxidasa del glutatión, el superóxido dismutasa y la catalasa, inactiven los agentes oxidativos (Sáenz, 2016). (ver figura 10)

Es decir, si la vía de las pentosas funciona correctamente y las cantidades de NADPH reducido (y, por lo tanto, de glutatión) son adecuadas, la capacidad de desintoxicación será mayor a la producción de oxidantes (Ramírez y Zarante, 2009).

A partir de la glicolisis se deriva la vía de las pentosas fosforadas. Entre el 5% y el 15% de la glucosa es catabolizada por el eritrocito a través de la vía metabólica de las pentosas fosforadas que producen NADPH, el cual se asocia con la producción de glutatión reducido, que es el principal agente protector contra daño oxidativo del glóbulo rojo. Su actividad se ve amplificada por la participación de enzimas como el superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa. La G6PD es la enzima clave en la regulación de esta vía por lo cual su deficiencia hereditaria va a predisponer al eritrocito a hemolisis oxidativa, ya sea aguda o crónica (Sáenz, 2016) (ver figura 8 y 9).

Según Alatorre et al (2017) “Estas variantes pueden ser clasificadas en cinco grupos en función de las características enzimáticas, así como de las manifestaciones clínicas” (p.181). (ver tabla 2) Al presentarse un déficit de la enzima y a la vez un estímulo oxidativo, la producción de oxidantes superará fácilmente la capacidad de desintoxicación de esta célula y su capacidad para protegerse del daño oxidativo estará muy comprometida.

En una persona sin déficit de G6PD existe en cada eritrocito un excedente constante de esta enzima disponible para situaciones de estrés. Cada eritrocito tiene, cuando recién ingresa a la sangre circulante, una actividad enzimática inicial 50 veces superior a la requerida para sobrevivir sin estrés oxidativo. A medida que el eritrocito envejece, el excedente de G6PD disminuye gradualmente, pero siempre mantendrá niveles mínimos (Ramírez y Zarante, 2009)

Las células nucleadas son capaces de adaptar sus niveles de G6PD para responder a un estrés oxidativo ya que aun presentan la maquinaria para la síntesis proteica. En cambio, luego de la enucleación, los eritrocitos pierden la capacidad de síntesis de proteínas, es decir que las cantidades de G6PD que contiene un eritrocito se sintetizaron en sus estadios precursores y no tienen posibilidad de sintetizar más. Eso justifica el hecho que sean los reticulocitos y los eritrocitos jóvenes los que presenten mayores concentraciones de la enzima.

En un eritrocito con deficiencia de G6PD, el excedente de esta enzima disponible para situaciones de estrés no está presente durante toda su vida, sino que se agota rápidamente, quedando éste con el nivel mínimo necesario para vivir en situaciones no estresantes; de modo que, al enfrentar una situación de este tipo, sus proteínas intracelulares se oxidan y agregan para formar los denominados corpúsculos de Heinz, lo cual confiere una mayor rigidez al eritrocito que, finalmente, sufre hemólisis (Ramírez y Zarante, 2009) (figura 1).

6.1.4. Epidemiología

La deficiencia de G6PD es la enzimopatía conocida más común, con una incidencia promedio a nivel mundial de alrededor del 1% estando afectados por esta deficiencia más de 400 millones de personas (90% hombres) distribuidos principalmente en las regiones del Mediterráneo, Medio Oriente, India, Indochina, sur de China, así como en África (Fonseca et al, 2005).

La deficiencia de G6PD prevalece en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo debido a la protección que brinda durante la infección de malaria. Aunque las personas más afectadas son asintomáticas, existe un riesgo de ictericia neonatal y anemia hemolítica aguda, desencadenada por la infección y la ingestión de ciertos medicamentos y habas (fabismo). Una forma rara pero más grave de deficiencia de G6PD se encuentra en todo el mundo y se asocia con anemia hemolítica no esferocítica crónica (Mehta, Mason y Vulliamy, 2000).

De acuerdo con Ramírez y Zarante (2009), se estima que 7,5% de la población mundial porta un gen deficiente de G6PD. La frecuencia mundial varía desde 0,1% en Japón y Europa del norte hasta 62% entre los judíos kurdos. Las poblaciones con mayores proporciones de afectados van desde 5% hasta 30%, y se encuentran en África, Asia, Medio Oriente, Mediterráneo y Papuasias (Nueva Guinea). El 90% de los afectados son de sexo masculino. Los principales afectados en Estados Unidos son los varones negros, población en la que un tipo de deficiencia de G6PD alcanza una prevalencia de 10%.

Esta distribución de la deficiencia equivale a las zonas donde el paludismo por *Plasmodium falciparum* es común, y se cree que este es el impulso evolutivo que produjo tan polimorfismos generalizados. Posteriormente se ha confirmado que la deficiencia de G6PD protege efectivamente contra la falciparum malaria letal, particularmente en la infancia, y esta protección, especialmente en áreas hiperendémicas, supera con creces los problemas hematológicos asociados con deficiencia (Hoffbrand, Catovsky y Tuddenham, 2005).

6.2. Plasmodium spp

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante en los humanos ya que es endémica en más de cien países alrededor del mundo y ocasiona, principalmente en la edad pediátrica, más de un millón de muertes cada año. La enfermedad en los seres humanos puede ser ocasionada por cualquiera de cuatro especies de Plasmodium: *Malariae*, *Ovale*, *Vivax* y *Falciparum*, siendo esta última la más grave y la que origina el mayor número de muertes. La infección se produce cuando la hembra del Anopheles inocular los esporozoítos del parásito, localizados en sus glándulas salivales, en el torrente sanguíneo del paciente (Salamanca, 2005).

Por lo tanto, la malaria es una de las fuerzas selectivas más conocidas que han ejercido más presión en la historia de la humanidad ya que está asociada (especialmente *Plasmodium falciparum*) con la aparición de la agricultura. Se han observado varios polimorfismos asociados con protección contra la malaria como los genes que codifican oligoproteínas de la membrana celular del eritrocito (grupos sanguíneos), genes de la globina (HbS, HbC, HbE, talasemias), estrés oxidativo (deficiencia de G6PD), citoadherencia y sistema inmunológico (García et al, 2014).

Los parásitos causantes de la malaria descomponen la hemoglobina después de la invasión, esto lo hacen para dejar espacio para su crecimiento y nutrición. Los bioproductos de este proceso particularmente la oxidación del hierro es potencialmente tóxica para el parásito. El GSH es uno de los suministros de potencial reductor en las células y un mecanismo natural de superar el estrés oxidativo. Cualquier deficiencia en la producción de GSH en la célula puede proveer resistencia contra el parásito. Por lo tanto, la deficiencia de G6PD puede conferir cierta protección en contra de la malaria. Los polimorfismos que protegen contra la malaria presentan frecuencias elevadas en poblaciones donde la malaria es endémica además de estar en desequilibrio de ligamiento con marcadores genéticos vecinos (García et al, 2014).

Los parásitos de la malaria requieren Glutatión reducido (GSH) y un mecanismo oxidativo óptimo derivado del metabolismo de la glucosa. Por tanto, el bajo contenido de GSH y la actividad disminuida del ciclo oxidativo directo de los eritrocitos, primaquinas sensibles son los factores que aparentemente dificultan la vida intracelular de estos parásitos (Sáenz, 2016).

Cuando está presente como un trofozoíto en los eritrocitos humanos, el parásito de la malaria *Plasmodium falciparum* exhibe un intenso metabolismo del glutatión. El glutatión desempeña un papel no solo en la defensa antioxidante y en el mantenimiento del entorno reductor del citosol. Muchos de los procesos dependientes de glutatión conocidos están directamente relacionados con el estilo de vida específico del parásito.

El glutatión reducido (GSH) apoya el rápido crecimiento celular al proporcionar electrones para la síntesis de desoxirribonucleótidos y participa en el hemo desintoxicante, un producto de la digestión de la hemoglobina. Los radicales libres generados en el parásito pueden eliminarse en secuencias de reacción que implican el radical tiilo GS* así como el tiolato GS-. Como sustrato del glutatión S-transferasa, el glutatión se conjuga con compuestos no degradables que incluyen fármacos antipalúdicos. Además, es la coenzima del sistema de glicoxalasa la que desintoxica el metilgloxal, un subproducto de la intensa glucólisis que tiene lugar en el trofozoíto. Las proteínas involucradas en procesos dependientes de GSH incluyen glutatión reductasa, glutaredoxinas, gluoxalasa I y II, glutatión S-transferasas y tioredoxinas. Estas proteínas, así como las enzimas dependientes de ATP de la síntesis de glutatión, se estudian como factores en la fisiopatología de la malaria, pero también como posibles objetivos farmacológicos. El azul de metileno, un inhibidor del glutatión reductasa de *P. falciparum* estructuralmente conocida,

parece ser un medicamento antipalúdico prometedor cuando se administra en combinación con cloroquina (Becker, Rahlfs, Nickel, y Schirmer, 2003).

6.2.1. Ciclo biológico y Estructura

Los parásitos son transmitidos por un vector, la hembra del mosquito *Anopheles*, que es portador del parásito al alimentarse de la sangre de un vertebrado infectado. En el tubo digestivo del mosquito se lleva a cabo el ciclo sexual del parásito con la fecundación de los macro y microgametos, y posteriormente se desarrolla el cigoto motil llamado ookinete. Una división asexual da origen al esporozoíto, que es el estadio infectante del vertebrado. Cuando los esporozoítos que están en las glándulas salivares del vector son inyectados dentro del hospedador vertebrado, son transportados rápidamente al hígado donde invaden a los hepatocitos, en los cuales ocurre una división asexual llamada esquizogonia hepática o ciclo extra-eritrocítico que da origen al estadio llamado merozoíto. Este proceso de invasión del esporozoíto ha sido extensivamente estudiado por varios investigadores, aunque poco se sabe del desarrollo y liberación del merozoíto proveniente de las células hepáticas. En *P. vivax* se ha descrito otro estadio adicional llamado hipnozoíto, el cual queda latente en los hepatocitos y puede activar la infección en un periodo relativamente corto entre 10 a 30 semanas, siendo responsable de las recidivas de la enfermedad (Spencer, Gómez y Collovini, 2016).

El merozoíto es liberado al torrente sanguíneo con consiguiente invasión de los eritrocitos en los cuales ocurre otra división asexual, llamada esquizogonia eritrocítica. El merozoíto comienza la invasión al eritrocito del cual se liberan más de 32 nuevos merozoítos en aproximadamente 48 horas, provenientes de un esquizonte maduro. Este esquizonte maduro estalla, liberando y dispersando los nuevos merozoítos que re invaden nuevos eritrocitos. También, a partir del esquizonte maduro, se liberan al torrente sanguíneo los gametocitos, los cuales son ingeridos por el mosquito vector al picar al hospedador infectado y de esta forma se cierra el ciclo del parásito (Spencer et al, 2016) (ver figura 4).

En los procesos de invasión del esporozoíto y merozoíto están involucradas numerosas proteínas y solo en el merozoíto de *P. falciparum* se reportan más de 40. Estas proteínas no solo se encuentran distribuidas en la superficie de los diferentes estadios del parásito; sino también son secretadas por organelos especializados como micronemas, roptrias y gránulos densos que conforman parte del complejo apical y donde se presentan muchas de las proteínas

necesarias para el proceso de invasión y el establecimiento de la vacuola parasitófora (VP) dentro de las células del hospedador (Spencer et al, 2016) (Ver figura 5).

Plasmodium spp presenta varias etapas a lo largo de su ciclo biológico estructuralmente adoptan varias formas tanto en el paciente como en el mosquito. Morfológicamente se distinguen en los eritrocitos las formas de trofozoíto, esquizontes, merozoitos y gametocitos. En el vector se encuentran formas sexuadas y luego los parásitos que infectan al hombre llamados esporozoítos. En la sangre del hombre se reproducen los merozoitos (Botero y Restrepo, 2012).

6.2.2. Mecanismos patogénicos

Las infecciones se categorizan de acuerdo con los mecanismos de patogenicidad o factores de virulencia de los agentes etiológicos, porque estos determinan el grado de invasión y agresividad hacia el huésped.

6.2.2.1. *Plasmodium falciparum*

La virulencia de *P. falciparum* se atribuye a su capacidad para evadir el sistema inmune humano modificando los glóbulos rojos infectados del huésped para que se adhieran al endotelio vascular y experimenten una variación antigénica. Los principales ligandos antigénicos responsables de la citoadherencia y la variación antigénica son miembros de la familia de la proteína de membrana eritrocitaria de *P. falciparum* -1 (PfEMP1). Estas proteínas polimórficas están codificadas por una familia de genes multicopia llamada *var* (Pasternak y Dzikowski, 2009).

La fase intra eritrocítica es una parte fundamental del ciclo biológico de *Plasmodium spp.*, es ahí donde se producen las principales manifestaciones clínicas en el individuo. El interior de los Glóbulos rojos facilita al parásito un ambiente ideal para “ocultarse” de las defensas del hospedador gracias a que estas células no expresan en su superficie las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad I. La invasión de *P. falciparum* al eritrocito genera ciertas alteraciones en la membrana del eritrocito (Ver figura 7) para poder adaptarse a dos inconvenientes que puede tener en el glóbulo rojo. Estas se relacionan con los síntomas más graves de la enfermedad y al mismo tiempo están condicionadas en el parásito a resolver dos problemas básicos de la subsistencia.

Kirk (2001) y Haldar (2007) (como se citó en Méndez, 2011) explican que el primero está relacionado con el transporte de nutrientes y productos de desecho entre el parásito y el

eritrocito. Esta función requiere el transporte de sustancias a través de tres membranas: la membrana plasmática del eritrocito huésped, la membrana de la vacuola parasitófora y la propia membrana plasmática del parásito.

Se puede resolver el problema del transporte de nutrientes y productos de desechos entre el parásito y el eritrocito gracias a que el parásito expresa y exporta cientos de proteínas que permitirán el transporte proteico, facilitarán la entrada de nutrientes y proporcionarán mecanismos de evasión de la respuesta inmune. En este sentido, cabe destacar que en muchas de estas proteínas exportadas se ha identificado una secuencia señal de transporte, en su extremo N-terminal, conocida como PEXEL (“Plasmodium export element”) o VTS (“vacuole transport signal”). Se trata de una secuencia pentamérica consenso de 5 aminoácidos (RxLxE/Q/G) que se conserva en las especies de Plasmodium que infectan humanos y aves. Aproximadamente 460 proteínas de *P. falciparum* contienen el motivo PEXEL, lo que representa el 10 % de su genoma, aunque no todas las proteínas exportadas contienen una secuencia señal identificable (Becerra, 2015).

Florens et al. (2004) y Tripathi et al. (2007) (como se citó en Méndez, 2011) detallan que el segundo está centrado en evitar la acción del sistema inmune del huésped. Para ello los eritrocitos infectados con parásitos maduros presentan una superficie adhesiva que evita su depuración en el bazo, al tiempo, mediante control genético, varían los antígenos expuestos en la superficie de la célula infectada. La adhesividad del eritrocito infectado se traduce en su retención o secuestro en órganos como el cerebro, riñones, tejido subcutáneo y placenta, presentándose como consecuencia malaria grave en forma de malaria cerebral o placentaria.

Al respecto Botero Restrepo (2012) aborda que hay un aumento de la adhesividad al endotelio capilar debido a la reducción de la carga eléctrica y a la formación de prominencias en la superficie de la membrana eritrocitaria, lo cual permite que los eritrocitos se peguen fácilmente a receptores del endotelio el CD36. Estas dos alteraciones son las principales responsables de la obstrucción de los capilares principales especialmente cuando se forman los esquizontes. Esto explica por qué casi nunca circulan esquizontes de *P. falciparum*.

Los ligandos para la adhesión a los receptores endoteliales se encuentran en la membrana celular de los GRP donde se forman protuberancias electrodenas llamadas Knobs; estos se componen de proteínas sintetizadas por el parásito que luego son transportadas hasta la membrana celular

del GRP para interactuar con las proteínas del citoesqueleto. Se ha reportado que para la formación de Knobs, la proteína rica en histidina asociada a Knobs (KAHRP) y la proteína asociada a la membrana eritrocítica de alto peso molecular 2 (PFEMP-2) deben interactuar con la banda 3 del citoesqueleto del Glóbulo rojo parasitado (GRP). La proteína de la membrana eritrocítica derivada del *P. falciparum* (PFEMP1) es el ligando mejor caracterizado del GRP; se ubica en los Knobs y pertenece al grupo de proteínas altamente polimórficas codificadas por una familia de genes llamados “genes var” (Zapata y Blair, 2003).

6.2.2.2. *Plasmodium vivax*

Existen cinco especies de *Plasmodium* que pueden infectar a los humanos, que son el *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *ovale*, *malaria* y *knowlesi*. De éstos, el *Plasmodium falciparum* es el principal causante de morbilidad y mortalidad. El *Plasmodium vivax* es, cada vez más significativamente, causante de enfermedad (Sánchez et al., 2012).

Si bien *Plasmodium vivax* no tiene mecanismos patogénicos distintos a los de *Plasmodium falciparum* la incidencia de estos son más benignos ya que no presenta polimorfismos para la PFEMP-1 ni otros mecanismos más invasivos, un aspecto importante siempre es la respuesta inmunológica hacia los residuos del metabolismo del parásito que son liberados cuando el eritrocito se destruye y son liberados los merozoitos.

Al progresar la infección, aumenta el número de hematíes rotos que liberan merozoitos, así como detritos celulares tóxicos y hemoglobina a la circulación. El conjunto de esas sustancias produce el cuadro típico de escalofríos, fiebre y temblor propios del paludismo. *P. vivax* es responsable de paludismo terciario benigno, la mayoría toleran los episodios, pero si no se tratan las infecciones crónicas por *P. vivax* pueden conducir a lesión cerebral, renal y hepática a causa del pigmento palúdico, los detritos celulares y el taponamiento de los capilares de estos órganos por acumulaciones de hematíes agregados (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2006).

6.2.3. Mecanismos de respuesta

Durante el ciclo eritrocítico, productos solubles de *Plasmodium spp.*, funcionan como toxinas y estimulan a los macrófagos para liberar citocinas proinflamatorias (p. ej., el factor de necrosis tumoral alfa [TNF-alfa] e IL-1). Estas moléculas actúan sobre muchos otros sistemas celulares como el endotelio vascular. Además, antígenos del parásito estimulan a las células T para que produzcan interferón gamma (IFN-gamma) y otras citocinas que otra vez conducen a la producción de TNF-alfa. Ambas citocinas, IFN-gamma y TNF-alfa, tienen un papel importante en el desarrollo de la anemia diseritropoyética y las sobre expresión del receptor endotelial ICAM-1. El incremento de la expresión de la ICAM-1 en el cerebro conduce a un mayor secuestro de los eritrocitos infectados y ello a la anoxia, y muerte por paludismo cerebral (Becerril y Romero, 2004).

En cuanto al mecanismo inmediato para la producción de la enfermedad, Pavón (2009) describe que el daño está en relación con el número de parásitos y la cantidad de pigmento que contenga la célula infectada. El pigmento, en realidad es el material que está quedando en los eritrocitos a consecuencia del metabolismo de *Plasmodium*, al reproducirse va desechando productos que quedan dentro del eritrocito, y finalmente cuando se rompe el eritrocito y se rompe el esquizonte liberando los merozoitos, se libera también todo el producto de desecho que incluye el pigmento palúdico y el cuerpo residual.

