

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua

Centro de Investigaciones y Estudios de la Salud

CIES UNAN-MANAGUA

Doctorado en Ciencias de la Salud

2016-2018

Informe final de tesis para optar al Título de

Doctor en Ciencias de la Salud

Estudio de casos recurrentes de *Plasmodium vivax* e intervención con mosquiteros MTILD (LLIN) para la eliminación del paludismo en Nicaragua.

**ANALISIS DE CASOS RECURRENTE DE *P. vivax* en 2013-2018 Y
EVALUACIÓN DE LA DURABILIDAD Y USO DE MOSQUITEROS TRATADOS
CON INSECTICIDA 2016-2018**

Autora:

Aída Mercedes Soto Bravo

Máster en Salud Pública, Médica y Cirujana

Tutora:

PhD. Lilia González Cerón

Managua, Nicaragua, marzo 2024

Índice

Lista de cuadros	3
Lista de figuras	4
i. Resumen	
Capítulo I	5
Capítulo II	6
ii. Dedicatoria	7
iii. Agradecimientos	7
1. Introducción General	8
2. Marco teórico	9
3. Justificación.....	19
Capítulo I. Análisis de casos recurrentes por <i>P. vivax</i> en Nicaragua, 2013-2018	
I.4. Antecedentes	21
I.5. Planteamiento del problema: pregunta general	22
I. 6. Objetivos; O. general y O. específicos.....	23
I. 7. Hipótesis	23
I. 8. Diseño metodológico	23
I. 9. Resultados	27
I. 10. Discusión (Análisis de resultados)	45
I. 11. Conclusiones	52
Capítulo 2. Evaluación de la eficacia de mallas impregnadas con insecticida de larga duración MTILD (LLIN por sus siglas en inglés)	
II. 4. Antecedentes	54
II. 5. Planteamiento del problema: pregunta general	55
II. 6. Objetivos; O. general y O. específicos.....	55
II. 7. Hipótesis	55
II. 8. Diseño metodológico	56
II. 9. Resultados	61
II. 10. Discusión (Análisis de resultados)	73
II. 11. Conclusiones	76
12. Bibliografía.....	79
13. Recomendaciones	77
Anexos.....	81

Lista de cuadros

Cuadro 1.1. Registros de casos de paludismo de la fuente de datos secundaria de Nicaragua (2013–2018).....	28
Cuadro 1.2. Porcentaje de pacientes con infecciones recurrentes por <i>P. vivax</i> (con intervalo ≥ 25 – 450 días entre la infección primaria y la primera recurrencia) versus total de pacientes con infecciones recurrentes en Nicaragua y dos municipios de la RACCN durante el periodo 2013-2018.....	32
Cuadro 1.3. Comparación de los casos recurrentes de <i>P. vivax</i> con intervalo de tiempo, Nicaragua, 2013-2018.....	40
Cuadro 2.1. Detalles sobre espacios para dormir y uso de MTILD de campaña por punto de recolección, Waspam, Nicaragua.....	63
Cuadro 2.2. Activos socioeconómicos de propietarios de MILD por punto de recolección, Waspam, Nicaragua.....	64
Cuadro 2.3. Prácticas de cuidado de MILD por punto de tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua.....	65
Cuadro 2.4. Recuento de orificios y ubicación de la mayoría de los daños en 163 mosquiteros LLIN recolectados en todos los tiempos de evaluación, Waspam, Nicaragua.....	68
Cuadro 2.5. Condición física de MTILD por tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua.....	70
Cuadro 2.6. Modelo lineal final† de pHI, Waspam, Nicaragua.....	71