El pigmento palúdico es el causante de la amplia respuesta inmunitaria y la respuesta inmunitaria es la causante directa de la liberación de citocinas y quimiocinas que activan una cascada iniciando con la IL-1 y el TNF- alfa, la primera es la principal responsable del aumento de la temperatura corporal que es el primer mecanismo de respuesta ante las enfermedades. En general, dependiendo el periodo de incubación del parásito así será los periodos febriles que presente el individuo a eso se le conoce como acceso palúdico y se caracteriza por presentar frío, calor y sudor.

Los productos derivados del parásito durante la liberación de merozoitos en el ciclo eritrocítico, inducen la producción de mediadores proinflamatorios, como FNT α , IL1 e IL6. Estos mediadores inducen la producción de otras citocinas y enzimas que amplían la cascada inflamatoria y activan la defensa celular en el huésped; cuando la producción de mediadores

inflamatorios se excede, altera la fisiología del huésped y es causante de enfermedad (Vásquez y Tobón, 2012) (Ver tabla 3).

Como respuesta adaptativa del hospedador humano, en las zonas geográficas endémicas de malaria se han seleccionado diversos polimorfismos eritrocitarios que confieren cierto grado de resistencia a las manifestaciones clínicas más graves. Dentro de los cuales destacan, por su alta prevalencia, la anemia falciforme, las talasemias, la esferocitosis hereditaria, el déficit de G6PD y el predominio del grupo sanguíneo O entre otros. La alta prevalencia de estos polimorfismos eritrocitarios en las regiones con alto índice o con historial de malaria sugiere que la relación entre el estado redox de los parásitos y su célula huésped resulta importante tanto para la supervivencia del patógeno, como para combatir su patología por el hombre. Así, se ha propuesto que *Plasmodium falciparum* incrementa el estrés oxidativo en el eritrocito infectado y que éste contribuye a la manifestación de síntomas graves de la enfermedad. Sin embargo, parece que un incremento adicional del estrés oxidativo, como en el déficit de G6PD, se reduce significativamente la virulencia de la infección (Méndez, 2011).

Múltiples alelos deficientes en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) han alcanzado frecuencias polimórficas debido a la protección que confieren contra la infección de malaria. Un mecanismo de protección basado en la fagocitosis mejorada de eritrocitos deficientes en G6PD parasitados que están dañados oxidativamente es bien aceptado. Aunque se ha demostrado una asociación de este fenotipo con el deterioro de la defensa antioxidante en la deficiencia de G6PD, no se conoce la vía disfuncional que conduce al daño de la membrana y la exposición modificada de los glóbulos rojos infectados con malaria al huésped (Méndez, Linares, Diez, Puyet, y Bautista, 2011).

6.2.4. Epidemiología

Cuatro especies pertenecientes al género *Plasmodium* son las responsables del paludismo o malaria en el ser humano. El aumento de su incidencia en nuestro entorno es debido al fenómeno migratorio y a una mayor movilidad geográfica, propiciada principalmente por viajes de placer a zonas endémicas. Pero el problema principal radica en aquellos países donde el paludismo es una enfermedad endémica, ya que mata cada año aproximadamente a 2 millones de humanos. Aun así, el paludismo no es reconocido como un importante problema de salud pública en los países desarrollados (Pereira y Pérez, 2002).

El paludismo es endémico en África una gran parte de Asia, América Central y Sudamérica. En Nicaragua es una problemática epidemiológica no solo por el hecho de presentar aumentos de casos, sino porque todos los casos que se reportan están concentrados en la región de la costa caribe norte, específicamente Puerto Cabezas.

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 (PAHO, 2018).

6.2.5. Métodos diagnósticos

Con el surgimiento de nuevas enfermedades infecciosas que en su mayoría tienden a presentar síntomas generalizados o que pueden confundirse con otras patologías, es necesario un diagnóstico clínico más certero por parte del médico quien considera los signos y síntomas que presenta el paciente, no obstante, es imperante la necesidad del diagnóstico de laboratorio para así tomar la mejor decisión que genere una recuperación satisfactoria del paciente.

La malaria es una enfermedad infecciosa que ha estado presente a lo largo de la historia de la humanidad y si bien ha sido diana de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para lograr su reducción o eliminación. El continente africano ha sido la cuna de la malaria de donde se ha diseminado hasta llegar a convertirse en una pandemia, esto se puede comprender más a fondo considerando las causas que pudieron conllevar a una mayor propagación, por ejemplo, el gobernante de la isla de Zanzíbar en la década de 1950, Abeid Karume, suspendió un programa antimalaria de la OMS y despidió a su staff argumentando que los africanos eran «a prueba de malaria». Su decisión se siguió de un brote de esta enfermedad en la isla.

Actualmente existen diversas pruebas de detección para el diagnóstico del paludismo basadas en la identificación de los antígenos del paludismo. Sin embargo, el método esencial para el diagnóstico definitivo sigue siendo el hallazgo de los parásitos en un frotis sanguíneo en donde se podrá identificar la especie morfológicamente.

Aparte de las extensiones finas estándar, cuando existen pocos parásitos son extremadamente útiles las extensiones o gotas gruesas, que deben prepararse y examinarse de forma rutinaria,

aunque la identificación de la especie sea menos sencilla que en las extensiones finas y se puedan pasar por alto infecciones compuestas. Cinco minutos consumidos en examinar una extensión gruesa son el equivalente a cerca de 1 h empleada en el examen de una extensión delgada. Una vez confirmada la presencia de los parásitos, hay que utilizar una extensión delgada para determinar la especie y, en caso de *Plasmodium falciparum*, para valorar la gravedad de la infección mediante el recuento del porcentaje de células positivas (Lewis, Bain y Bates).

Si bien hay otros métodos más sensibles, Bouergeois et al (como citó Becerril, 2014) la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no es un método rápido de diagnóstico, ya que consume más de una hora en comparación con el frotis, que sólo requiere de 20 minutos. Sin embargo, su ventaja radica en su sensibilidad porque con ella se pueden detectar cinco o menos parásitos/ μ l de sangre. Otra ventaja de esta técnica es que modificaciones de ésta, como la PCR anidada o la PCR múltiple, permiten determinar con bastante certeza la especie de *Plasmodium* al amplificar la subunidad grande del RNA ribosómico y el gen de la proteína del circunsporozoíto.

6.2.5.1. Gota Gruesa

La gota gruesa es el examen de elección para confirmar o descartar la malaria, debido a que es una muestra concentrada y deshemoglobinizada que permite revisar mayor cantidad de sangre en una pequeña área con muestra, lo que la hace más sensible que el extendido. Pueden existir casos en los cuales el paciente tenga una baja parasitemia y cuente con una gota gruesa positiva y un extendido negativo. El extendido es utilizado principalmente para aclarar dudas de especie o realizar recuentos cuando se presentan altas parasitemias (Ministerio de salud y protección social [MinSalud], 2015).

A pesar de haber pruebas inmunocromatográficas y técnicas moleculares para el diagnóstico de la malaria, la sensibilidad y especificidad juegan un rol importante con las pruebas inmunocromatográficas, mientras que con las técnicas moleculares lo complicado son la falta de recursos económicos para asumir los gastos.

Al respecto Montoya et al (2008) realizaron un estudio sobre la concordancia entre gota gruesa, inmunocromatografía y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de malaria y determinaron que al analizar 100 pacientes la sensibilidad de la prueba rápida frente a la gota

gruesa, para el diagnóstico de ambas especies de *Plasmodium* fue de 93,85% (IC95% 87,23-100) y la especificidad de 94,29% (IC95% 85,17-100). La PCR comparada con la gota gruesa mostró una sensibilidad de 100% (IC95% 99,23-100) y una especificidad de 97,14% (IC95% 90,19-100). Asegurando así que el diagnóstico de la malaria mediante la gota gruesa es comparable con pruebas moleculares y recomendada por su bajo costo y eficacia.

La Gota gruesa es un método microscópico que permite la identificación morfológica de parásitos sanguíneos como *Plasmodium*, *Babesia*, *Trypanosoma* y *Microfilarias*. Para ello es necesario hacer uso de las tinciones para colorear las muestras. Una lámina de gota gruesa teñida apropiadamente es necesaria para una adecuada identificación de parásitos sanguíneos, la tinción de Giemsa es la más común, recomendada y más confiable.

Es una coloración tipo Romanowsky con base de alcohol, formado por una combinación de colorantes básico, azul de metileno y sus derivados oxidados, y el colorante ácido eosina. Los tintes neutros utilizados combinan el azul de metileno y el azul como tintes básicos y la eosina como tinte ácido, lo que da una amplia gama de colores. El azul de metileno es un colorante metacromático, de ahí que muchas estructuras se tiñan de púrpura y no de azul.

La gota gruesa y el extendido hemático se tiñen simultáneamente, con la diferencia que el extendido requiere una fijación previa con metanol y la gota gruesa no, lo cual permite la deshemoglobinización de los glóbulos rojos durante la tinción con Giemsa. La deshemoglobinización de la gota gruesa consiste en la ruptura del glóbulo rojo y la disolución de su contenido, permitiendo una mejor visualización de las muestras, eliminando la capa de glóbulos rojos, y dejando a los parásitos de forma libre, en un fondo claro (Carnevale y Velásquez, 2018).

6.3. Método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso

Con el pasar de los años se han diseñado diversos métodos de tamizaje que evalúan la detección de eritroenzimopatías, estos a su vez se clasifican en cuantitativos y cualitativos

El método de reducción de azul de metileno fue descrito en 1970 por los investigadores Martin D. Sass y Carmine J. Caruso del Hospital de la Administración de Veteranos de New York, Estados Unidos de Norteamérica.

Este método se basa en una reacción coloreada, rápida y simple, es de tipo cualitativa y se usa como prueba de escrutinio de para determinar la actividad enzimática de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa cuando se someten a los eritrocitos a un exceso de azul de metileno “in vitro”.

6.3.1. Principio

El azul de metileno estimula el ciclo de las pentosas para que produzca $\text{NADPH} + \text{H}^+$ por acción de la G6PD. El azul de metileno se reduce (pasa a incoloro) en presencia de H^+ . Lo anterior permite detectar pacientes con deficiencia de G6PD, porque en ausencia de la enzima no hay estímulo al desvío de las pentosas, no se genera poder reductor y, por tanto, el azul de metileno no sufre reducción y conserva su color. Esta prueba debe considerarse como de orientación o de escrutinio, pues tiene la ventaja de que salvo en crisis hemolíticas, no da falsos negativos (Sáenz, 2016).

6.3.2. Interpretación

Los tubos que presentan color azul en el sobrenadante indica prueba positiva (deficiencia de G6PD), mientras que un sobre nadante incoloro representa una prueba negativa (paciente sin la deficiencia enzimática) (Sáenz, 2016).

6.3.3. Características del método

- ❖ En los procedimientos técnicos el tiempo de incubación es flexible y no es crítico; 30 minutos representa el período mínimo de incubación, pero se puede extender a 45 o 60 min sin alterar la prueba.
- ❖ La observación del color del sobrenadante por lo general no es difícil.
- ❖ Los problemas de lectura se pueden presentar en plasmas ictericos o con hemólisis.
- ❖ En los procedimientos técnicos el volumen de eritrocitos empacados es importante, ya que si éste es menor al indicado pueden darse falsos positivos.

7. Hipótesis

- ✚ A mayor frecuencia de pobladores con conexión con malaria mayor frecuencia de la deficiencia de Glucosa 6 Fosfato deshidrogenasa en los pobladores.

8. Diseño metodológico

8.1. Área de estudio

Ciudad de Bilwi del Municipio de Puerto cabezas perteneciente a la Región autónoma de la costa caribe norte (RACCN).

8.2. Tipo de investigación

Según su enfoque: es un estudio cuantitativo.

Se fundamenta en la medición de las características de los fenómenos sociales, lo cual supone derivar de un marco conceptual pertinente al problema analizado, una serie de postulados que expresen relaciones entre las variables estudiadas de forma deductiva (Bernal, 2010).

Según su alcance: es un estudio Analítico.

De acuerdo con Pineda y Alvarado (2008) están dirigidos a contestar por qué suceden determinados fenómenos, cuál es la causa o el factor de riesgo asociado a ese fenómeno, o cuál es el efecto de esa causa o ese factor de riesgo. Estos diseños buscan la asociación o la correlación entre variables.

Según el periodo de tiempo: es un estudio de corte transversal.

Se refiere al abordaje de fenómenos en un momento o periodo de tiempo determinado, puede ser en un tiempo presente o puede ser un tiempo pasado, caracterizándose por no realizar un abordaje del fenómeno en seguimiento a partir de su desarrollo o evolución (Piura, 2000).

Según la ocurrencia de los hechos: es un estudio prospectivo.

García, Fauré, Gonzales y García (1999) lo establecen como un “estudio en el que toda la información se recoge en un futuro, según criterios del investigador previamente establecidos” (p.45).

8.3. Universo

Es el conjunto de individuos u objetos de los que se desea conocer algo en una investigación ... es el grupo de elementos en el que se generalizarán los hallazgos (Pineda y Alvarado, 2008).

El universo está compuesto por 39,428 habitantes de la ciudad del Bilwi del municipio de puerto cabezas.

8.4. Muestra

Hernández, Fernández y Baptista (2014) establecen que la muestra es un subgrupo de la población de interés sobre el cual se recolectarán datos, y que tienen que definirse y delimitarse de antemano con precisión, además de que debe ser representativo de la población.

Para calcular la muestra se hizo uso del programa estadístico Decision Analyst STATS™ 2.0.

La muestra estuvo dada por 237 habitantes con un intervalo de confianza de 95%, margen de error máximo aceptable de 5% y un nivel de porcentaje estimado de 50%.

8.5. Tipo de muestreo

No Probabilístico por conveniencia

Los muestreos no probabilísticos, también llamados muestreos dirigidos, suponen un procedimiento de selección orientado por las características de la investigación, más que por un criterio estadístico de generalización (Hernández et al, 2014)

8.6. Criterios de inclusión

Hernández (2008) lo define como las características que debe tener el objeto de estudio para poder hacer parte de la muestra.

1. Pobladores originarios de Puerto cabezas.
2. Que la persona firme el consentimiento informado o proporcione la huella dactilar en el mismo.
3. Que la persona proporcione la muestra de sangre.

8.7. Criterios de exclusión

“Son aquellas características que en caso de presentarse impiden que el sujeto participe en la investigación y que si se presentan después de iniciada la investigación determinan la eliminación forzosa de esa unidad de análisis” (Hernández, 2008, p. 53).

1. Complicaciones físicas y emocionales del participante al momento de la toma de muestra.

2. Muestras de sangre venosa menores a 3 ml.
3. Muestras hemolizadas.
4. Niños menores de 1 años y personas mayores de 80 años.

8.8. Operacionalizacion de variables

Variable	Sub variable	Indicador	Valor	Criterio
Características sociodemográficas	Edad	1. Años cumplidos	1. 1 a 5 años 2. 6 a 10 años 3. 11 a 15 años 4. 16 a 20 años 5. 21 a 30 años 6. 31 a 40 años 7. 41 a 50 años 8. 51 a 60 años 9. 61 a más	
	Sexo	1. Femenino 2. Masculino	Si ___ No ___ Si ___ No ___	
Antecedentes clínico-familiares	1. Infección por malaria	1. En el presente 2. En el pasado	Si ___ No ___ Si ___ No ___	Numero de infecciones 1 _____ 2-3 _____ 4-5 _____ >6 _____

	2. Diagnóstico de malaria en familiares		Si ___ No ___	
Deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	Método cualitativo	1. Reducción de azul de metileno	Positivo _____	Tubos que presentan color azul en el sobrenadante indican prueba positiva
			Negativo _____	Un sobrenadante incoloro indica que la prueba esta negativa

8.9. Limitaciones del estudio

En una investigación es necesario plantear las limitaciones dentro de las cuales se realizará (no todos los estudios tienen las mismas limitaciones, pues cada investigación es particular), las limitaciones en un proyecto de investigación pueden referirse a: limitaciones de tiempo, limitaciones de espacio y territorio y limitaciones de recursos (Bernal, 2010).

La investigación estuvo limitada por falta de recursos humanos y económicos para poder cubrir un mayor porcentaje de la población. La distancia desde la capital hasta la ciudad de Bilwi implicó otra limitación debido a la accesibilidad.

8.10. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

Canales y Alvarado (2008) definen método como el medio o camino a través del cual se establece la relación entre el investigador y el consultado para la recolección de datos, así mismo, instrumento es el mecanismo que utiliza el investigador para recolectar y registrar la información.

La información se obtuvo de fuente primaria haciendo uso de una encuesta aplicada a los participantes en el estudio. Es una técnica de adquisición de la información de interés sociológico mediante un cuestionario previamente elaborado, a través del cual se puede conocer la opinión o valoración del sujeto seleccionado en una muestra sobre un asunto dado (Álvarez y Sierra, 2004).

Para determinar la deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se aplicó el método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso que permite evaluar la deficiencia de forma cualitativa.

8.11. Procedimientos para la recolección de la información

La dirección de parasitología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia realizó gestiones con el SILAIS Bilwi a nivel institucional para contar con su total apoyo y a su vez con la autorización del uso de los distintos laboratorios como el laboratorio regional y el laboratorio del Policlínico Ernesto Hodgson Wrigth con todos sus equipos, además brindó apoyo logístico en el muestreo en las distintas comunidades de las zonas urbanas de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas, el cual se llevó a cabo por un período de 7 días, casa a casa, desde las 07:00 am hasta las 12:00 md. Con propósito de recolectar toda la información pertinente para llevar a cabo la investigación titulada “Frecuencia de la deficiencia de glucosa 6-fosfato

deshidrogenasa (G6PD) y su relación con malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas en el período comprendido de octubre 2019 a marzo 2020”.

8.11.1. Recolección, preservación y transporte de la muestra biológica.

El muestreo se realizó en los barrios de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas con incidencia y sin incidencia de malaria, para obtener 237 muestras sanguíneas, con el objetivo de estudiar la deficiencia de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en la población y la relación de ésta con la malaria. A los pobladores que participaron se les proporcionó una explicación detallada de la investigación además de una hoja de consentimiento informado que firmaron o colocaron la huella dactilar.

La muestra sanguínea se tomó directamente de la vena radial o cubital. Se extrajeron 5 ml de sangre total en tubo con anticoagulante EDTA K3 (Ácido etilendiamino tetracético potásico 3) a cada uno de los participantes del estudio. En el caso de los niños se procedió de la manera más apropiada, haciendo uso de un lenguaje cautivador y creativo para que el niño asiente en participar en el estudio, sus padres o tutor inmediato observaron y estuvieron de acuerdo con los procedimientos, es importante destacar que no se procedió a tomar la muestra si los padres o tutores no estaban de acuerdo o si el niño mostraba resistencia, siempre de acuerdo con la declaración de Helsinki.

Una vez recolectada la muestra, fueron preservadas en un termo con refrigerante para mantenerlas a una temperatura constante de 2 a 4 °C durante el proceso de traslado al laboratorio regional del SILAIS donde fueron procesadas las muestras recolectadas cada día para el diagnóstico de malaria por medio del procedimiento de gota gruesa. Posterior a eso se trasladarían al Centro de Salud Policlínico Ernesto Hodgson Wright, siempre cumpliendo los

requerimientos de transportes de muestras biológicas, donde se procedió a realizar la determinación de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

8.11.2. Encuesta

Durante el muestreo se aplicó una encuesta a los pobladores que participaron en el estudio después de recolectar la muestra de sangre. La encuesta comprendía 3 aspectos; datos generales, características sociodemográficas y antecedentes clínico-familiares. Las preguntas se realizaron personalmente con amabilidad y respeto. Todas las preguntas que contiene la encuesta estaban orientadas a recopilar información relacionada con la investigación. Después de aplicada la encuesta se guardaron en carpetas para su posterior análisis.

8.11.3. Procesamiento de la muestra biológica

8.11.3.1. Organización.

Una vez que las muestras sanguíneas se encontraban en el laboratorio regional del SILAIS, se procedió a organizar y ordenar todos los equipos y materiales necesarios para su procesamiento, además de revisar el correcto funcionamiento de los equipos, para evitar interrupciones en el desempeño del analista o una causa de error en los procedimientos. De igual forma se procedió en el Centro de Salud Policlínico Ernesto Hodgson Wright para el tamizaje de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

8.11.3.2. Selección.

En el laboratorio regional del SILAIS se seleccionaron todas las muestras para realizarles diagnóstico de malaria mediante gota gruesa, cumpliendo con los protocolos de selección del laboratorio y los Procedimientos operativos estandarizados (POE) del centro nacional de diagnóstico y referencia.

Para el tamizaje de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa se les realizó revisión a todas las muestras obtenidas, de manera que se descartaron todas aquellas que no cumplieron con los criterios establecidos para su debido procesamiento, esto incluía: muestras de sangre venosa menores a 3 ml o muestras hemolizadas porque pueden interferir en los resultados generando falsos negativos.

8.11.3.3. Codificación.

Las muestras ya seleccionadas fueron verificadas y codificadas con el propósito de permitir la identificación exclusiva de cada participante durante todo su procesamiento tanto en el laboratorio regional como en el laboratorio del Centro de Salud Policlínico Ernesto Hodgson Wright. Se utilizaron las iniciales del municipio seguido de las iniciales de su nombre y el número de muestra iniciando en 001. Ejemplo: PC-BACZ-001

Para el procedimiento de gota gruesa el laboratorio regional de SILAIS BILWI utilizó su propia secuencia de códigos.

8.11.4. Procesamiento

Para detectar casos positivos de malaria en el muestreo, se realizó a cada paciente la técnica de gota gruesa para el diagnóstico de malaria, esto permitió conocer si los participantes presentaban malaria durante el estudio de manera que se les proporcionaría tratamiento inmediatamente después del diagnóstico.

8.11.4.1. Técnica de gota gruesa

8.11.4.1.1. Procedimiento técnico de toma de muestra (Centro nacional de diagnóstico y referencia [CNDR], 2020).

8.11.4.1.1.1. Equipos, materiales, reactivos

8.11.4.1.1.1. Equipos

- Reloj marcador de tiempo.

8.11.4.1.1.1.2. Materiales

- Láminas portaobjetos de vidrio limpias y libres de grasa.
- Algodón.
- Lancetas.
- Guantes.
- Formatos E-2.
- Lápiz de grafito.

8.11.4.1.1.1.3. Reactivos

- Alcohol

8.11.4.1.1.2. Procedimiento

1. Tener todos los materiales listos. Es importante que las láminas portaobjetos se encuentren limpios y libres de grasa para facilitar la adhesión de la sangre a la superficie y el deslizamiento de esta en el caso del extendido.
2. Luego se registran los datos del paciente en el formato E-2 para tomar la muestra.
3. Frotar enérgicamente la yema del dedo del paciente (de preferencia el dedo anular, talón en caso de niños pequeños o lóbulo de la oreja) con algodón humedecido con alcohol al 70%
4. Secar con algodón seco el excedente de alcohol que haya queda al momento de desinfectar, y sostener enérgicamente el dedo (importante en caso de niños) y realizar la punción de forma rápida. La primera gota de sangre se seca con el algodón seco.

5. Se utilizan dos láminas portaobjetos. En una de ellas se depositan dos gotas de sangre que se obtienen por presión leve en el dedo (la primera gota se utilizara en la gota gruesa y la segunda para el extendido fino según patrón de toma de muestra). Sobre la superficie de trabajo y usando la esquina de la segunda lámina, se extiende la primera gota de sangre de manera que forme un rectángulo de grosor uniforme, con dimensiones de 1.0 x 1.5 cm lo que constituirá la Gota Gruesa.
6. Después de realizar la gota gruesa, con la segunda lámina portaobjeto se coloca en un ángulo de 45 grados y se mueve hacia atrás, hasta que toca la segunda gota de sangre y entonces se desliza hacia adelante para que la sangre se extienda. La gota de sangre debe ser pequeña de tal manera que sea totalmente extendida antes de llegar al final de la lámina donde se está extendiendo.
7. Dejar secar la muestra y si es posible, intensificar el proceso de secado agregando calor moderado
8. Cuando el extendido fino se seca, se debe utilizar su extremo grueso para identificar, anotar el número y clave correspondiente con un lápiz grafito.

8.11.4.1.2. Procedimiento para tinción con Giemsa de gota gruesa y extendido fino para malaria (Centro nacional de diagnóstico y referencia [CNDR], 2020).

8.11.4.1.2.1. Equipo, materiales y reactivos.

8.11.4.1.2.1.1. Equipos

- Reloj marcador de tiempo.
- Secador de láminas.

8.11.4.1.2.1.2. Materiales

- Bloque de madera o plástico con hendidura para secar las láminas.

- Bandeja para tinción.
- Pipeta Pasteur.
- Probetas de vidrio graduadas de 0-10 ml.
- Vaso coplin para tinción.
- Frascos gotero ámbar de 25 ml.
- Guantes.
- Papel absorbente.
- Jabón de manos.

8.11.4.1.2.1.3. Reactivos

- Reactivos de Giemsa.
- Frasco de solución madre de Giemsa al 0.75%
- Solución amortiguadora pH 7.0
- Agua destilada

8.11.4.1.2.2. Procedimientos

En el CNDR se prepara el reactivo de Giemsa solución madre al 0.75%, en el área de preparación de reactivos, y se distribuye a todos los centros asistenciales a nivel Nacional, esto nos ayuda para llevar un control en la calidad del reactivo y así no se prepare en los centros asistenciales.

- Una vez tomada la muestra y realizada la gota gruesa, se deja secar la lámina durante 20 minutos.
- Preparar la solución de trabajo por cada lámina se debe de preparar 2 gotas de sol. de Giemsa (solución stock) por cada mililitro de sol. Amortiguadora (pH 7.0-7.2) o agua destilada.

- Colocar la lámina portaobjetos con la muestra hacia el frente de la bandeja de coloración. En este caso, deslizar la solución de trabajo recién preparada en la superficie de la lámina hasta que se llene el espacio, eliminando las burbujas.
- Colorear durante 6-10 minutos, el tiempo de coloración puede variar de un lote a otro de coloración y para obtener resultados óptimos deben de controlarse estrictamente.
- El exceso de colorante se lava sumergiendo con delicadeza la lámina portaobjetos en un recipiente con solución amortiguadora o agua corriente del grifo.
- La muestra se puede secar con aire o calor moderado.
- Observar al microscopio con objetivo de inmersión en aceite.

8.11.4.1.3. Procedimiento para diagnóstico de malaria por gota gruesa y extendido fino

(Centro nacional de diagnóstico y referencia [CNDR], 2020).

8.11.4.1.3.1. Equipos materiales y reactivos

8.11.4.1.3.1.1. Equipos

- Microscopio de 110 volts, binocular; con objetivos de 10x, 40x y 100x y una platina metálica.
- Calculadora sencilla
- Contador de células
- Aire acondicionado

8.11.4.1.3.1.2. Materiales

- Papel para limpiar lentes de microscopio
- Papel periódico
- Lapicero rojo y azul
- Lápiz de grafito

- Borrador
- Libreta de notas
- Formatos de Malaria.

8.11.4.1.3.1.3. Reactivos

- Aceite de inmersión. Índice de refracción de 1,515-1,517

8.11.4.1.3.2. Procedimientos

8.11.4.1.3.2.1. Gota gruesa

- Limpiar el área de trabajo
- Ordenar y registrar las láminas a leer en formato correspondiente.
- Conectar el microscopio a 110 volts.
- Coloque en la platina la preparación que vaya a examinar y alinee la extensión gruesa con el objetivo.
- Coloque una gota de aceite de inmersión sobre la extensión gruesa y déjela que se extienda.
- Utilizando el par de oculares de 10x y el objetivo de 40x, haga un barrido de la extensión en busca de Microfilarias, otros parásitos sanguíneos grandes. Seleccione la parte de la extensión que esté bien teñida y en la que los glóbulos blancos estén distribuidos uniformemente.
- Aleje el revólver de la platina y gírelo hasta colocar el objetivo de inmersión en aceite de 100x sobre la porción seleccionada de la extensión gruesa.
- Suba la platina mecánica hasta que el objetivo toque ligeramente el aceite de inmersión.
- Utilizando el ajuste fino, enfoque los elementos celulares y confirme que esa parte de la extensión es aceptable para un examen rutinario: 15 a 20 glóbulos blancos por campo de

extensión gruesa proporcionarán un grosor satisfactorio de la extensión. Las extensiones con menos glóbulos blancos por campo necesitarán un examen más extenso.

- Examine cuidadosamente la extensión, campo por campo, pasando de un campo al contiguo. Para que el examen sea eficiente, enfoque y reenfoque continuamente con el ajuste fino durante el examen de cada campo.
- Una vez que este seguro de la especie del *Plasmodium*, comenzar a leer, desde que aparezca el primer parásito en caso de ser la lámina positiva. Empezar el conteo de la especie detectada en sus formas EAS/ESS y GB, con ayuda del contador de células.
- Se deben observar 100 campos siguiendo la pauta de movimiento indicada. Si se encuentran parásitos, se debe observar un aproximado de 100 campos para confirmar la especie encontrada antes de proceder a estimar la densidad parasitaria. Si después de 100 campos se encuentra negativa llegar hasta 500 campos para asegurar. La observación de 100 campos posibilita la identificación de infecciones mixtas. Los métodos de determinación de la densidad parasitaria más usados son dos el método semicuantitativo o de cruces y el método cuantitativo o conteo de parásitos por microlitro.
- Si la preparación es positiva y se ha identificado la especie, determine la densidad de parásitos (véase más adelante), siempre que dicha determinación forme parte de su examen rutinario.
- Terminar el conteo cumpliendo las normas del diagnóstico cuantitativo.
- Registrar el número final de conteo de EAS/ESS y GB en el formato correspondiente a la unidad de salud donde se encuentre.

- Proceder a calcular mediante formula $[(EAS \text{ ò } ESS) \times 6000] / GB = \#P/\mu l.$, la densidad parasitaria. Donde EAS=Estadios asexuados de la Especie; ESS=Estadios Sexuados de la especie; 6000 constante; GB Glóbulos Blancos; #P/ μ l.
- Hacer reporte en formato correspondiente.
- Elimine el aceite de inmersión de la preparación

8.11.4.1.3.2.2. Extendido fino

- Coloque la preparación en la platina y sitúe el objetivo de inmersión en aceite de 100x sobre el borde de la porción central de la extensión fina, en el lugar marcado con una X en el diagrama que figura en anexo.
- Coloque una gota de aceite de inmersión en el borde de la porción central de la extensión.
- Suba la platina mecánica hasta que la lente del objetivo toque el aceite de inmersión, tal como hizo antes.
- Examine la extensión de sangre, primero desplácese a lo largo del borde de la extensión, después muévala un campo hacia adentro, repita el movimiento lateral, y así sucesivamente.
- Siga examinando la extensión hasta que haya identificado la presencia de Plasmodium y su especie, o hasta que haya observado un mínimo de 800 campos antes de dar la preparación por negativa.

Nota: Para obtener la misma sensibilidad que con 10 minutos de examen de la extensión gruesa en campos de gran aumento (con el objetivo de inmersión en aceite de 100x), en el caso de las extensiones finas tendrá que examinarlas durante un mínimo de 30 minutos.

Para determinar la deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se aplicará el método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso que permitirá conocer si los pobladores presentan la deficiencia.

8.11.4.2. Método de reducción de azul de metileno o método de Sass y Caruso.

8.11.4.2.1. Equipo, materiales y reactivos

8.11.4.2.1.1. Equipos

- Centrifuga para banco de sangre.
- Pipetas automáticas de volumen fijo y volumen graduado.
- Balanza analítica.

8.11.4.2.1.2. Materiales

- Tubos de borosilicato de medida 12 x 75 mm
- Puntas de pipeta de 200 µl, 1000 µl y 5000 µl
- Gradillas para tubos de 12 x 75 mm
- Cubo de material de descarte

8.11.4.2.1.3. Reactivos

- Azul de metileno
- Glucosa anhidra
- NaCl
- Tampón de fosfatos 0,066 M ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$)
- Agua destilada c.s.p
- Cloruro de sodio 0.9%

8.11.4.2.2. Procedimiento técnico

1. Se centrifuga la muestra para separar el plasma del paquete celular. Luego se retira el plasma hacia un tubo limpio.
2. Se pipetea 400 µl del paquete celular en un tubo de ensayo limpio de 13 x 75 mm.
3. Se agrega solución salina al 0.9% (NaCl 0.9 %) hasta las $\frac{3}{4}$ partes del tubo.

4. Se centrifuga por 5 min a 3500 rpm.
5. Una vez cumplido el paso anterior se retira el sobrenadante con una pipeta Pasteur o una pipeta automática de 5ml hasta dejar al fondo del tubo el paquete celular.
6. Se repite el paso 3, 4 y 5 dos veces más.
7. Se agrega 1.25 ml de azul de metileno, se mezcla bien.
8. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
9. Después del tiempo de incubación se centrifuga por 3 minutos a 3,500 rpm.
10. Reportar e interpretar el resultado.

Nota: Revisar que después de centrifugar, la muestra no se encuentre hemolizada para evitar falsos negativos, para esto se puede observar el sobrenadante. El tiempo de incubación es flexible, el mínimo son 30 min, pero se puede prolongar hasta 45 o 60 minutos sin afectar el resultado.

8.11.4.2.3. Interpretación de la prueba

Los tubos que presentan color azul en el sobrenadante indican prueba positiva (deficiencia de G6PD), mientras que un sobrenadante incoloro indica que la prueba esta negativa (pacientes sin la deficiencia enzimática).

8.11.5. Registro de resultados

Los resultados obtenidos por cada participante se inscribieron primeramente en una planilla (documento en físico) y posteriormente se registraron en una base de datos computarizada para su análisis. A todos los participantes se les hizo entrega de sus resultados en un plazo no mayor de 10 días, además se les explicó a que se debe un resultado positivo o un resultado negativo.

8.11.6. Control de calidad

8.11.6.1. Reactivos.

Lo ideal es tener preparados por separados los reactivos. El Buffer de fosfatos es muy estable y la solución de trabajo de azul de metileno es bastante estable en refrigeración a temperatura de 2-8 °C. Cuando se vaya a trabajar se debe preparar la solución salina-glucosa-tampón fosfato más la solución de trabajo de azul de metileno en pocas cantidades ya que no es tan estable, pero puede durar 15 días en refrigeración a temperatura de 2-8 °C, aunque se debe estar probando con el control normal y control deficiente.

El control normal se monta de una muestra previa conocida (sin la deficiencia) y el control deficiente se puede montar dejando envejecer una muestra por lo menos de 8 a 10 días, sin embargo, se debe tomar en cuenta que no esté hemolizada.

8.11.6.2. Procedimientos.

Para asegurar la calidad de los procedimientos se dispuso de un sistema control que consiste en tomar al azar el 40% de los positivos y el 10% de negativos.

8.12. Plan de tabulación y análisis de los resultados

Canales y Alvarado (2008) definen que plan de tabulación y análisis se refieren al tipo de cuadros y gráficos para el registro de los datos y el uso de tipos de análisis que son necesarios para la interpretación de los resultados en función del problema que se estudia.

Para el procesamiento, análisis de los datos, elaboración de tablas y gráficas se utilizó los programas estadísticos SPSS versión 27.0.0.0 y Microsoft Excel, para elaborar los informes se utilizó Microsoft Word y Microsoft Power Point para elaborar la presentación de la investigación.

Canales y Alvarado (2008) sugieren que, si el investigador no tiene muchos conocimientos sobre la estadística, es recomendable buscar el asesoramiento en este campo y recordar que lo más importante en el uso de la estadística no es saber calcular un valor a través de una técnica sino saber qué técnica usar y como interpretar el resultado.

8.13. Financiamiento de la investigación

Por mucho que se legisle y se norme, por más que se llegue a acuerdos entre países y dentro de las sociedades en torno a este tema, quienes siguen teniendo toda la potencialidad que su mente y los recursos económicos les permitan, son los científicos y las entidades patrocinadoras de estas investigaciones. El riesgo de la comercialización en la investigación científica, introduciendo una variable económica de muchos millones de dólares en la toma de decisiones sobre qué investigar y qué producir, es una realidad innegable en muchos países (Mancini, 2019).

Para el completo desarrollo de la investigación se contó con el financiamiento de los investigadores y de la dirección de parasitología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) del Ministerio de Salud de la Republica de Nicaragua, considerando como propósitos comunes el mejoramiento de la salud pública nicaragüense.

8.14. Ética de investigación

Nuestras sociedades deben procurarse los medios políticos, sociales y económicos que permitan dar respuesta a esa interrogante de los "límites de la ciencia", a través de mecanismos regulatorios que respeten, tanto la libertad de los científicos para avanzar en un progreso que beneficiará al ser humano, como la libertad de las personas para decidir que les conviene o no, según su propia escala de valores morales (Mancini, 2019).

La investigación en salud es una de las áreas de mayor relevancia ya que contribuye al desarrollo de la calidad de la salud y proporcionará una respuesta más adecuada a enfermedades. Al respecto, el Ministerio de Salud de la República de Nicaragua ha establecido en la ley 423 “ley general de salud” la necesidad que las investigaciones sean éticas y transparentes, el artículo 16 refiere que “En el Ministerio de Salud existirá un Programa y un Comité Nacional de Investigaciones encargado de la promoción y priorización, de temas que contribuyan al mejoramiento de la salud de la población. Las investigaciones deberán referirse a los principios científicos y éticos internacionalmente aprobados.

Las investigaciones en salud deben apegarse a los lineamientos y disposiciones contempladas por la Declaración de Helsinki revisada en Edimburgo, Escocia en 2000 en la que se hace referencia al principio de la proporcionalidad entre riesgos predecibles y beneficios posibles, respeto a los derechos del sujeto, prevaleciendo su interés por sobre los de la ciencia y la sociedad, consentimiento informado y respeto por la libertad del individuo.