Lista de figuras

Figura A. Ciclo de vida de <i>Plasmodium</i>	16
Figura 1.1. Ubicación geográfica de Nicaragua y de los municipios más afectados por transmisión de paludismo.....	28
Figura 1.2. Relación entre el intervalo de tiempo (≥ 25 días) entre el caso primario (IP) y el primer caso recurrente de <i>P. vivax</i> (R1) con el sexo y la edad, en Nicaragua, 2013 - 2018.....	29
Figura 1.3. Pacientes con infecciones recurrentes por <i>P. vivax</i> en Nicaragua, categorizadas por el intervalo de tiempo, 2013 - 2018.....	30
Figura 1.4. Número de casos de <i>P. vivax</i> por año y la proporción de pacientes con infección recurrente homóloga (R1) en dos municipios del RACCN, Nicaragua, 2013-2018.....	34
Figura 1.5. Distribución temporal de casos recurrentes de <i>P. vivax</i> por paciente, en el municipio de Rosita, Nicaragua, 2013-2018.....	35
Figura 1.6. Distribución temporal del total de infecciones por <i>P. vivax</i> de 2013 a 2018 versus infecciones recurrentes R1 en Nicaragua, 2013-2018.....	37
Figura 1.7. Frecuencia de casos recurrentes de <i>P. vivax</i> con corto-mediano y largo intervalo de tiempo, en dos municipios de Nicaragua, 2013-2018.....	39
Figura 1.8. Parasitemia por <i>P. vivax</i> en infecciones sanguíneas de casos primarios y casos recurrentes en pacientes de Puerto Cabezas, RACCN, Nicaragua.....	42
Figura 1.9. Comparación de la densidad parasitaria de <i>P. vivax</i> entre casos sintomáticos y asintomáticos para el caso primario e infecciones recurrentes R1, R2 y R3.....	43
Figura 2.1. Diagrama de los mosquiteros impregnados con insecticidas de larga duración (LLIN) que muestra la posición de las muestras recolectadas para el procesamiento.....	59
Figura 2.2. Índice proporcional de agujeros (pHI) según tiempo de la recolección, Waspam, Nicaragua. La anchura de las figuras en forma de violín representa el número de mosquiteros con pHI similar.....	69
Figura 2.3. Mortalidad de mosquitos por bioensayo de conos por tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua.....	71
Figura 2.4 Resultados de las pruebas de campo de LLIN con cianopiretroides por tiempo de uso, Waspam, Nicaragua.....	72
Figura 2.5 Comparaciones por pares entre los resultados de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la prueba de campo de cianopiretroides (PCC) y el bioensayo en conos de LLIN, Waspam, Nicaragua.....	7

El informe de tesis se divide en dos capítulos:

i. Resumen

Capítulo I

Objetivo. Caracterizar las recurrencias de casos de *P. vivax*, 2016-2018.

Diseño. Estudio observacional descriptivo de las infecciones recurrentes por *P. vivax* (casos posteriores a una infección primaria) utilizando una fuente secundaria de registros de casos anuales completos de paludismo del 2013 al 2018. Se evaluó la proporción, periodicidad, temporalidad y parasitemia de los episodios recurrentes (probables recaídas) de *P. vivax* a nivel nacional y en los dos municipios más afectados por esta enfermedad en la Región Autónoma del Caribe Norte (RACCN). Los conteos se realizaron con Microsoft Excel y los análisis estadísticos (U de Mann-Whitney, el coeficiente de Spearman y la prueba de chi-cuadrada) con el programa Stata v14.2.

Resultados. El estudio de 36,787 casos de paludismo por *P. vivax* o *P. falciparum* reveló que, a nivel nacional se detectaron 3,624 (9,8%) pacientes con al menos una infección recurrente. *P. vivax* fue responsable del 88% de las infecciones recurrentes de 25 a 450 días de latencia (51,9% eran mujeres y 48,1% hombres), y se supuso que estos fueron episodios de recaída. De ellos, 88,2% y 4,4% ocurrieron en los municipios de Puerto Cabezas y Rosita, respectivamente. La proporción de pacientes de *P. vivax* con presuntos episodios de recaída aumentó con tasas de transmisión elevadas en ambos municipios, alcanzando 7% en Rosita (2017) y 14,5% en Puerto Cabezas (2018). Se encontró una abundancia de recaídas probables por *P. vivax*, con amplia gama de tiempo de latencia y distribución temporal.

Conclusiones. Este estudio confirma que las recurrencias de corto-moderado (entre 25 y 180 días) y largo intervalo (entre 181 y 450 días) de tiempo se presentan en las zonas afectadas de Nicaragua. El número de infecciones recurrentes (o recaídas) por *P. vivax*, el amplio rango de latencia y su distribución temporal favorecen la continuidad e intensidad de la transmisión e incremento de casos, y constituyen un gran reto para la eliminación del paludismo por *P. vivax*.

Palabras claves: paludismo, *Plasmodium vivax*, recurrencias, recaídas, parasitemia, intervalo de tiempo, Nicaragua, puerto cabezas, Rosita, RACCN,

Capítulo II

Objetivo. Evaluación de la durabilidad y uso de mosquiteros tratados con insecticida de larga duración (LLIN), Nicaragua, 2016-2018.

Diseño. Estudio observacional longitudinal para evaluar los mosquiteros distribuidos previamente en una muestra representativa de hogares para ello se recolectaron al menos 30 mosquiteros PermaNet cada tiempo a los 6, 12, 24 y 36 meses después de una distribución de 1768 de estos en el año 2010 y utilizados en el municipio de Waspam, Región Atlántica Norte. La integridad física se midió contando los agujeros y clasificando los mosquiteros en categorías (buenos, dañados y demasiado rotos) en función de un índice proporcional de agujeros (pHI). La bioeficacia de los insecticidas se evaluó mediante bioensayos de conos, y el contenido de insecticidas se midió mediante una prueba de campo de cianopirenoides (CFT).

Resultados. A los 6 meses, el 87,3% de los LLIN estaban en buen estado físico, a los 24 meses esto cayó al 23.5%, mientras que a los 36 meses esta cifra se redujo al 20,6%. Los habitantes de las casas indicaron que los LLIN fueron lavados al menos una vez por mes. A los 24 y 36 meses, el 27% y 38,2% se les consideró demasiado rotos, respectivamente. La mediana de pHI aumentó de 7 a los 6 meses a 480.5 a los 36 meses. La mortalidad ($\geq 70\%$) en los bioensayos de conos a los 6 meses, fue detectada sólo en el 18% de los LLIN, con mortalidad media de 16% (rango: 2-70%). Mientras a los 12 meses sólo un mosquitero de 40 mostro mortalidad $\geq 80\%$. Desde los 6 meses se detectó un 94.2% de los LLIN con reducción de la concentración de deltametrina sobre la superficie en niveles por debajo de lo recomendado por la OMS, por debajo del umbral para ser considerados como mosquiteros defectuosos por la CFT.

Conclusiones. Este primer análisis integral de la durabilidad de LLIN en Centroamérica en el uso y efectividad de LLIN, el uso y lavado frecuente provocó una rápida pérdida de bioeficacia química y daño físico progresivo durante un período de 6-24 meses en el municipio de Waspám, Nicaragua. Por lo que después de 6 meses su efectividad es limitada o nula, conocimiento importante para los programas de control y eliminación del paludismo.

Palabras claves: paludismo, mosquiteros, insecticidas de larga duración, control vectorial.

ii. Dedicatoria

- A Dios por el privilegio de la vida, por los dones y talentos que me ha proporcionado para brindar mis servicios en salud pública a lo largo de mi vida.
- A la memoria de mis padres (QEPD) Salomé Bravo Martínez y Salvador Soto Astorga quienes con amor, dedicación y sacrificio me formaron para la vida.
- A mi esposo por siempre acompañarme en todos mis retos y desafíos.
- A mis hijos, mi proyecto de vida para que cada una de mis metas alcanzadas les quede como testimonio de fe, fuerza y perseverancia.

iii. Agradecimientos

A mi tutora PhD Lilia González Cerón y PhD Sergio Gutiérrez, sin ellos esto no hubiese sido posible, gracias por todo su apoyo y seguimiento.