Considerando lo anterior se dispuso de un documento de consentimiento informado el cual fue firmado por los participantes que estén de acuerdo con los procedimientos y alcances de la investigación, además se detallaron los objetivos del estudio, beneficios, confidencialidad de los resultados, así como la autorización para la donación de 5 ml sangre venosa. Después de tomada la muestra sanguínea se dispuso de un sistema de códigos único para cada tubo, de manera que no se puso en evidencia la información personal de cada participante. La información recolectada mediante los instrumentos fue utilizada única y exclusivamente por los investigadores.

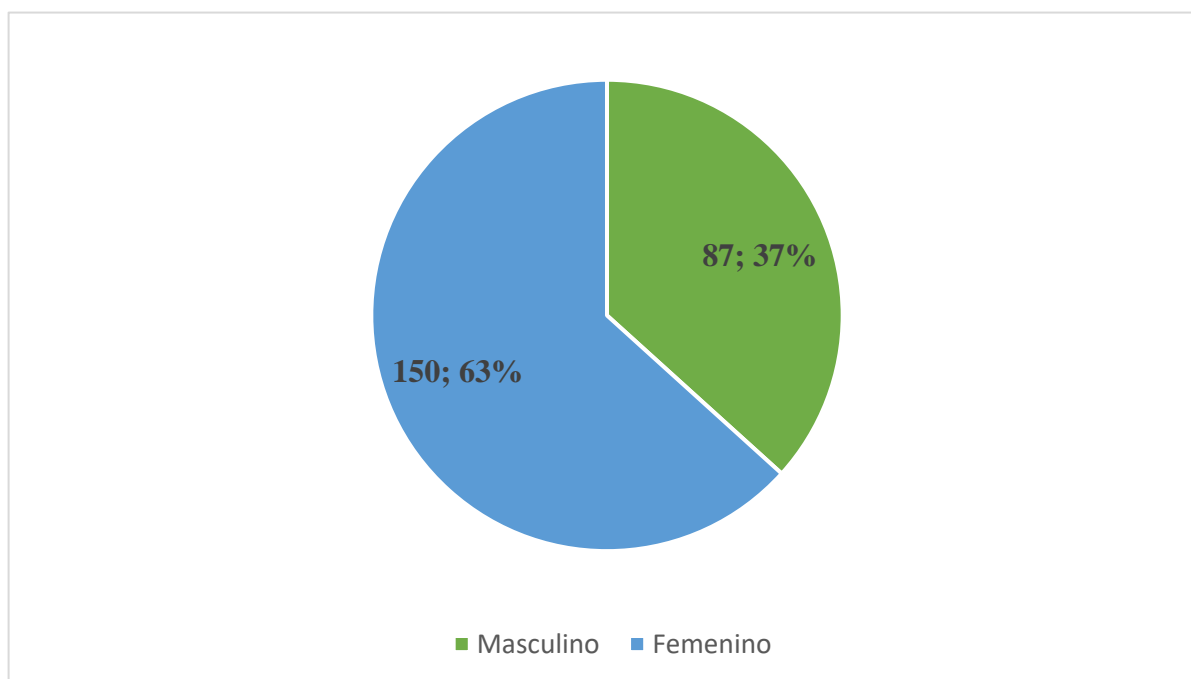
En todo el proceso de la investigación se consideraron los 37 artículos de la declaración de Helsinki que fue promulgada por la Asociación Médica Mundial (AMM), además, de cualquier

otra norma nacional e internacional que pueda conllevar un conflicto ético en el proceso investigativo.

9. Análisis y discusión de resultados

La deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD-d) es una enzimopatía de relevancia para la salud pública del pueblo nicaragüense, el estudio se realizó en los pobladores de la ciudad de Bilwi del Municipio de Puerto Cabezas

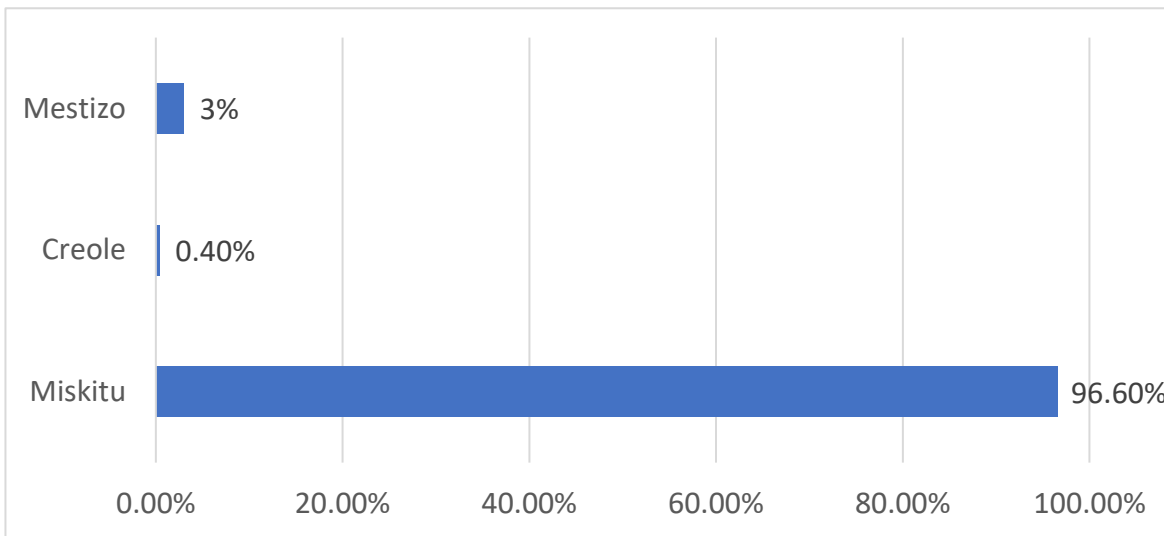
Figura 9.1. Frecuencia del sexo



Fuente. Encuesta a pobladores

El sexo con mayor predominio en el estudio fue el femenino con el 63%, esto se debió a que el sexo femenino es el más prevalente en las comunidades. Además, presentaron mayor disposición para participar en el estudio.

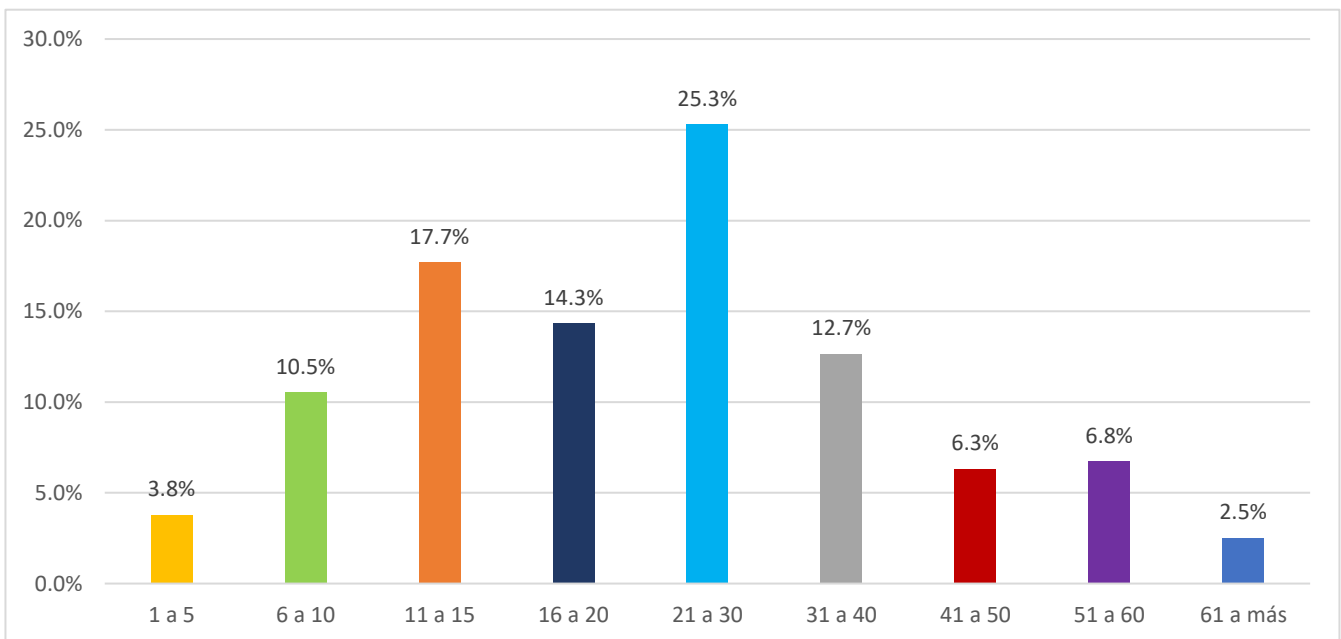
Figura 9.2. Frecuencia según etnia



Fuente. Encuesta a pobladores

La etnia más frecuente en el estudio fue la Miskitu, ya que, en esta zona del Caribe ésta es la población de mayor predominio.

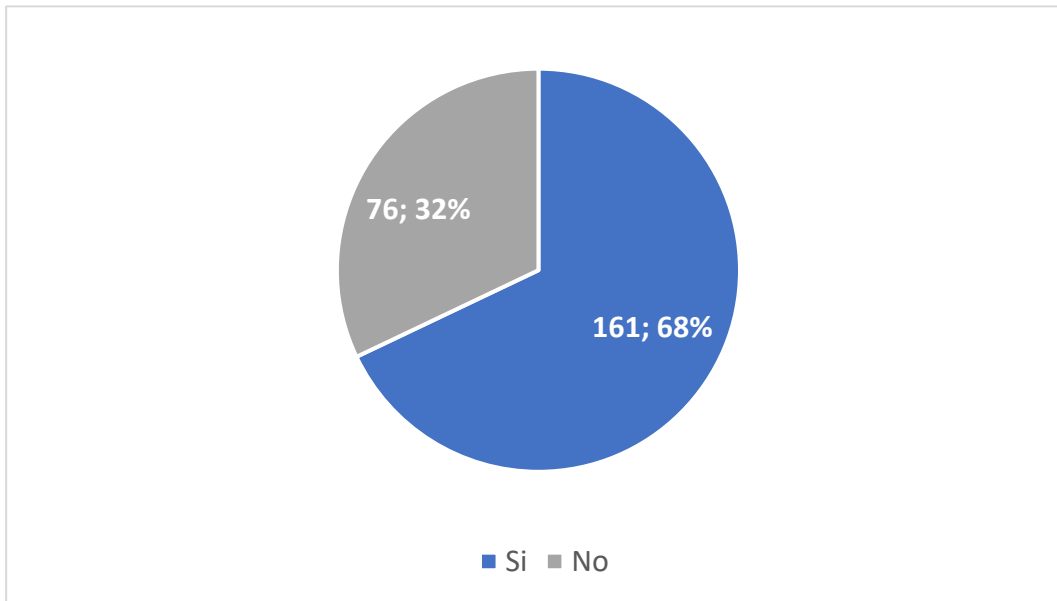
Figura 9.3. Frecuencia según edad



Fuente: Encuesta a pobladores

El rango de edad más predominante fue de 21 a 30 años con el 25.3%, seguido por los rangos de 11 a 15 con 17.7%, 16 a 20 con 14.3%, 31 a 40 con 12.7%, de 6 a 10 con 10.5%, los rangos de 41 a 50, 51 a 60 y 1 a 5 presentaron 6.3%, 6.8% y 3.8%, el rango de 61 a más fue el menos frecuente con solo 2.5%.

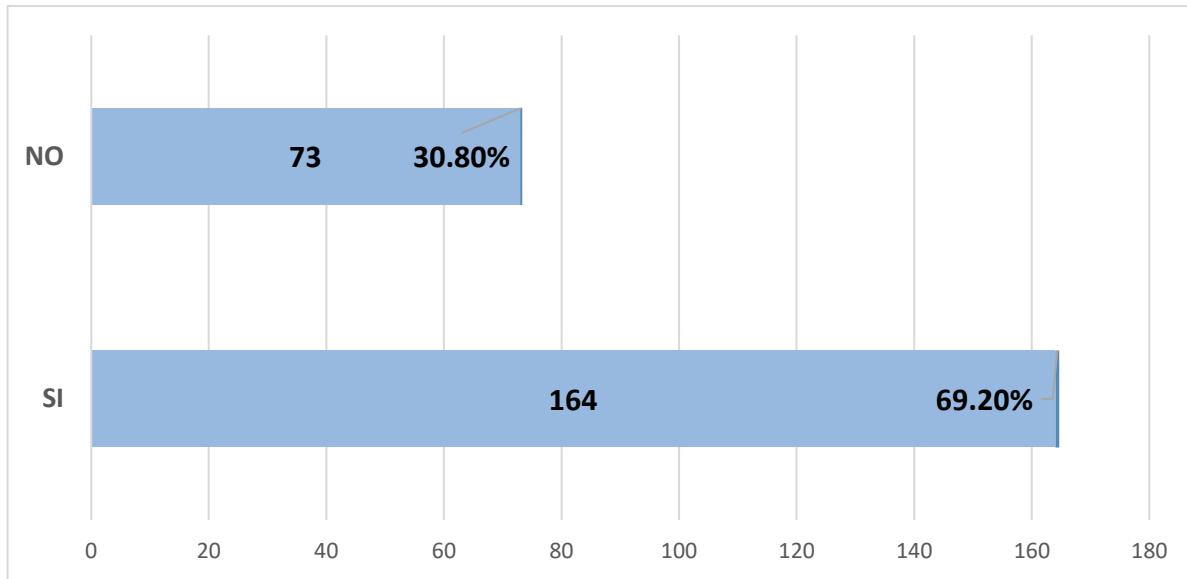
Figura 9.4. Frecuencia de infección por malaria en pobladores



Fuente. Encuesta a pobladores y resultados de gota gruesa

La frecuencia de infección por malaria fue de 68%, en cambio, apenas el 32% de los pobladores argumentaban no haber padecido alguna infección. Esto es consistente con el hecho que Puerto Cabezas es una región endémica para malaria.

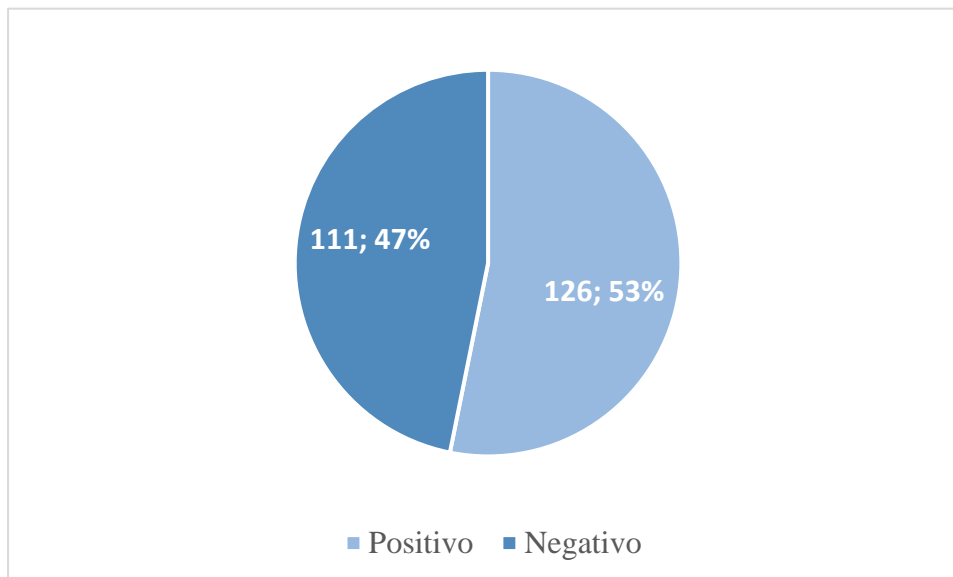
Figura 9.5. Frecuencia de pobladores con antecedentes familiares con malaria



Fuente. Encuesta a pobladores

El 69.2% de los pobladores alegaron que presentaban antecedentes familiares con malaria mientras que sólo el 30.8% de los pobladores indicaron que no presentaban antecedentes de casos de malaria en la familia.

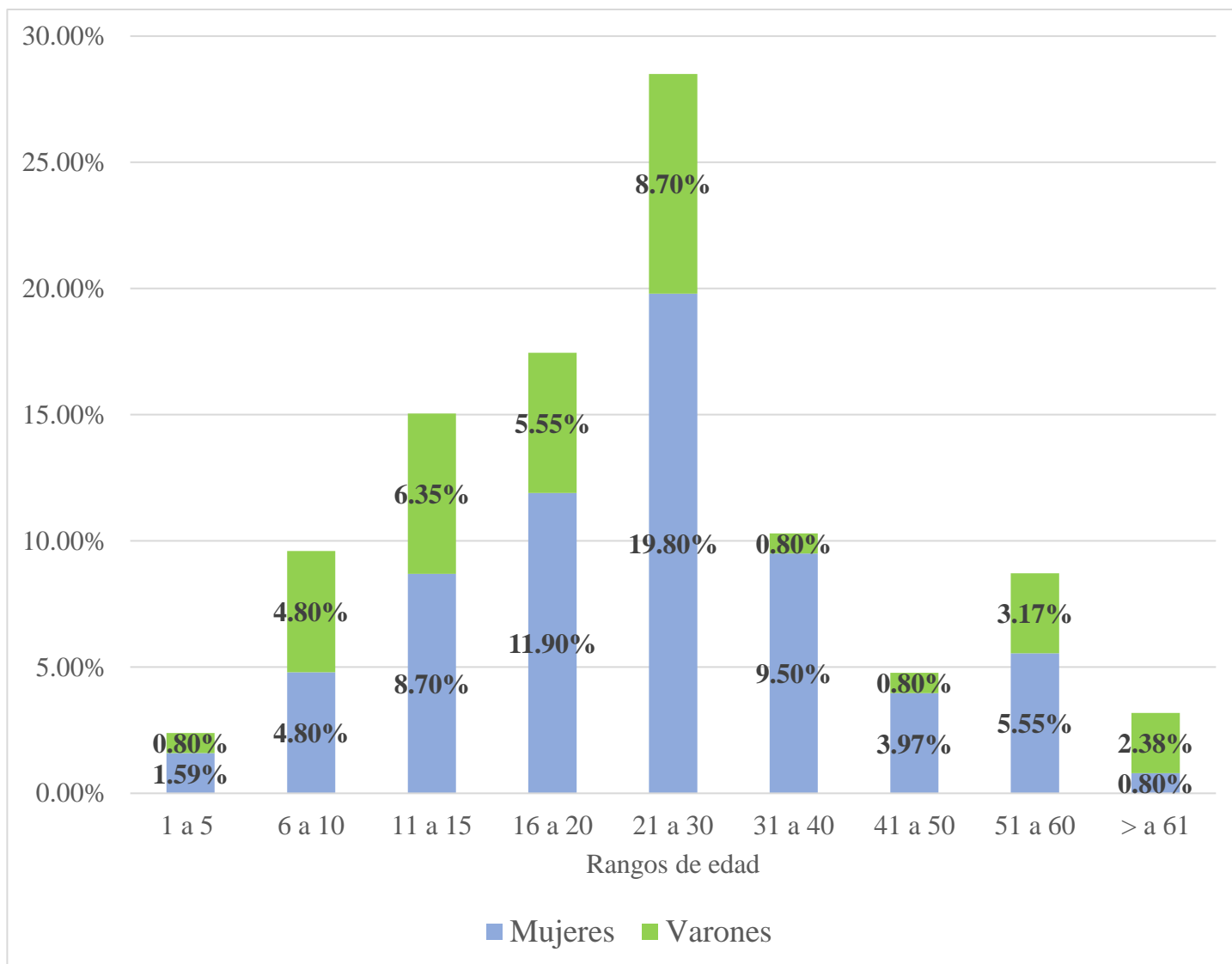
Figura 9.6. Frecuencia de la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa



Fuente. Resultados del tamizaje de G6PD

El 53% de la población en estudio presentaba deficiencia de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa siendo una tasa relativamente alta como se observa en el gráfico anterior.

Figura 9.8. Deficiencia de G6PD según edad y sexo



Fuente. Encuesta pobladores y resultados del tamizaje de G6PD

El sexo más afectado fue el femenino con el 66.67% (84/126) lo cual no coincide con la investigación de Eandi et al. (2011) que determinó que todos los varones (100%) presentaron una prueba de Brewer positiva, pero sólo el 56% de las mujeres la presentaron. De igual forma Christianson, Howson y Modell (2006) en su informe abordaron que “el 90 por ciento de los afectados son hombres” (p.26).

Los árboles genealógicos de familias mostraban que el defecto era transmitido principalmente de madres a hijos varones. Con la identificación gracias a estudios de medición de la actividad enzimática, movilidad electroforética del defecto básico, como la deficiencia de la G6PD, se confirmó ligamiento al cromosoma X (Fonseca et al, 2005). Afectando directamente a varones por poseer un solo cromosoma X a diferencias de las mujeres con un par de cromosomas X.

Si bien es cierto que los varones son los más afectados, Sáenz (2016) establece que los padres varones deficientes de la enzima no transmiten el trastorno a los hijos, pero si a las hijas. Sin embargo, el trastorno rara vez se observa en mujeres, porque la situación homocigota significa herencia de un gen mutante proveniente de cada progenitor, lo cual no es común. Otra causa de la alta frecuencia de positivos del sexo femenino puede ser el hecho que del total de la muestra el 63% era del sexo femenino.

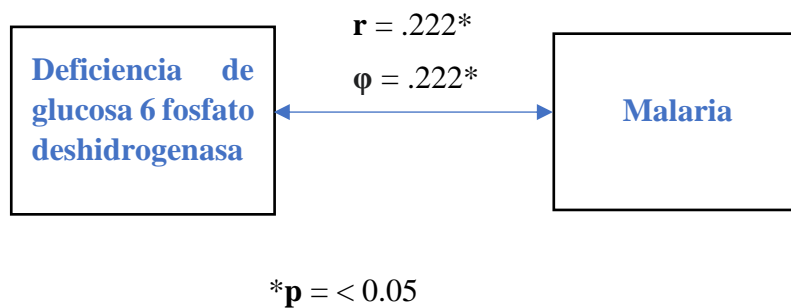
Es importante recalcar que, aunque el sexo femenino fue el más afectado, estadísticamente no se encontró relación significativa entre sexo y la deficiencia ($\phi = -.075$, $p = 0,253$ / $r = -.075$, $p = 0,253$), se debe considerar que, tanto *Plasmodium* como los tratamientos antimaláricos (Primaquina, cloroquina) producen estrés oxidativo y la exposición sistemática de estos conducirá a un déficit de la enzima.

El pico más alto se encuentra en el rango de edad de 21 a 30 años con el 28.5% (36/126), con referencia en este dato la mayor parte de los casos positivos de deficiencia se encuentran del lado izquierdo hacia los rangos menores con un 44.49% (56/126), indicando así una mayor frecuencia en la población adolescente y adultos jóvenes. Siendo esto un factor indicativo de deficiencia de G6PD hereditaria, al respecto Zamorano-Jiménez (Como citó secretaria de salud, 2016) México reporta 189 tamices neonatales positivos de 21,619 neonatos tamizados. Siendo la variante más común la G6PD A⁻, no obstante, se debe considerar un estudio genético para poder determinar las variantes electroforéticas que posee nuestro país.

Las edades desviadas a la derecha del rango de 21 a 30 años presentan una disminución paulatina siendo el rango más alto el de 31 a 40 años con 10.3% (13/126), luego se encuentran los rangos de 41 a 50, 51 a 60 y 61 años a más con una frecuencia general de 16.67% (21/126). En estos rangos de edades se debe considerar la exposición sistemática a malaria y a tratamientos antimaláricos, pero no se debe menospreciar el hecho de deficiencia hereditaria.

Como parte del estudio de asociación de la deficiencia de G6PD con la malaria se midió en una muestra de 237 casos (N=237), la hipótesis de investigación fue que “A mayor frecuencia de pobladores con conexión con malaria mayor frecuencia de la deficiencia de Glucosa 6 Fosfato deshidrogenasa en los pobladores”. Al correlacionar la deficiencia de G6PD y la malaria se obtuvieron los siguientes resultados.

Figura 9.9. Relación entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria.



Fuente: Análisis estadístico de correlación entre ambas variables / SPSS

Se encontró una relación estadísticamente significativa y directamente proporcional ($\phi = .222$, $p < 0.05$ / $r = .222$, $p = < 0.05$) entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria.

Estudios realizados en otros países establecieron su correlación con su efecto protector contra la malaria. Para conocer a fondo las causas de la deficiencia se pueden realizar investigaciones que aborden el uso de los tratamientos antimaláricos, la genética de los diferentes genotipos que están asociados a la deficiencia y otras posibles causas a las que se hayan expuestos los pobladores y que se relacionen con la G6PD-d.

Así mismo, Zúñiga y Fontecha (2015) abordan que en Honduras existen áreas bien conocidas con altas prevalencias de malaria en las que esta deficiencia enzimática es potencialmente una causa importante, pero ignorada de morbi-mortalidad, existiendo pocos datos sobre la prevalencia y frecuencia de la deficiencia de G6PD.

10. Conclusiones

1. Las edades comprendidas entre los 6 y los 30 años presentaron una mayor frecuencia de la deficiencia con un 73.01%. La deficiencia era más frecuente en las mujeres con 66.7% que, en los hombres. Se obtuvo un predominio de la etnia miskitu con el 96.6%.
2. La frecuencia de la deficiencia de G6PD en los pobladores de la ciudad de Bilwi del Municipio de Puerto Cabezas fue relativamente alta con el 53,2%.
3. La deficiencia de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa presenta una íntima relación con la malaria, los datos indican que con un intervalo de confianza del 95%, se encontró una relación estadísticamente significativa y directamente proporcional ($\phi = .222$, $p < 0.05$ / $r = .222$, $p = < 0.05$) entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria. Por tanto, se acepta la hipótesis que establece que “A mayor frecuencia de pobladores con conexión con malaria mayor frecuencia de la deficiencia de Glucosa 6 Fosfato deshidrogenasa”.

11. Recomendaciones

1. Realizar un estudio genético para determinar si la deficiencia es de origen hereditario ya que la población más afectada eran adolescentes y adultos jóvenes y a su vez conocer las variantes electroforéticas que presenta nuestro país.
2. Ejecutar investigaciones que aborden la deficiencia ocasionada como una reacción adversa del cuerpo a la Primaquina y Cloroquina que son comúnmente utilizados como tratamiento antimalárico de primera línea.
3. Al sistema local de atención integral en salud, Bilwi (SILAIS-BILWI), adoptar los resultados de estudios y promover investigaciones a nivel local y regional que permitan verificar su situación y reevaluar las directrices de atención a pacientes con deficiencia de G6PD, la información alcanzada podrá emplearse para concretar mejoras en las políticas de tratamiento de la malaria, en donde el protocolo regente determina el uso de primaquina como tratamiento antimalárico siendo este un grave agente oxidante.
4. Al Ministerio de salud (MINSa) y al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR), continuar apoyando las investigaciones de fin de grado de los estudiantes de Bioanálisis Clínico y Microbiología, que serán de relevancia nacional, y que establecerán un marco de referencia epidemiológico para futuras investigaciones.
5. Al departamento de Bioanálisis Clínico del POLISAL/UNAN-Managua, apoyar investigaciones que tendrán un impacto en el mejoramiento de la salud del pueblo nicaragüense y a los estudiantes de la carrera de Bioanálisis Clínico, retomar nuestros principios rectores en investigación orientados al estudio de temáticas que permitan solucionar problemas de salud pública para un mejoramiento de la calidad de vida de la población nicaragüense.

12. Referencias bibliográficas

- Alatorre, A., González, I., López, F., y Rojo, W. (2017). Deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa. *Salud Jalisco*, (3), 178-184. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2017/sj173e.pdf>
- Álvarez, C. y Sierra, V. (2004). *La solución de problemas profesionales: Metodología de la investigación científica*. 4ta Ed. Cochabamba, Bolivia: Grupo editorial Kipus.
- Bastidas, G., Pérez, H. y Vizzi, E. (2015). Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa: características bioquímicas y moleculares. Prevalencia de la deficiencia. *Archivos de medicina*, 15(1), 138-150. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2738/273840435014.pdf>
- Becerra, F. (2015). *Fenómenos de citoadherencia asociados al paludismo falciparum* (Tesis de grado). Universidad complutense de Madrid, Madrid, España. Recuperado de <https://eprints.ucm.es/48566/1/FEDERICO%20MIGUEL%20BECERRA%20APARICIO%20%281%29.pdf>
- Becerril, M. (2014) *Parasitología Medica*. 4ta Ed, Distrito Metropolitano, México: McGraw Hill.
- Becerril, M. y Romero, R. (2004). *Parasitología medica: de las moléculas a la enfermedad*. 1era ed. Ciudad de México: México, McGraw Hill.
- Becker. K., Rahlfs, S., Nickel C., y Schirmer, RH. (2003). Glutathione-functions and metabolism in the malarial parasite Plasmodium falciparum. *Biological Chemistry*, 384(4), 551-66. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12751785>

Bernal. C. (2010). *Metodología de la investigación*. 3ra Ed. Bogotá, Colombia: Pearson Education.

Botero, D. y Restrepo, M. (2012). *Parasitosis humanas*. 5ta ed. Medellín, Colombia: Corporación para investigaciones biológicas.

Carmona, J., Álvarez, G., Rios, A y Vásquez, M. (2008). Deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase in healthy men and malaria patients; Turbo (Antioquia, Colombia). *Rev Bras Epidemiol*, 11(2), 252-265. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v11n2/07.pdf>

Carnevale, S. y Velásquez, J. (2018). *Manual operativo para el diagnóstico laboratorial de paludismo*. Buenos aires, Argentina. Recuperado de http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000001470cnt-paludismo_-_manual_de_diagnostico_laboratorial.pdf

Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (2020). *Procedimiento operativo estandarizado para tinción con Giemsa de gota gruesa y extendido fino para malaria*. Managua, Nicaragua.

Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (2020). *Procedimiento operativo estandarizado para toma de muestra hemática por gota gruesa y extendido fino*. Managua, Nicaragua.

Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (2020). *Procedimiento operativo estandarizado para diagnóstico de malaria por gota gruesa y extendido fino*. Managua, Nicaragua.

Christianson, A., Howson, C. y Modell, B. (2006). *March of dimes global report on birth defects: the hidden toll of dying and disabled children*. Nuevo york, Estados Unidos: March of Dimes Birth Defects Foundation. Recuperado de:

<https://www.marchofdimes.org/global-report-on-birth-defects-the-hidden-toll-of-dying-and-disabled-children-full-report.pdf>

Ciesla, B. (2007). *Hematology in practice*. Philadelphia, EE. UU.: F. A. Davis Company.

Eandi, S., García, N., Urtasun, C., Sciuccati, G., Díaz, L., Savietto, V., Candás, A., Avalos, V., Cervio, C., Bonduel, M y Feliú, A. (2011). Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Serie de casos clínicos. *Arch Argent Pediatr*, 109(4): 354-361. Recuperado de

<https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2011/v109n4a12.pdf>

EcuRed (2018). Paludismo. *EcuRed* [Versión electrónica]. Recuperado de <https://www.ecured.cu/index.php?title=Paludismo&oldid=3184076>

Fonseca, D., Mateus, H., Silva, C., Contreras, N y Restrepo, C (2005). Deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa: Aspectos generales de la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo. *Acta medica colombiana*, 100 (2), 59-64. Recuperado de <http://www.actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/v30n2a5.pdf>

Fontecha, G., Zúñiga, M y Mejía., R. (2015). *Deficiencia de Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa en individuos infectados con malaria en Honduras*. Recuperado de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-fontecha-prevalencia-g6pd-honduras.pdf>

García N, Romo E, Luque F, Torres M, Arámbula E. (2014). Panorama de la deficiencia de Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa en México. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(2): 31-40. Recuperado de <http://www.reibci.org/publicados/2014/julio/2200119.pdf>

- García, H., Fauré, A., Gonzales, A y García, C. (1999). *Metodología de la investigación en salud*. Distrito Metropolitano, México: Editorial mexicana.
- Gómez, S., Marcial, J., Vanoye, A., Serrano, H., Ortega, D., González, A. y Arreguin, R. (2016). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *International Journal Molecular Sciences*, 17 (12): 20-69. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5187869/pdf/ijms-17-02069.pdf>
- Hernández, L. (2008). *Metodología de la investigación en ciencias de la salud*. 2da Ed. Bogotá, Colombia: Ecoe Ediciones.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista., P. (2014). *Metodología de la investigación*. 6ta Ed. Distrito Metropolitano, México: McGraw Hill.
- Herrera, I., Darío, I., Arce, M., Recht, J y Arévalo, M. (2016). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency prevalence and genetic variants in malaria endemic areas of Colombia. *Malaria Journal*, 15 (291). Doi: 10.1186/s12936-016-1343-1.
- Hoffbrand, A., Catovsky, D. y Tuddenham, E. (2005). *Postgraduate Haematology*. Ljubljana, Slovenia: Blackwell Publishing.
- Lewis, S., Bain, B. y Bates, L. (2008) *Dacie y Lewis Hematología práctica*. 10ma Ed. Madrid, España: Grafo, S.A.
- Mancini, R. (2019). *Normas éticas para la Investigación Clínica*. Recuperado de <https://www.uchile.cl/portal/investigacion/centro-interdisciplinario-de-estudios-en-bioetica/publicaciones/76992/normas-eticas-para-la-investigacion-clinica>

Mandal, A. (2019). Historia de la malaria. *News Medical Life Sciences*. Recuperado de [https://www.news-medical.net/health/Malaria-History-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Malaria-History-(Spanish).aspx)

Marenco, G. (2016). *Caracterización Clínico Epidemiológico de los pacientes con Diagnóstico de Anemias Hemolíticas en el Servicio de Hematología del Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera “La Mascota” en el periodo comprendido enero 2011 – diciembre 2015* (Tesis de especialidad). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, Nicaragua. Recuperado de: <http://repositorio.unan.edu.ni/3235/1/67832.pdf>

Mehta, A., Mason, P. y Vulliamy, T. (2000). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*, 13(1), 21-38. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10916676>

Méndez, D, Linares, M., Diez, A., Puyet, A. y Bautista, J. (2011). Stress response and cytoskeletal proteins involved in erythrocyte membrane remodeling upon Plasmodium falciparum invasion are differentially carbonylated in G6PD A- deficiency. *Free Radical Biology & Medicine*, 15;50(10) 1305-13. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376116>

Méndez, D. (2011). *Proteómica redox de membrana de eritrocito humano en malaria y polimorfismos de grupos sanguíneos y G6PD* (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Tomado de <https://eprints.ucm.es/12529/1/T32638.pdf>

Ministerio de salud y protección social (2015). *Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento*. 1ª Ed. Bogotá, Colombia: Milenio Editores. Recuperado de

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/manual-diagnostico-malaria-no-complicada.pdf>

Ministerio de salud. (2019). *Boletín epidemiológico semana N° 38*. Recuperado de <http://www.minsa.gob.ni/index.php/direccion-general-de-vigilancia-de-la-salud-publica/boletin-epidemiologico>

Ministerio de salud. (2019). *Mapa Nacional de la Salud en Nicaragua*. Recuperado de <http://mapasalud.minsa.gob.ni/>

Montoya, A., Menco, J., Osorio, N., Zuluaga, M., Duque, J., Torres, G. y Restrepo, M. (2008). Concordancia entre gota gruesa, inmunocromatografía y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de malaria. *Biomédica*, 28, 252-251. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v28n2/v28n2a10.pdf>.

Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2006). *Microbiología médica*. 5ta ed. Madrid, España: Elsevier Inc.

Pan American Health Organization (2018). *Actualización Epidemiológica: Aumento de malaria en las Américas*. Recuperado de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=2018-9582&alias=43437-30-enero-2018-malaria-actualizacion-epidemiologica-437&Itemid=270&lang=es

Pasternak, N. y Dzikowski, R. (2009). PfEMP1: An antigen that plays a key role in the pathogenicity and immune evasion of the malaria parasite Plasmodium falciparum. *Biochemistry & Cell Biology*, 41(7) 1463-1466, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.12.012>

- Pavón, A. (2009) *Dossier Parasitología médica I*. Managua, Nicaragua: Editorial universitaria tutecotzimi, Unan-Managua.
- Pereira, A. y Pérez, M. (2002). Epidemiología y tratamiento del paludismo. *Offarm-Elsevier*, 21(6), 110-114. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-epidemiologia-tratamiento-del-paludismo-13033516>
- Pineda, E y Alvarado, E. (2008). *Metodología de la investigación*. 3ra Ed. Washington, Estados Unidos: Organización Panamericana de salud.
- Piura, J. (2000). *Introducción a la metodología de la investigación científica*. 4ta Ed. Managua, Nicaragua: Centro de investigaciones y estudios de la salud.
- Ramírez, J. y Zarante, I. (2009). Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa: situación actual, su relación con malaria y estrategias para calcular su prevalencia. *Universidad medica de Bogotá*, 50 (1), 58-76. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/237780874_Deficiencia_de_glucosa-6-fosfato_deshidrogenasa_situacion_actual_su_relacion_con_malaria_y_estrategias_para_calcular_su_prevalencia/fulltext/0270f32e0cf25a9bab879a5f/237780874_Deficiencia_de_glucosa-6-fosfato_deshidrogenasa_situacion_actual_su_relacion_con_malaria_y_estrategias_para_calcular_su_prevalencia.pdf?origin=publication_detail
- Sáenz, G. (Ed). (2016). *Hematología Analítica: tomo I*. 6ta Ed. San José, Costa Rica: Editorial nacional de salud y seguridad social (EDNASSS).
- Sáenz, G. (Ed). (2016). *Hematología Analítica: tomo II*. 6ta Ed. San José, Costa Rica: Editorial nacional de salud y seguridad social (EDNASSS).