Al Ministerio de Salud Pública de Nicaragua quienes me dieron la oportunidad de llevar a cabo el estudio.

1. Introducción

Se estima que hubo 241 millones de casos de paludismo en 2020, en comparación con 227 millones de casos en 2019, un aumento de aproximadamente 14 millones de casos que fueron en parte atribuidos a la pandemia por Covid-19. Para 2021 el incremento de casos continuo, reportando 247 millones de casos. Aproximadamente el 95% de todos los casos de paludismo se registraron en la Región de África de la OMS, reportando 234 millones de casos en el 2021 (WHO, 2022).

En la Región de las Américas, los casos de paludismo se redujeron en un 60% (de 1,5 millones a 0,6 millones) y la incidencia de casos en un 70% (de 14,1 a 4,2 casos por cada 1,000 habitantes en riesgo) entre 2000 y 2021 (WHO, 2022). *Plasmodium vivax* fue responsable de ~75 % de los 596 200 casos confirmados de paludismo en las Américas en 2020, mientras que ~25 % fueron producidos por *Plasmodium falciparum* (WHO, 2020). Los casos y muertes por paludismo disminuyeron en un 20 % en las Américas entre 2010 y 2020 (WHO, 2021b). En Nicaragua, los casos de paludismo disminuyeron gradualmente durante el período 2000-2010, alcanzando una reducción total de más del 90% en la incidencia (de 23 281 casos en 2000 a 896 en 2010). El número de casos de paludismo fluctuó ligeramente en los años siguientes (2011-2014), de 1171 a 1564 por año, y luego incrementó de 2886 en 2015 a ~25mil y ~22 mil en 2020 y 2021, respectivamente (WHO, 2022), con un comportamiento similar al presentado antes del año 2000. Actualmente, Nicaragua reporta el mayor número de casos de paludismo en Centroamérica.

La región de Centro y Sudamérica ha sufrido cambios en la transmisión, los casos estimados para Honduras y Panamá fue el doble para el 2021 comparado con 2019, mientras en otros países de Sudamérica hubo reducciones importantes entre 2019 y 2021. Además de las cifras, también hubo cambios en cuanto a la proporción por especie *P. falciparum* y *P. vivax* fueron los parásitos responsables de la transmisión en el país, este último causó más del 80% de los casos de paludismo en 2019 y se redujo a un poco más del 50% de los casos en 2020 y 2021 (WHO, 2021b). En Honduras, la frecuencia de *P. vivax* vs *P. falciparum* ha oscilado siendo ~70% in 2016 y 2020, y 57% en 2021.

Las áreas endémicas de la región Mesoamericana, la existencia de las mismas especies de mosquitos de vectores susceptibles *An. albimanus* y *An. pseudopunctipennis* y la constante movilidad humana, entre otros, es un riesgo permanente de la circulación de parásitos de *Plasmodium* (Gonzalez-Ceron et al., 2020; Sinka et al., 2012). Actualmente, en diferentes países de las Américas, incluido Nicaragua, se emplea la primaquina en esquema de 7 días con 0.5 mg/kg/día para eliminar las recaídas por *P. vivax* (MINISTERIO DE SALUD, 2014). La reducción eficaz de las recaídas por *P. vivax* y mejorar la cobertura con mosquiteros tratados con insecticidas son dos de los 4 cambios operacionales del control hacia la eliminación recomendados por la OMS (WHO, 2015a), la contribución actual es un análisis observacional descriptivo de las infecciones recurrentes por *P. vivax* en Nicaragua de 2013 a 2018. Se evaluó la proporción, periodicidad, temporalidad y parasitemia de los episodios recurrentes de *P. vivax* a nivel nacional en los dos municipios con la transmisión de paludismo más alta en la RACCN, con base en una fuente secundaria de registros de paludismo compilados por el Ministerio de Salud, así como los resultados de la durabilidad de mosquiteros tratados con insecticida de larga duración (MTILD) que contribuirán a reorientar la estrategia de control de paludismo en Nicaragua.