Salamanca, F. (2005). Genes y Malaria. *Gaceta medica mexicana*, 141(5), 443-444. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/gmm/v141n5/v141n5a15.pdf>

Sánchez, D., Valencia, D., Uribe, J., Trujillo, M., Bustamante, C., Uribe, A. y Flórez, P. (2012). Malaria congénita por *Plasmodium vivax*: un caso incidental en contexto de sepsis neonatal. *Boletín de la sociedad de pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León*, 52, 33-36. Recuperado de https://www.sccalp.org/documents/0000/1839/BolPediatr2012_52_33_36.pdf

Secretaria de salud (2016). *Deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. Tamizaje, diagnóstico y tratamiento. 1 º, 2º y 3er nivel de atención*. Distrito Metropolitano, México: Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud (CENETEC). Recuperado de: <http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/IMSS-247-16-Deficiencia-glucosa-6-fostato/247GER.pdf>

Spencer, L., Gómez, A., y Collovini, E. (2016). Mecanismos de invasión del esporozoíto y merozoíto de Plasmodium. *Bionatura*, 1(2), 89-94. Recuperado de <http://revistabionatura.com/files/Mecanismos-de-invasion-del-esporozoito-y-merozoito.pdf>

Vásquez, A, y Tobón, A. (2012). Mecanismos de patogenia en la malaria por Plasmodium falciparum. *Revista Biomédica*, 32(Supl.):106-20. Recuperado de <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/447/872>

World Health Organization (2016). *World Malaria Report*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/252038/9789241511711-eng.pdf;jsessionid=DDC3D354B9567DB0D7D43B710C2EDC1F?sequence=1>

World Health Organization (2018). *Paludismo*. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>

World Health Working Group. (1989). Glucose-6-phosphate dehydrogenasa deficiency. *Bull World Health Organ*, 67 (6), 601-611. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2491315/pdf/bullwho00064-0002.pdf>

Zapata, C, y Blair, S. (2003). Malaria cerebral. *IATREIA*, 16(3), 202-216. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v16n3/v16n3a2.pdf>

Zúñiga, M. y Fontecha, G. (2015). Impacto de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en individuos de zonas endémicas de malaria. *Portal de ciencias*, (8), 45-58. Recuperado de <https://www.lamjol.info/index.php/PC/article/download/2158/1951>

13. Anexos

Anexo 1. Bosquejo

1. Introducción.
2. Deficiencia de Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa.
 - 2.1. Generalidades.
 - 2.2. Bioquímica
 - 2.3. Genética
 - 2.4. Fisiopatología
 - 2.5. Diagnostico
 - 2.6. Epidemiologia
3. *Plasmodium spp*
 - 3.1. Generalidades
 - 3.2. Ciclo Biológico y Estructuras
 - 3.3. Mecanismos patogénicos
 - 3.4. Mecanismos de respuesta
 - 3.5. Epidemiologia
 - 3.6. Métodos diagnósticos
4. Método de reducción de azul de metileno
 - 4.1. Generalidades
 - 4.2. Principio
 - 4.3. Interpretación
 - 4.4. Características del método

Anexo 2. Cronograma de actividades

N°	Actividad	Lugar y fecha	Responsable	Observación
1	Selección y delimitación del tema.	Centro de documentación POLISAL 04/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
2	Elaboración de los objetivos y justificación.	Biblioteca UNAN 06/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
3	Planteamiento del problema y sistematización de problema.	Biblioteca UNAN 09/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
4	Revisión de las actividades anteriores.	Oficina de docentes POLISAL 10/09/2019	Msc. María Soledad Mendoza	
5	Corrección de actividades anteriores	Biblioteca UNAN 12/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
6	Revisión de actividades anteriores	CNDR 13/09/2019	Msc. Linda Saballos Morales	
7	Corrección de actividades anteriores	Biblioteca UNAN 14/09/2019 - 16/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
8	Elaboración de la introducción y antecedentes.	Biblioteca UNAN 17/09/2019 - 19/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	

9	Elaboración de diseño metodológico	Biblioteca UNAN 18/09/2019 – 21/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
10	Revisión de actividades anteriores	Oficina de docentes POLISAL 23/09/2019	Msc. María Soledad Mendoza	
11	Corrección de actividades anteriores	Biblioteca UNAN 24/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
12	Revisión de actividades anteriores	CNDR 24/09/2019	Msc. Linda Saballos Morales	
13	Correcciones de actividades anteriores	Biblioteca UNAN 25/09/2019 - 26/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
14	Elaboración de Operacionalización de variables e instrumentos de recolección de datos	Biblioteca UNAN 27/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
15	Revisión de actividades anteriores	Oficina de docentes POLISAL 30/09/2019	Msc. María Soledad Mendoza	
16	Corrección de actividades anteriores	Aula 5608 POLISAL 30/09/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
17	Revisión de actividades anteriores	CNDR 30/09/2019	Msc. Linda Saballos Morales	
18	Elaboración de Marco teórico	Biblioteca	Br. Fernando N. Cuendis	

		UNAN 01/10/2019 - 08/10/2019	Br. Belén A. Castillo	
19	Revisión de las actividades anteriores	Aula 5612 UNAN 09/10/2019	Msc. María Soledad Mendoza	
20	Elaboración de instrumentos de recolección de datos	CNDR 11/10/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	
21	Revisión de instrumentos	UNAN 16/10/2019	Msc. María Soledad Mendoza	
22	Muestreo y recolección de datos	Puerto cabezas 16/11/2019 – 24/11/2019	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo Msc. Linda Saballos Morales	
23	Análisis de datos	CNDR- MINS UNAN- Managua Enero - febrero 2020	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo Msc. Linda Saballos Morales Msc. María Soledad Mendoza	
24	Entrega de informe Final	Departamento de Bioanálisis Clínico 23/11/2020	Br. Fernando N. Cuendis Br. Belén A. Castillo	

Anexo 3.



Presupuesto Monografía sobre deficiencia de G6PD y su relación con la malaria

Cod	Detalle del articulo	Unidad de medida	Cantidad	C. unitario	C. total	Observaciones
TA	Tubo de 13 x 75 mm con anticoagulante ácido etilendiamino tetracetico potásico 3, EDTA K3.	Caja (100 unid)	9	435.5	3919.5	
TP	Tubo de ensayo borosilicato transparente con tapa 13 x 75 mm.	Caja (250 unid)	4	502.5	2010	
PP	Puntas para pipetas automáticas de 200 µl a 1000 µl.	Caja (250 unid)	4	1105.5	4,422	
PP	Puntas para pipetas automáticas de 1000 µl a 5000 µl.	Unidad	200	25	5000	
AV	Agujas vacutainer	Caja (100 unid)	9	385.25	3467.25	
A	Algodón	Libra	2	201	402	
LPO	Laminas porta objetos	Caja	6	230	1380	
G	Giemsa	Frasco 100 ml	1	250	250	
M	Metanol	Litro	1	1011.5	1011.5	
TC	Tubos capilares	Paquete	3	499.12	1497.36	
PA	Papel absorbente	Unidad	3	45	135	
PG	Papelería en general	General	-	-	1000	
TR	Termo refrigerante	Unidad	1	3400	3400	
VA	Venditas adhesivas redondas	Caja	9	38	342	
GL	Guantes de látex talla S y M	Caja	6	123	738	
BA	Alcohol al 70%	Galón	1	513	513	
CV	Camisas para vacutainer	Bolsa	3	1000	3000	

DDC	Descarte de Desechos cortopunzantes	Botella	4	144.40	577.6	
T	Torniquete	Unidad	4	10	40	
RT	Solución de reserva de Azul de metileno	Frasco (100 ml)	1	281.4	281.4	
GA	Glucosa Anhidra	Kilogramo	1	1239.5	1239.5	
NaCl	NaCl	Frasco (500 gr)	1	703	703	
R1	Na ₂ HPO ₄	Frasco (500 gr)	1	1206	1206	
R2	KH ₂ PO ₄	Frasco (500 gr)	1	1005	1005	
SS	Solución salina isotónica 0,9 %.	Botella (1 litro)	53	46	2438	
BPC	Boleto ida y regreso a “Puerto Cabezas”	Boleto	2	1200	2400	
BPC	Boleto del personal del CNDR	Boleto	1	6120	6120	
CCI	Copias de Consentimientos informados	Hoja	800	0.50	400	
CHR	Copias de hojas de resultados	Hoja	800	0.50	400	
CE	Copias de encuestas	Hoja	800	0.50	400	
EPC	Estancia en Puerto Cabezas	Días	7	900	6300	
EPC	Estancia en Puerto Cabezas personal CNDR	Días	5	450	2250	
TIPC	Transporte interno puerto cabezas	Viaje	60	20	1200	
ADPC	Desayuno	Plato	19	90	1710	
AAPC	Almuerzo	Plato	19	140	2660	
ACPC	Cena	Plato	19	100	1900	
GV	Gastos varios	Unidad	-	10,000	10,000	
Imp	5 % de Imprevistos	-	-	1714.5	1714.5	
Total					77,432.61	
Nota: todos los precios y totales están reflejados en córdobas.						

Anexo 4.



“Frecuencia de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y su relación con la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto cabezas en el periodo de octubre 2019 a marzo de 2020”

Consentimiento informado

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es el principal defecto enzimático a nivel mundial, la función de esta radica en la protección del eritrocito contra el daño oxidativo, la deficiencia de G6PD ocasiona una anemia hemolítica. Los estudios epidemiológicos hechos previamente en otros países apuntan a una relación entre la deficiencia enzimática y la malaria, debido a la íntima correspondencia de prevalencias.

En nicaragua no se han hecho estudios sobre la incidencia de la deficiencia de G6PD, por tanto, es necesario ejecutar modelos investigativos que permitan conocer esta deficiencia enzimática, de manera que el Ministerio de salud elabore una respuesta adecuada a esta problemática.

Objetivos

1. Describir las características sociodemográficas y antecedentes clínicos de los pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas.
2. Determinar la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa aplicando el método de reducción de azul de metileno en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas.

3. Establecer la relación entre la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la malaria en pobladores de la ciudad de Bilwi del municipio de Puerto Cabezas.

Solicitamos su apoyo proporcionándonos datos personales y clínicos que serán de valiosa importancia en el estudio, además, una muestra de sangre obtenida directamente de la vena radial o cubital según convenga hacia un tubo de 13 x 75 mm con anticoagulante EDTA K3. La toma de la muestra de sangre puede conllevar a posibles riesgos como hematoma, mareo leve y disminución de la presión arterial. En caso de que se presente una posible complicación se le dará inmediatamente la debida atención médica que requiera.

Los resultados de la investigación le permitirán conocer si posee la deficiencia de G6PD y se le explicará las posibles complicaciones y manejo clínico de su deficiencia en caso de que la posea, asimismo contribuirá al desarrollo académico, científico e investigativo en las diferentes áreas de la salud, además de proveer un aporte en los mapas epidemiológicos a nivel nacional e internacional.

Siempre al margen ético que nos corresponde, expresamos que la información brindada no comprometerá de ninguna manera a su persona, esta se manejará con suma confidencialidad, el artículo de investigación se publicará única y exclusivamente para fines académicos, científicos, investigativos y epidemiológicos en pro del mejoramiento de la salud pública de la población nicaragüense.

Considerando lo anterior:

Yo, _____, he entendido las condiciones y los objetivos de la investigación, comprendo y estoy de acuerdo con la información que me han presentado los investigadores quienes lo han hecho en un lenguaje claro

y sencillo, y me han dado la oportunidad de preguntar y resolver las dudas a satisfacción, por tanto, estoy de acuerdo con los alcances que conlleva el procedimiento que aquí autorizo. En tales condiciones, consiento en proporcionar la muestra y los datos necesarios.

Firma

o

Huella digital

Investigadores:

1. Fernando Noel Cuendis Mairena / UNAN-MANAGUA _____
2. Belén Anahí Castillo Zamora / UNAN-MANAGUA _____

!!!Para más información!!!

Contactarnos a los números telefónicos: (+505) 8661-8175 / (+505) 5867-5907

Correo: fernando.cuendis16071544@estu.unan.edu.ni / belencastillozamora@gmail.com

Anexo 5.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

**INSTITUTO POLITECNICO DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
IPS-UNAN-MANAGUA**

La presente encuesta esta destinada a recopilar información general sobre las características sociodemograficas y antecedentes clinicos que sean de relevancia en la investigacion titulada “Deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y su relacion con malaria en pobladores del municipio de Puerto Cabezas en el periodo comprendido de octubre 2019 a marzo 2020”.

I. Datos generales

Nombre y apellidos: _____

Barrio o localidad: _____

Municipio: Puerto Cabezas

II. Características sociodemográficas

Edad: _____

Sexo: Masculino femenino

Procedencia: Rural Urbano

Etnia:

Cacaopera-Matagalpa		Mestizo Costa Caribe		Chorotega-Nahua-Mange	
Ulwa		Nahoa-Nicarao		Mayagna	
Creole		Xiu-Sutiava		Mestizo	
Garifuna		Miskitu		Rama	

III. Antecedentes clínicos y familiares

1. Alguna vez se ha diagnosticado/a con:

Malaria: SI NO

2. ¿Cuál especie?

P. falciparum *P. vivax*

3. Ha recibido tratamiento antimalárico:

SI NO Tiempo: 3 días 7 días

4. ¿Cuántas veces se ha diagnosticado/a con malaria?

1 2-3 4-5 > 6

5. ¿Ha padecido malaria algún familiar?

SI NO

6. ¿Cuál es el vínculo familiar?

Mamá Papá Hermano/a Abuelo/a

Anexo 6. Procedimiento de elaboración de reactivo de trabajo (Sáenz, 2016).

Tampón de fosfatos 0,066 M (M/15) pH 7.4.

Na ₂ HPO ₄ 0,066 M	9,46 g/l
KH ₂ PO ₄ 0,066 M	9,08 g/l
Agregar solución de KH ₂ PO ₄ a 500 ml de Na ₂ HPO ₄ hasta obtener un pH de 7,4.	

Solución salina-glucosa-tampón de fosfatos

Glucosa anhidra	1.0 g
NaCl	4.25 g
Tampón de fosfatos 0,066 M	500 ml

Solución de reserva de azul de metileno

Azul de metileno	0,3
Agua destilada c.s.p. p	100 ml

Solución de trabajo de azul de metileno

Solución de reserva de azul de metileno	1,5 ml
Solución salina-glucosa-tampón de fosfatos c.s.p. p	500 ml



MINISTERIO DE SALUD
LABORATORIO REGIONAL SILAIS BILWI
POLISAL, UNAN-MANAGUA

TAMIZAJE DE G6PD

Nombres y Apellidos: _____ **Fecha:** _____

Edad: _____ **Sexo:** _____ **Código de muestra:** _____

PARÁMETRO

RESULTADO

VALOR NORMAL

G6PD¹

Negativo

Firma del laboratorista

¹ Método de reducción de azul de metileno

Anexo 8. Carta de aprobación de criterios éticos del departamento de Bioanálisis clínico IPS UNAN/Managua.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA



DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO

“2019: AÑO DE LA RECONCILIACIÓN”

Managua, 22 de octubre del 2019.

Br. Belén Anahí Castillo
Br. Fernando Noel Cuendis Mairena
Sus Manos

Estimados Alumnos:
Reciban cordial saludo de mi parte.

Sirva la presente para expresarle que después de haber revisado su protocolo, se encontró que cumple con los requisitos éticos para realizar su investigación y trabajar con sujetos humanos (adultos y niños).

Tema: “Deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenas y su relación con malaria en pobladores del municipio de Puerto Cabezas en el periodo comprendido de octubre-2019 a marzo 2020”.

Sin más que agregar, me suscribo.

Respetuosamente,

Msc. Ligia Lorena Ortega Valdés
Directora Dpto. Bioanálisis Clínico
POLISAL-UNAN-Managua



CC: Archivo
LLOV/mihm

¡A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD!

Rotonda Universitaria Rigoberto López Pérez, 150 Metros al Este, Código Postal: 663 - Managua, Nicaragua

Teléfonos 505 22770267 | 22770269

Correo: ips@unan.edu.ni | www.unan.edu.ni

Figura 1. Countries endemic for malaria in 2000 and 2016 (WHO, 2016).

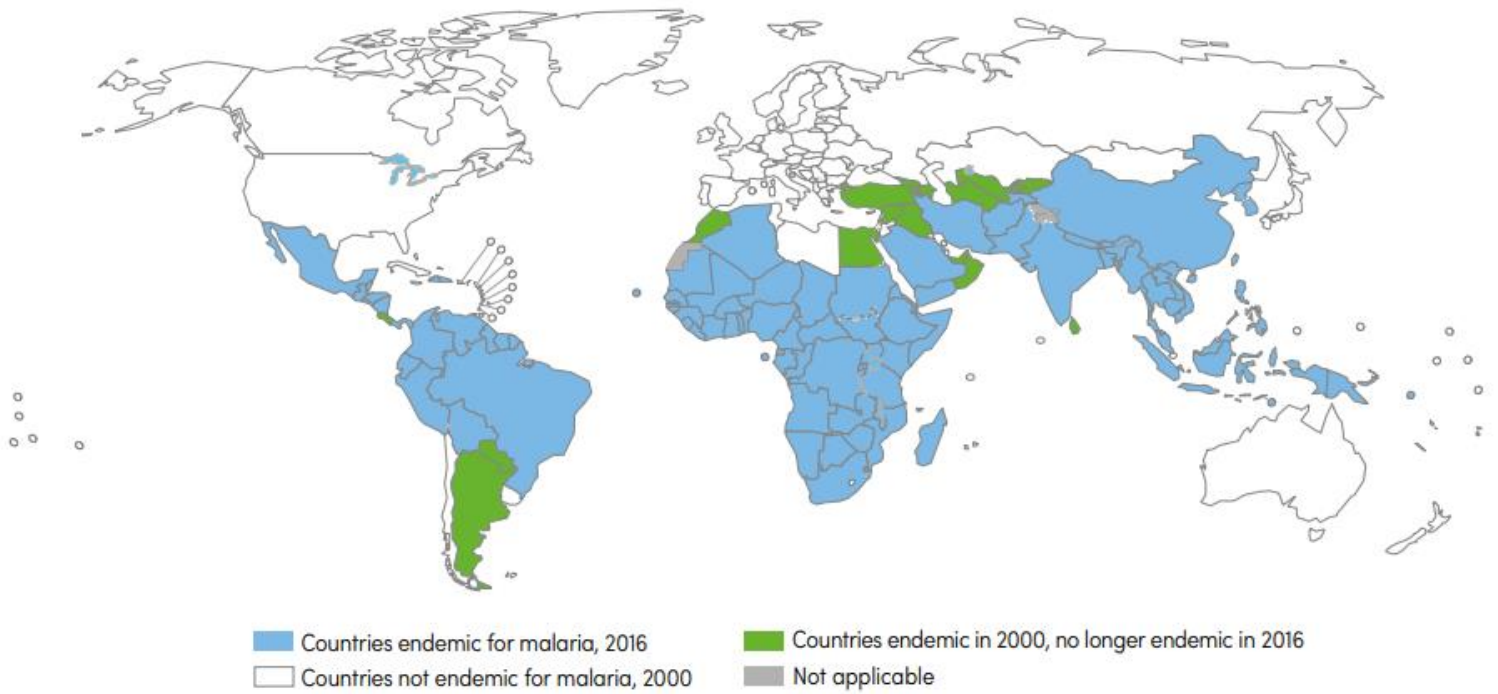


Figura 2. Frecuencia alélica precedida para G6PD-d (malaria atlas project - map)

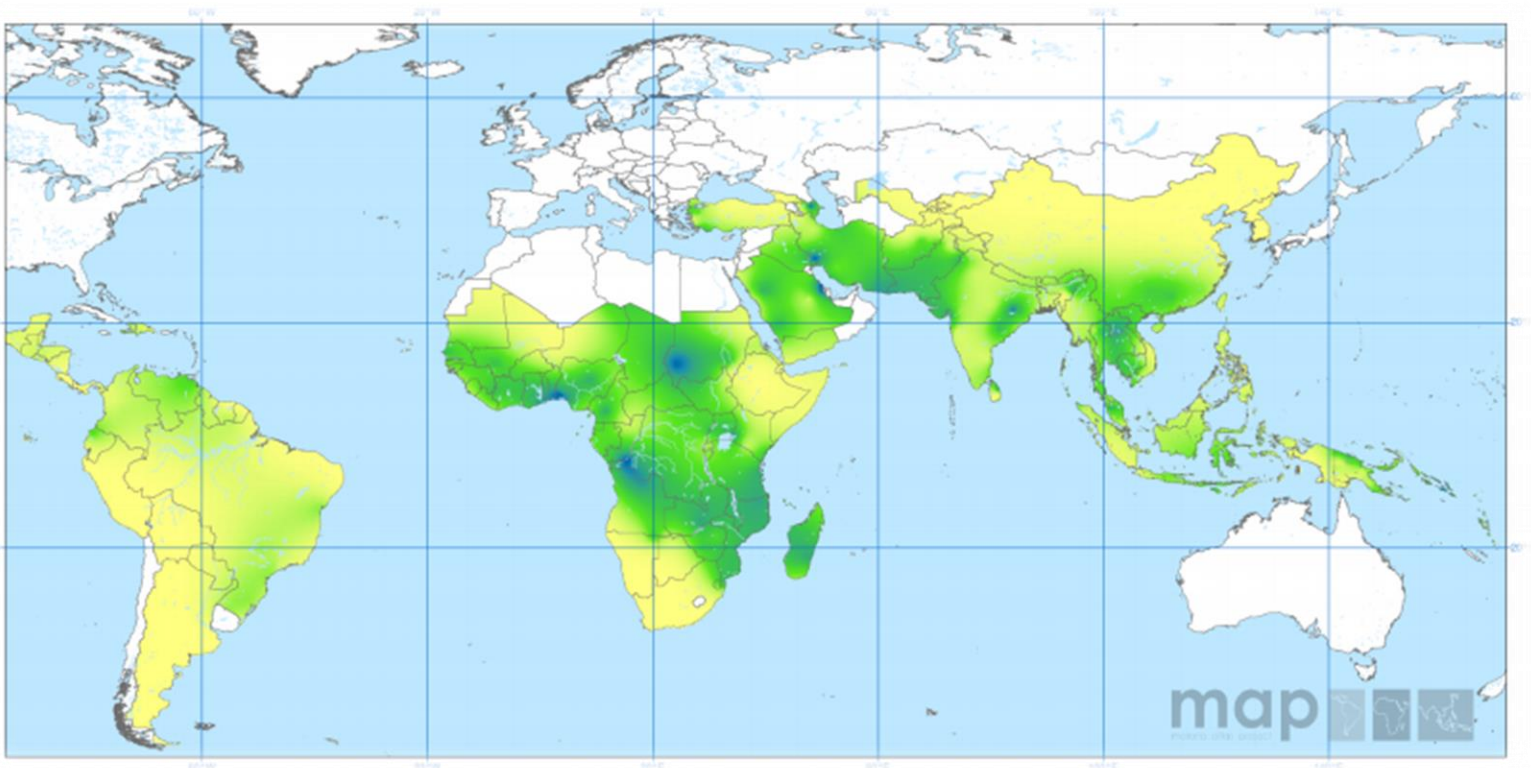
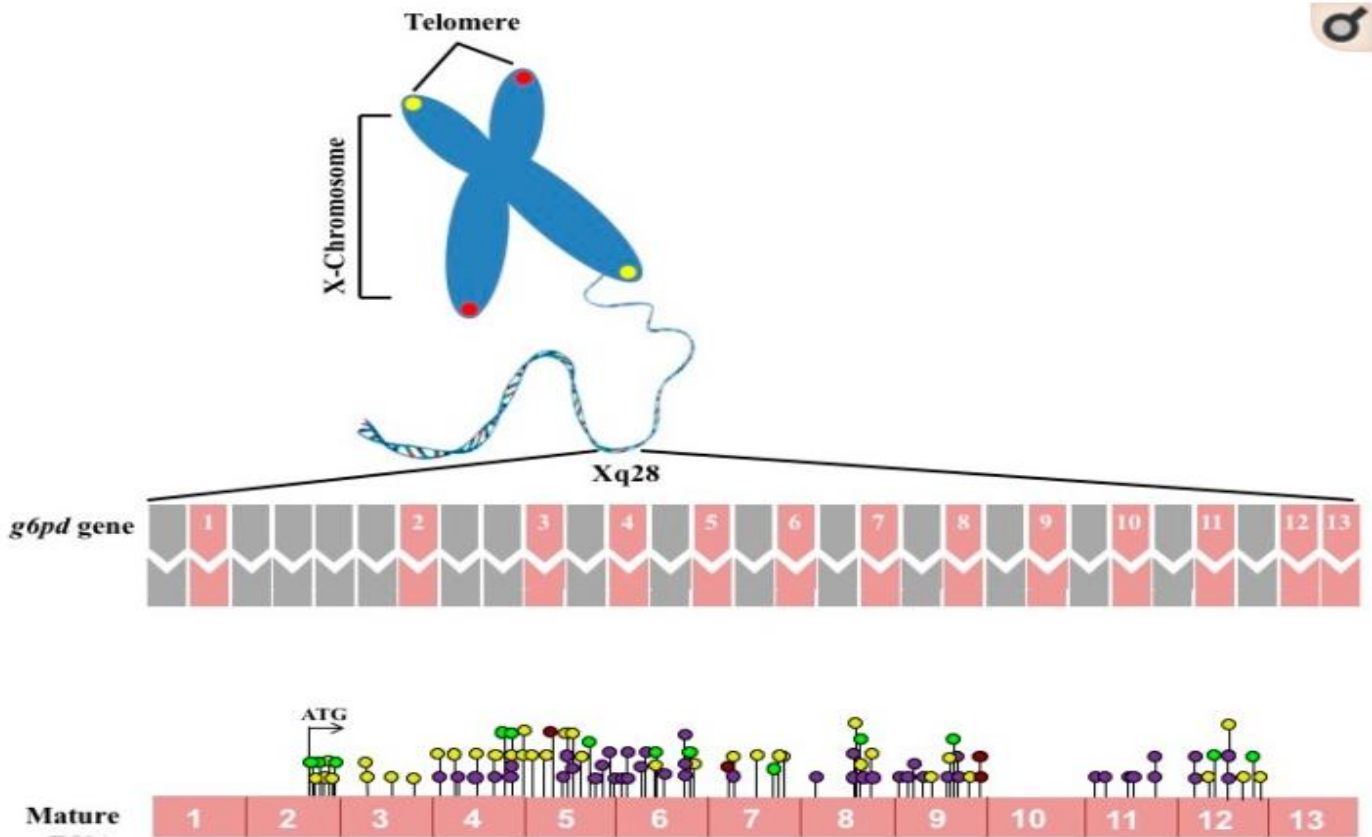


Figura 3. Resumen esquemático del cromosoma X y distribución de mutaciones en la secuencia de codificación del gen *g6pd*.



La **parte superior** muestra los intrones y exones que se muestran en cuadros de color **gris** y **rosa**, respectivamente. Los números (1-13) indican exones del gen *g6pd* humano. En la **parte inferior**, el ARNm está esquematizado y se muestran todas las sustituciones de nucleótidos individuales (variantes sin sentido). Los círculos **rojos** son mutaciones asociadas con anemia hemolítica no esferocítica crónica (clase I). Los círculos **morados** mostraron las mutaciones de clase II. Las mutaciones de clase III se muestran en círculos **amarillos**. Las mutaciones de clase IV se muestran en **marrón**. Los círculos y las mutaciones de clase informadas sin nombre se muestran en círculos de color **verde brillante**.

Tabla 1. Genotipos of G6PD (Ciesla, 2007).

Table 7.2 • Genotypes of G6PD

GdB+	Normal genotypes
GdA+	Normal genotype but mutated gene
GdA-	Abnormal genotype in 11% of American black males
Gd Med	Abnormal genotype seen in whites, those of Mediterranean origin, Kurdish Jews
Gd Canton	Abnormal genotype seen in Thailand, Vietnam, other Asian populations

Tabla 2. Clases de deficiencia de G6PD

Clases de deficiencia de G6PD	
Clase I	Deficiencia severa, asociado a anemia hemolítica crónica no esferocítica
Clase II	Deficiencia severa (actividad residual 1-10%), asociado con anemia aguda
Clase III	Deficiencia moderada (Actividad residual 10-60%)
Clase IV	Actividad Normal (60-150%)
Clase V	Actividad incrementada (>150%)

Fuente: Panorama de la deficiencia de Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa en México; *Revista Iberoamericana de Ciencias, 1(2): 31-40.*

Figura 4. Ciclo de vida de *Plasmodium* spp

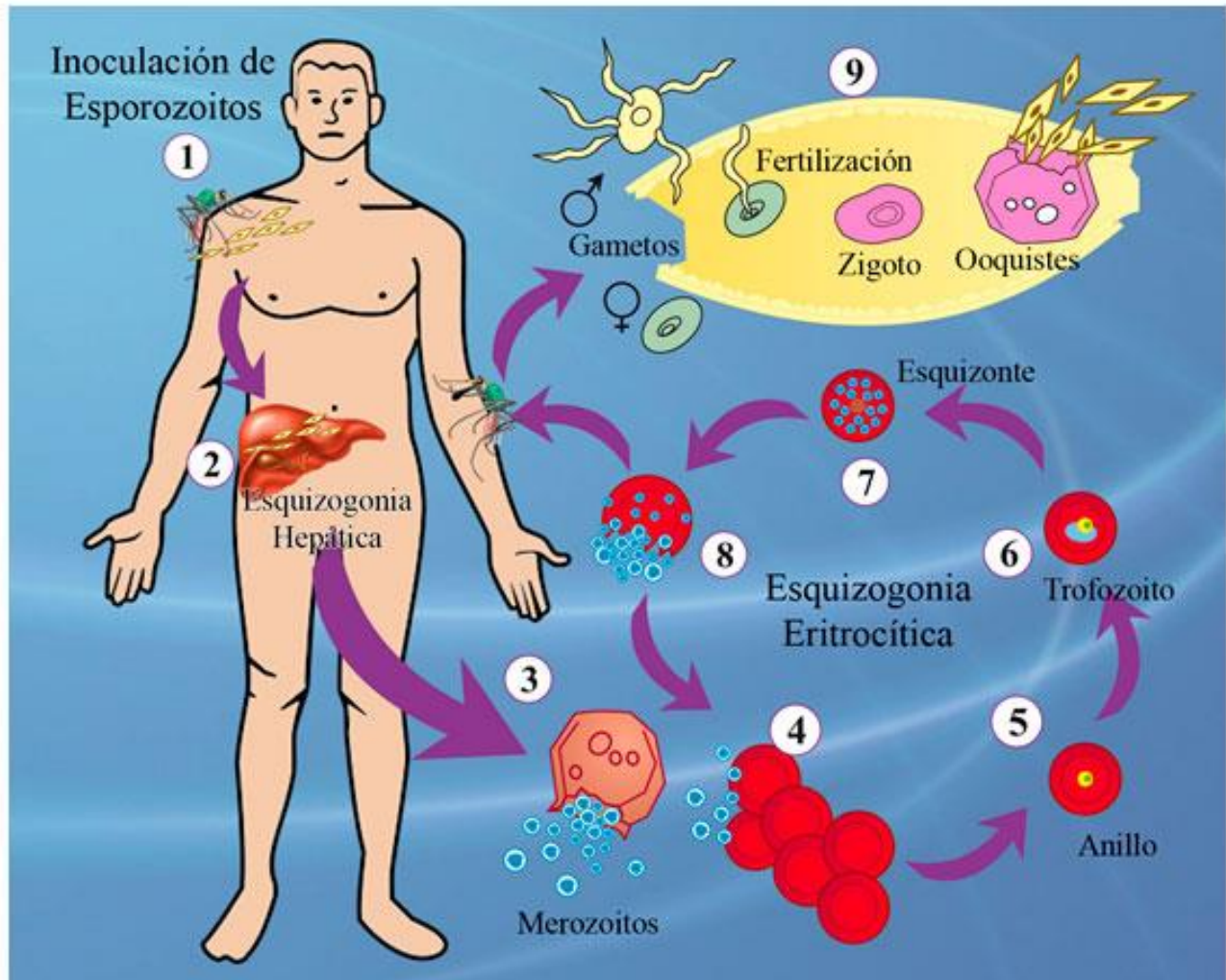


Fig. 1. Ciclo de vida de *Plasmodium*.

Los esporozoítos son inoculados por la hembra del mosquito *Anopheles*, (1) y viajan por el torrente sanguíneo hasta invadir a los hepatocitos (2). Aproximadamente a la semana, el parásito se ha multiplicado intracelularmente (esquizogonia hepática) y se liberan los merozoítos de los infectados hepatocitos para invadir a los eritrocitos (3). El merozoíto invade al eritrocito donde se multiplica en su interior (4) (esquizogonia eritrocítica), pasando por diferentes formas llamadas: anillo (5), trofozoito (6), esquizonte inmaduro (7) y esquizonte maduro (8). Este ciclo eritrocítico dura 48 horas liberándose al torrente sanguíneo de 16 a 32 nuevos merozoítos dependiendo de la especie. Los gametocitos se desarrollan dentro de los eritrocitos y junto con los merozoítos son liberados y estos son ingeridos por el mosquito donde ocurre la fertilización en el tubo digestivo del mismo con formación del cigoto (9). Este se divide formando un ooquiste, de donde se liberan los esporozoíto que invaden las glándulas salivares del vector.

Figura 5. Estructuras del complejo apical del esporozoíto y merozoíto

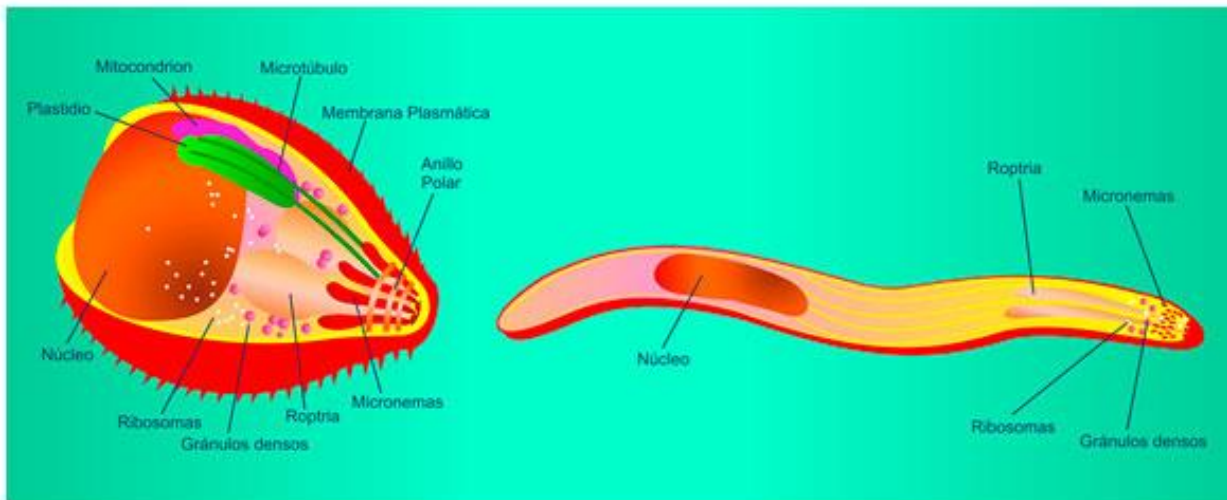
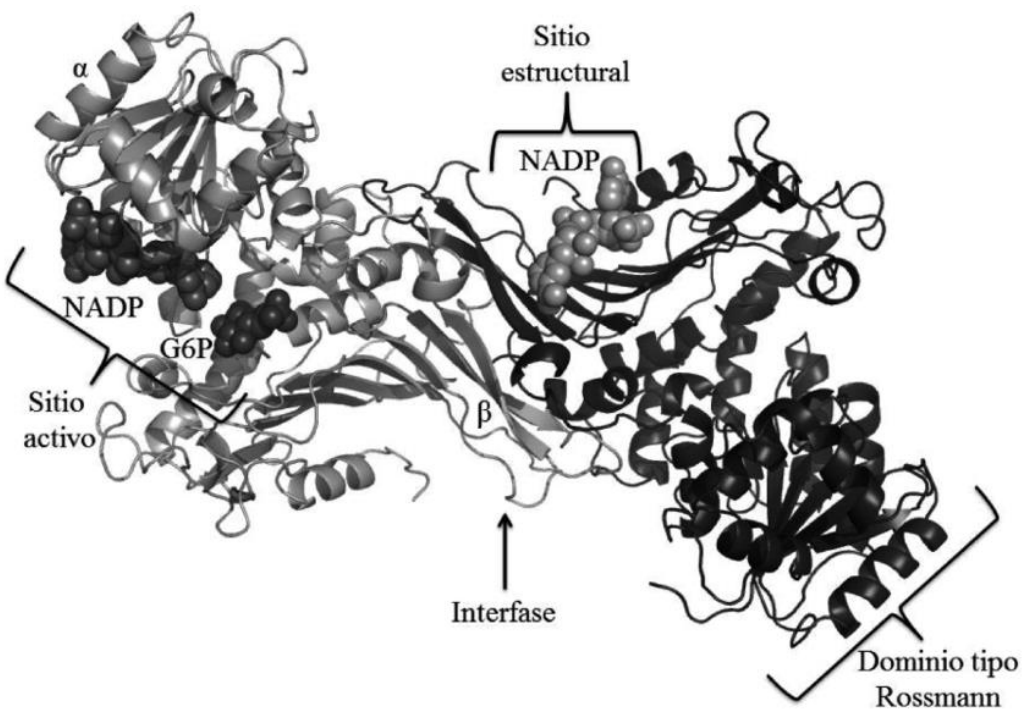
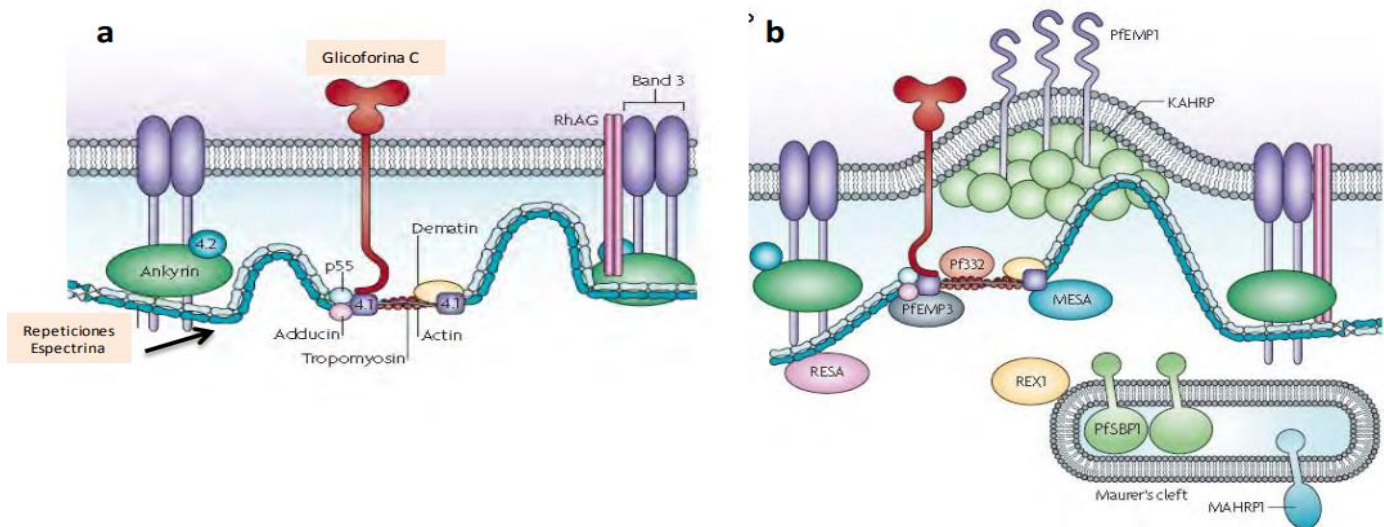


Figura 6. Estructura tridimensional del dímero de G6PD humana.