2. Marco teórico

Biología y clínica de *Plasmodium*. *Plasmodium* es un género que pertenece al filo *Apicomplexa*. Este filo comprende parásitos protozoos con ciclo de vida complejo en el que participan mosquitos únicamente del género *Anopheles* y vertebrados. Siendo el mosquito en hospedero definitivo donde ocurre la reproducción sexual y en el hospedero vertebrado ocurre la reproducción asexual multiplicativa (*Figura A*). Durante una comida de sangre, un mosquito hembra del género *Anopheles* (infectada) inocula esporozoítos en el hospedero humano. Los esporozoítos llegan al hígado y después infectan las células del hígado y se desarrollan a esquizontes aprox. 7-12 días (esquizogonia exo-eritrocítica),. Estos liberan miles de merozoítos hepaticos que llegan al torrente sanguínea con capacidad de invadir a los eritrocitos juvenes. En el caso de *P. vivax* y *P. ovale* algunos esporozoítos se redondean y permanecen latentes en el hígado, y tiempo después,

semanas, meses o años pueden causar recaídas al reactivarse su desarrollo y producir una nueva infección sanguínea (sin la picadura de un mosquito infectado).

Después de esta replicación inicial en el hígado, en el eritrocito los parásitos se someten a la multiplicación asexual (esquizogonia eritrocítica) liberando entre 6-24 merozoitos eritrocíticos cada 48-72 h, la descendencia infecta otros glóbulos rojos (White, 2014).

Los trofozoítos pasan por distintas etapas de desarrollo, desde la forma anillada hasta esquizontes. Estos se rompen y liberan merozoítos eritrocíticos. Algunos parásitos se diferencian a formas sexuales (gametocitos). Los parásitos o formas sanguíneas son responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Los gametocitos, macho (micro gametocitos) y hembra (macro gametocitos), si son ingeridos por un mosquito *Anopheles* durante una comida de sangre, se llevará a cabo el ciclo sexual en el estomago del mosquito, generando el cigotos que se transforman a oocinetos. Estos son capaces de salir del contenido estomacal, migrar a través del epitelio y ubicarse entre la membrana celular de la célula epitelial y la lámina basal, aquí se termina el desarrollo del ooquiste. La multiplicación de los parásitos o formación de miles de esporozítos por ooquiste en el mosquito se conoce como el ciclo esporogónico. Cuando los esporozoítos salen del ooquiste invaden a las glándulas salivales. La inoculación de los esporozoitos en un nuevo huésped humano perpetúa el ciclo de transmisión de los parásitos de *Plasmodium* (White, 2014) (Figura A).

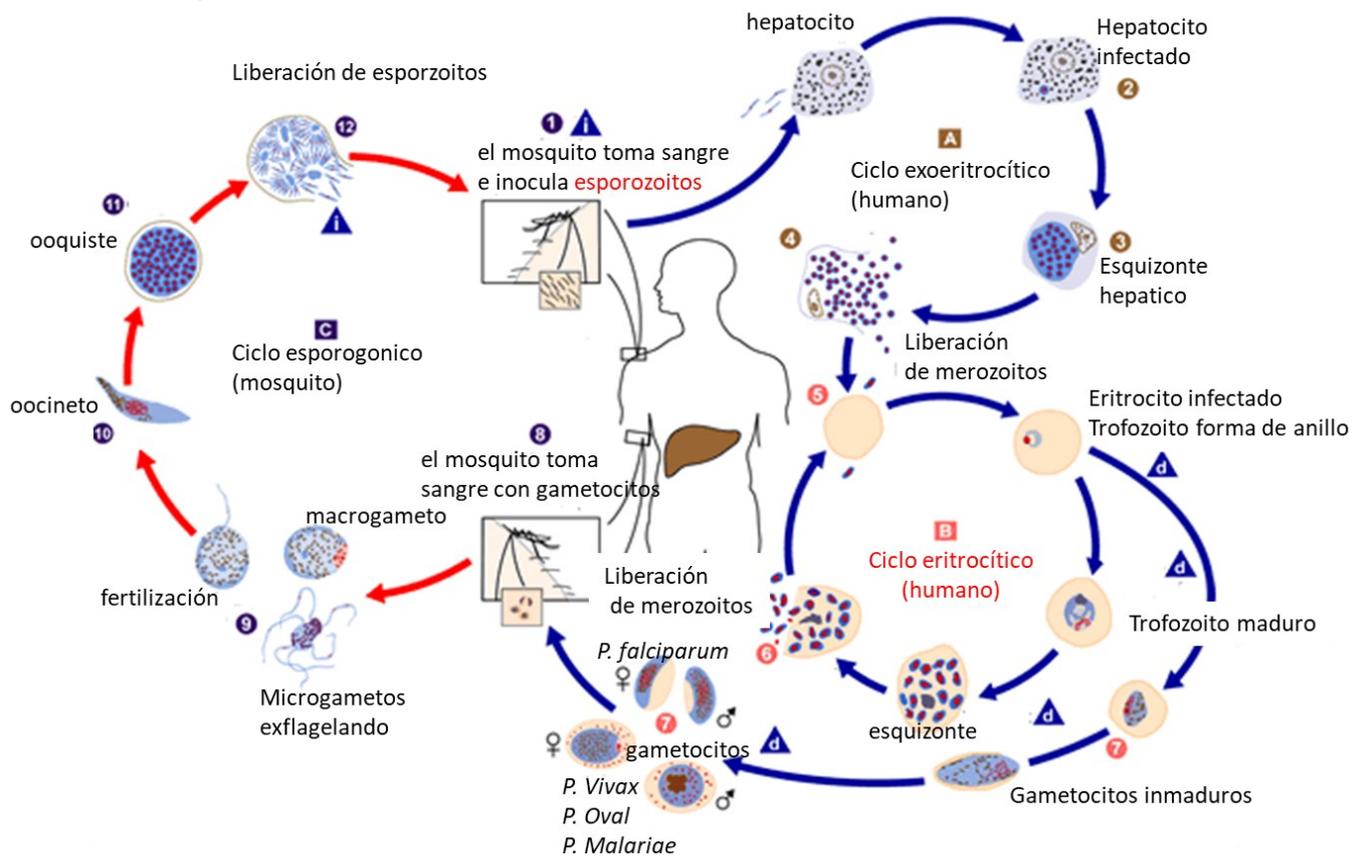


Figura A Ciclo de vida de Plasmodium. Se muestra que ocurre cuando el mosquito del género *Anopheles* infectado inyecta los esporozoitos al humano (1), estos invaden células hepáticas y ahí desarrollan y se multiplican hasta generar los merozoitos (2-5). Al liberarse invaden los eritrocitos y mantienen el ciclo eritrocítico, donde se desarrollan y multiplican una y otra vez, al mismo tiempo que se desarrollan los gametocitos (5-8). Si un mosquito susceptible en la comida de sangre contiene gametocitos de un humano infectado, el parásito se desarrollará dentro del mosquito, hasta la formación de esporozoitos (8-13). Tomado de <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>.