Nota: En la figura se observa la estructura del dominio del sitio activo y la posición de la molécula de NADP.

Figura 7. Citoesqueleto de membrana de eritrocitos humanos no-infectados e infectados por *P. falciparum*.



A. En los eritrocitos no infectados los heterodímeros de espectrina conforman unidades de repetición enlazadas por bisagras flexibles que les permiten desplegar en respuesta a tensiones de deformación. Las colas de los dímeros de espectrina son estabilizados por complejos de unión que comprende oligómeros de actina estabilizados por proteína 4.1R y otras moléculas. Destacan las interacciones verticales que conectan de manera adecuada el esqueleto subyacente a la membrana. Estas incluyen el enlace banda 3-ankyrina-espectrina y el complejo ternario entre la proteína 4.1R, p55 y glicoforina C. **B.** En los eritrocitos infectados, durante el estado de anillo, el antígeno RESA se asocia con la espectrina y estabiliza el esqueleto de membrana. Cuando se alcanzan las formas maduras, moléculas de KAHRP se autoasocian para formar estructuras cónicas que interactúan con la espectrina. Los antígenos Pf332 y MESA se enlazan a los complejos de unión mientras que PfEMP-3 se une a la espectrina comprometiendo aún más la deformabilidad de la membrana del eritrocito. La proteína mediadora de citoadherencia, PfEMP1 se concentra en la región de los knobs por interacción de su dominio citoplasmático con KAHRP. El dominio amino-terminal de PfEMP1 es presentado a la superficie extracelular desde donde puede interactuar con receptores de la célula huésped para mediar la citoadherencia. Proteínas del parásito asociadas a la membrana de las hendiduras de Maurer están involucradas en el tráfico de PfEMP1. La formación y arquitectura de esta organela es controlada por algunas de sus proteínas residentes como por ejemplo REX1, MAHRP1 y PfSBP1.

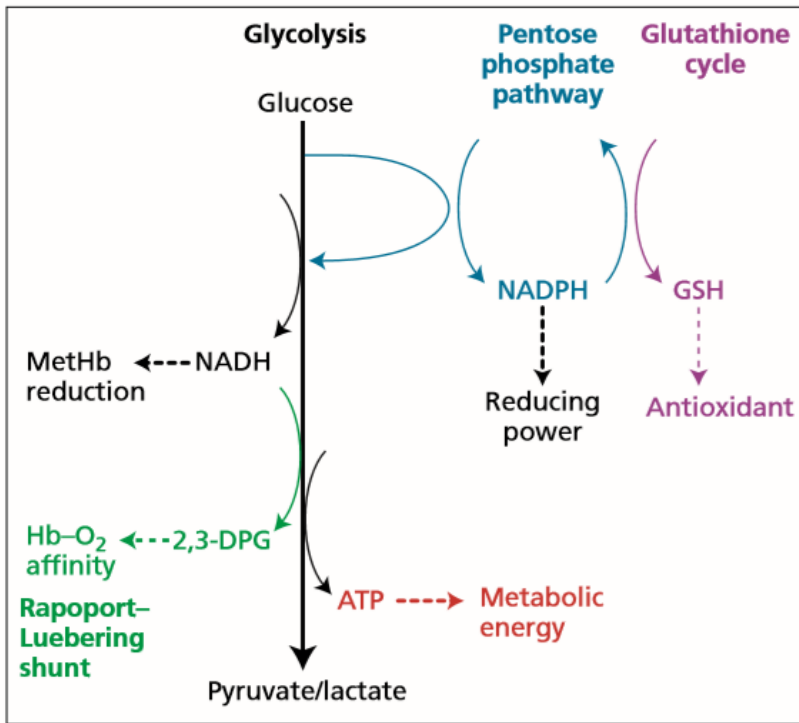
Tabla 3. Efectos del factor de necrosis tumoral en la malaria.

Cuadro 3. Efectos del FNTo y su relación con la malaria

Lugar	Acción	Relación con la malaria
Endotelio	Aumenta la expresión de ICAM-1 y VCAM-1. Induce actividad procoagulante. Altera la integridad de la monocapa.	Incrementa el secuestro de glóbulos rojos parasitados. Contribuye a las alteraciones de la coagulación. Incremento de la permeabilidad vascular, alteración de la barrera hematoencefálica
Endotelio y macrófagos	Producción de IL-1 e IL6 Producción de quimiocinas	Aumentadas en pacientes con malaria, amplifican la inflamación Aumentadas en pacientes con malaria, reducen leucocitos
Sistema nervioso central	Fiebre: aumenta producción de prostaglandinas en el hipotálamo. Somnolencia y anorexia	Principal manifestación clínica de la enfermedad Síntomas de la enfermedad
Hígado	Producción de proteínas de fase aguda Inhibe las enzimas de la gluconeogénesis, alterando la eliminación del lactato. Reduce depósitos de glucógeno por incrementar la glucogenólisis.	Aumentadas en malaria, participan en la inflamación. Contribución a la hipoglucemia Favorece la acidosis metabólica. Contribución a la hipoglucemia
Médula ósea	Suprime la proliferación de los progenitores e induce la apoptosis en estas células.	Contribuyen a la anemia palúdica.
Pinón	Activación endotelial, infiltración de células inflamatorias, daño de células tubulares	Daño y disfunción renal
Pulmón	Activación endotelial, infiltración de células inflamatorias, daño alveolar	Falla respiratoria
Otros	Incrementa el consumo de glucosa en diferentes tejidos. Induce la producción de NO, que puede inhibir la respiración mitocondrial. Inducción de apoptosis en diferentes células	Contribuye a la hipoglucemia palúdica. Contribuye a la acidosis metabólica. Contribuye al daño celular inducido por el parásito.

Tabla tomada de: Vásquez, A, y Tobón, A. (2012). Mecanismos de patogenia en la malaria por *Plasmodium falciparum*. *Revista Biomedica*, 32(Supl.):106-20.

Figura 8. Principales vías de producción de energía en las células rojas maduras.



Nota: La vía glucolítica proporciona energía en forma de ATP. En condiciones normales, MetHb se reduce por la reacción acoplada con NADH+. La derivación Rapoport-Luebering proporciona 2,3-DPG para el control de la afinidad de oxígeno Hb. La potencia reductora es producida por la vía de fosfato de pentosa y está vinculada a reacciones redox a través del ciclo de glutatión.

Figura 9. La vía glucolítica y sus interacciones con la vía del fosfato de pentosa y la derivación Rapoport-Luebering.

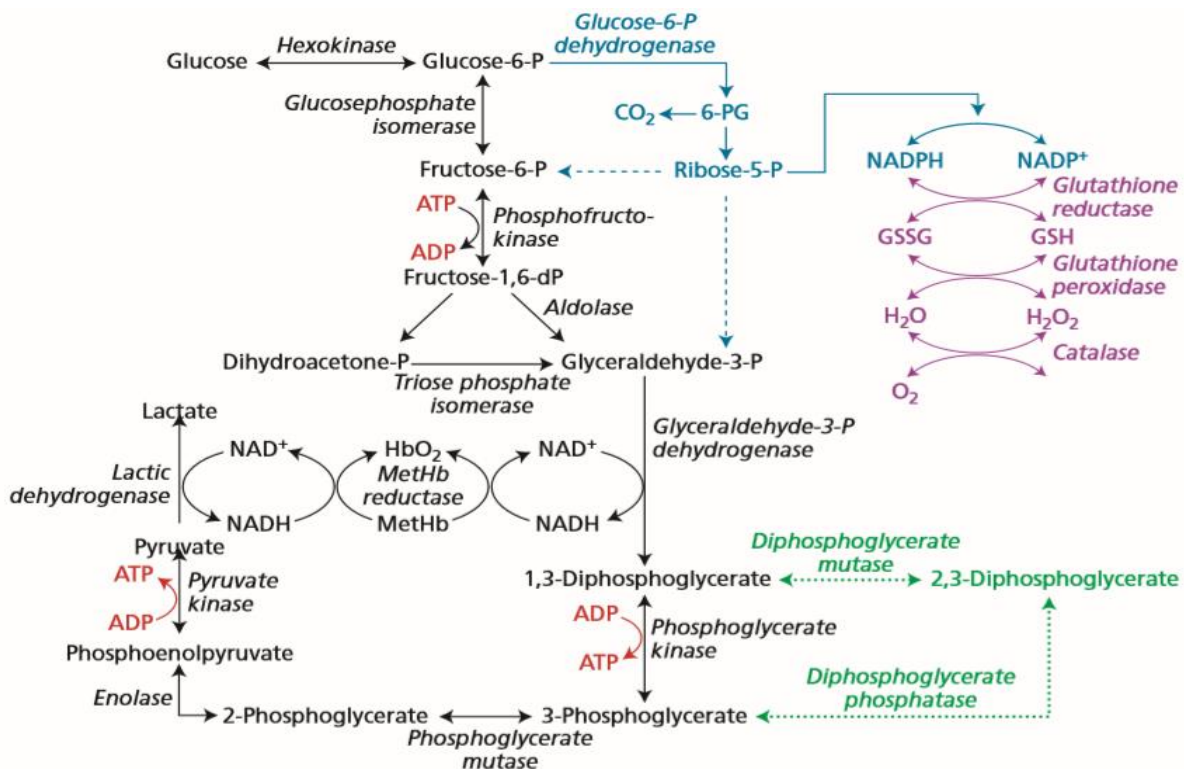
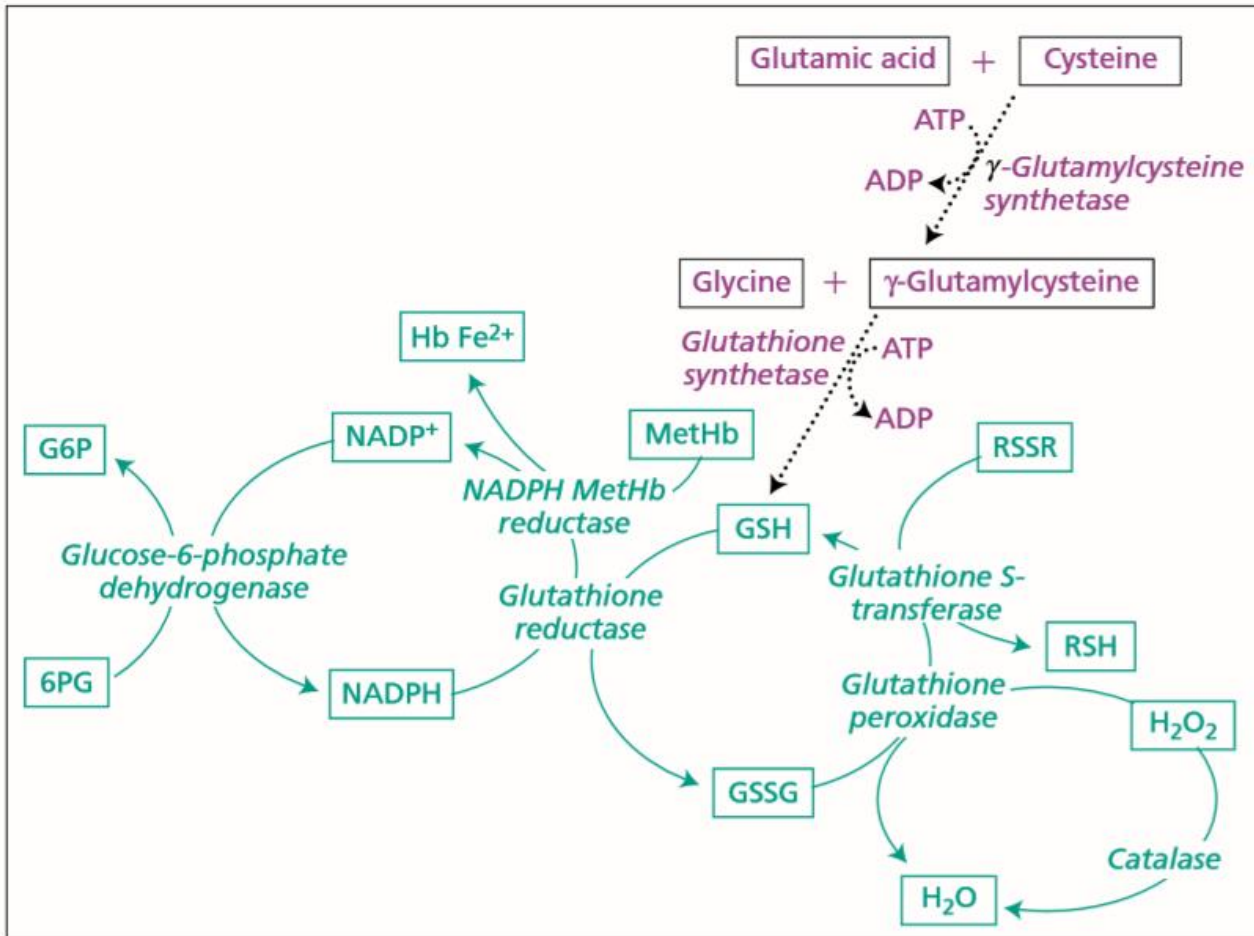


Figura 10. El ciclo de glutatión y las vías sintéticas.



Nota: GSH se sintetiza en dos pasos vinculados. El control del redox es ejercido por el ciclo de glutatión vinculado a la NADPH de la vía del fosfato de pentosa por glutatión reductasa.

Tabla 4. Frecuencia del sexo

	N	%
Masculino	87	36,7%
Femenino	150	63,3%

Tabla 5. Frecuencia según etnia

	N	%
Miskitu	229	96,6%
Creole	1	0,4%
Mestizo	7	3,0%

Tabla 6. Frecuencia de pobladores según edad

	N	%
1 a 5	9	3,8%
6 a 10	25	10,5%
11 a 15	42	17,7%
16 a 20	34	14,3%
21 a 30	60	25,3%
31 a 40	30	12,7%
41 a 50	15	6,3%
51 a 60	16	6,8%
61 a más	6	2,5%

Tabla 7. Frecuencia de infección por malaria en pobladores

	N	%
Si	161	67,9%
No	76	32,1%

Tabla 8. Frecuencia de pobladores con antecedentes de familiares con malaria

	N	%
Si	164	69,2%
No	73	30,8%

Tabla 9. Frecuencia de la deficiencia

	N	%
Positivo	126	53,2%
Negativo	111	46,8%
Total	237	100%

Tabla 10. Frecuencia de la deficiencia según sexo

		Deficiencia de G6PD				Total	
		Positivo		Negativo		N	%
		N	%	N	%		
Sexo	Masculino	42	33,3%	45	40,5%	87	36,7%
	Femenino	84	66,7%	66	59,5%	150	63,3%
Total		126	100,0%	111	100,0%	237	100,0%

Tabla 11. Coeficiente de correlación de Pearson entre la relación de la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y el sexo.

		Sexo	Deficiencia de G6PD
Sexo	Correlación de Pearson	1	-,075
	Sig. (bilateral)		,253
	N	237	237
Deficiencia de G6PD	Correlación de Pearson	-,075	1
	Sig. (bilateral)	,253	
	N	237	237

Tabla 12. Coeficiente de correlación de Phi y V de Cramer de la relación entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y el sexo.

		Valor	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Phi	-,075	,253
	V de Cramer	-,075	,253
N de casos válidos		237	

Tabla 13. Frecuencia de la deficiencia de G6PD según edad.

		Deficiencia de G6PD				Total	
		Positivo		Negativo		N	%
		N	%	N	%		
Edad	1 a 5	3	2,4%	6	5,4%	9	3,8%
	6 a 10	12	9,5%	13	11,7%	25	10,5%
	11 a 15	19	15,1%	23	20,7%	42	17,7%
	16 a 20	22	17,5%	12	10,8%	34	14,3%
	21 a 30	36	28,6%	24	21,6%	60	25,3%
	31 a 40	13	10,3%	17	15,3%	30	12,7%
	41 a 50	6	4,8%	9	8,1%	15	6,3%
	51 a 60	11	8,7%	5	4,5%	16	6,8%
	61 a más	4	3,2%	2	1,8%	6	2,5%
Total		126	100,0%	111	100,0%	237	100,0%

Tabla 14. Coeficiente de correlación de Pearson entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria.

		Resultado azul de metileno	Conexión con malaria
Resultado azul de metileno	Correlación de Pearson	1	,222**
	Sig. (bilateral)		,001
	N	237	237
Conexión con malaria	Correlación de Pearson	,222**	1
	Sig. (bilateral)	,001	
	N	237	237
**. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).			

Tabla 15. Coeficiente de correlación de Phi y V de Cramer entre la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la malaria.

		Valor	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Phi	,222	,001
	V de Cramer	,222	,001
N de casos válidos		237	

Tabla 16. Deficiencia de G6PD en base a edad y sexo

Edad	Femenino		Masculino		Total	
	N	%	N	%	N	%
1 a 5	2	1.60%	1	0.80%	3	2.50%
6 a 10	6	4.80%	6	4.80%	12	10.00%
11 a 15	11	8.70%	8	6.35%	19	15.00%
16 a 20	15	11.90%	7	5.55%	22	17.00%
21 a 30	25	19.80%	11	8.70%	36	28.50%
31 a 40	12	9.50%	1	0.80%	13	10.00%
41 a 50	5	4.00%	1	0.80%	6	5.00%
51 a 60	7	5.55%	4	3.17%	11	9.00%
> a 61	1	0.80%	3	2.38%	4	3.00%
Total	84	66.67%	42	33.33%	126	100%