Sintomatología y la enfermedad. El periodo prepatente, que corresponde al desarrollo del parásito de *Plasmodium* en el hígado, periodo asintomático, dura aprox. 11-13 días para *P. vivax* y *P. falciparum*. Los primeros síntomas del paludismo son inespecíficos incluyendo malestar general, dolor de cabeza, fatiga, dolores musculares y fiebre intermitente. Con frecuencia se presentan náusea y vómitos. Las infecciones recurrentes pueden provocar afecciones más graves. La infección por *P. falciparum* puede provocar síntomas graves como las convulsiones generalizadas y

coma. El coma producido por la malaria se le conoce como paludismo cerebral, siendo más probable en niños la anemia, convulsiones y el coma (White, 2014). En las zonas en las cuales la transmisión es inestable no se adquiere inmunidad protectora contra la malaria y la enfermedad sintomática puede ocurrir en todas las edades, existiendo un mayor riesgo de epidemias con riesgo de mortalidad en todos los grupos de edad, como lo adultos no inmunes que visitan una zona endémica (White, 2014).

El paludismo o malaria, es una enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos de la familia *Plasmodium* que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*. Se trata de una enfermedad prevenible y curable. Hay cuatro especies diferentes de plasmodios que infectan a los seres humanos (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*); las infecciones por *P. falciparum* y por *P. vivax* tienen la mayor prevalencia, y la infección por *P. falciparum* es la más grave. *P. knowlesi* es un plasmodio zoonótico que también infecta a los seres humanos (White, 2014).

Casi la mitad de la población mundial corre el riesgo de padecer paludismo, pero la mayoría de los casos y de las muertes registran en el África subsahariana. También, las regiones de la OMS de Asia Sudoriental, el Mediterráneo Oriental, el Pacífico Occidental y las Américas también reportan un número importante de casos y de muertes. A pesar del impacto continuado de la COVID-19, los casos y las defunciones de paludismo o malaria a causa de esta enfermedad se mantuvieron estables en 2021.

Según el Informe mundial sobre el paludismo, se estima que, en 2021, alrededor de 619 000 personas murieron de esta enfermedad en todo el mundo, en comparación con las 625 000 víctimas en el primer año de la pandemia. En 2019, antes de que estallara la pandemia, el número de defunciones fue de 568 000. Los casos de paludismo siguieron aumentando entre 2020 y 2021, aunque a un ritmo menor que entre 2019 y 2020. El cómputo mundial de casos de paludismo alcanzó los 247 millones en 2021, por 245 millones en 2020 y 232 millones en 2019 (WHO, 2022).

P. vivax es el que tiene la distribución geográfica más amplia, y aproximadamente un 35% de la población mundial está en riesgo de contraerlo. La

distribución de *P. vivax* depende de la distribución de las especies de mosquitos susceptibles; de 70 especies de anofelinos se cree que solo 40 de ellas contribuyen de forma significativa a su transmisión; las condiciones ecológicas climáticas que permiten el desarrollo del parásito en el vector, y la genética humana, en particular la presencia del antígeno Duffy (N.J. White, 2014).

La visión de la OMS y de la comunidad mundial interesada en esta enfermedad es un mundo sin malaria la cual plantea objetivos, hitos y metas de la Estrategia Técnica contra la malaria 2016-2030 que se describen en el cuadro 1 (WHO, 2015a).

CUADRO 1. OBJETIVOS, HITOS Y METAS DE LA ESTRATEGIA TÉCNICA MUNDIAL CONTRA LA MALARIA 2016–2030

VISIÓN: UN MUNDO SIN MALARIA

OBJETIVOS	HITOS		METAS
	2020	2025	2030
1. Reducir las tasas de mortalidad por malaria en todo el mundo en comparación con las de 2015	Por lo menos 40%	Por lo menos 75%	Por lo menos 90%
2. Reducir la incidencia de casos de malaria en todo el mundo en comparación con la de 2015	Por lo menos 40%	Por lo menos 75%	Por lo menos 90%
3. Eliminar la malaria en los países en los que siga habiendo transmisión en 2015	Por lo menos 10 países	Por lo menos 20 países	Por lo menos 35 países
4. Evitar el reestablecimiento de la malaria en todos los países exentos de la enfermedad	Reestablecimiento evitado	Reestablecimiento evitado	Reestablecimiento evitado

Fuente: Estrategia mundial contra la malaria 2016-2030: https://www.iom.int/sites/g/files/tmzbdl486/files/2018-07/9789243564999_spa.pdf

Para esto la Estrategia Técnica Mundial contra la malaria 2016-2030 plantea tres pilares fundamentales para alcanzar las metas:

- **Pilar I. Lograr el acceso universal a la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de la malaria.** El conjunto de intervenciones básicas recomendado por la OMS: *control vectorial, quimioprofilaxis, pruebas diagnósticas y tratamiento, todas ellas de buena calidad* puede disminuir extraordinariamente la morbilidad y la mortalidad. La OMS recomienda aplicar las dos series de intervenciones en forma complementaria: 1) estrategias de

prevención basadas en el control vectorial y, en determinadas circunstancias y ciertos grupos de población, la administración de quimiopprofilaxis; y 2) el diagnóstico universal y el tratamiento eficaz y rápido de la malaria en los establecimientos sanitarios públicos y privados del nivel comunitario.

- **Pilar 2. Acelerar los esfuerzos para lograr la eliminación y alcanzar el estado de exento de malaria.** El logro de este objetivo implicará enfocar la atención tanto en los parásitos como en los vectores en focos de transmisión bien definidos, guiándose por la detección de casos y la investigación de casos como parte del programa de vigilancia y respuesta a la malaria. La invención y aplicación de soluciones innovadoras será esencial para responder a la propagación de la resistencia a los insecticidas y a la transmisión residual, así como para centrarse especialmente en los reservorios de hipnozoítos de *P. vivax*.
- **Pilar 3. Transformar la vigilancia malárica en una intervención básica.** El fortalecimiento de la vigilancia de la enfermedad es fundamental para la planificación y la ejecución de los programas, y constituye un factor decisivo para acelerar el progreso.

El control de vectores es un componente esencial del control y la eliminación de la malaria. La capacidad de los vectores para transmitir los parásitos y su vulnerabilidad a las medidas antivectoriales varían según la especie de mosquito y acusan la influencia de factores ambientales. Las dos intervenciones básicas y de amplia aplicación son el uso de mosquiteros tratados con insecticidas de efecto prolongado y la fumigación de interiores con acción residual.

Los mosquiteros tratados con insecticidas (MTI) son la principal herramienta de control de vectores utilizada en la mayoría de los países donde la malaria es endémica. En 2020, los programas nacionales contra la malaria distribuyeron más mosquiteros tratados con insecticida que en cualquier otro año registrado. En total, el 74% de los 272 millones de MTI previstos para su distribución se habían distribuidos a finales de 2020. En 2021, las distribuciones de MTI mantuvieron niveles similares a

los del año prepandémico de 2019; de los 171 millones de MTI previstos para su distribución, se distribuyeron 128 millones (75%) (WHO, 2022).

P. vivax tiene características biológicas que favorecen su amplia distribución geográfica; en pacientes afectados, los gametocitos (fase sexual del parásito infectivo para los mosquitos anofelinos) pueden estar presentes antes de inicio de los síntomas. Dentro del mosquito, las formas infectantes (esporozoítos) de *P. vivax* se desarrollan más rápidamente (~10 días a 25 °C) que los de *P. falciparum* (12 días) y con intervalos de temperatura mayores. La infección en el hígado humano (fase de hipnozoíto), provoca nuevas infecciones sanguíneas (sin picadura de vectores infecciosos) (WHO, 2015a).

Un caso recurrente de *P. vivax* puede deberse a una recaída, recrudescencia o reinfección. La recaída es la reaparición de la parasitemia en pacientes que habían sido curados de la infección sanguínea primaria causada por *P. vivax* y *P. ovale*, esta se debe a una nueva liberación de parásitos procedentes del hígado; las recaídas pueden ocurrir a corto (2 semanas a 6 meses), largo plazo (de 6 a 12 meses) y tardías (mayores de 12 meses) (Durand et al., 2014; Rajgor et al., 2003; Trujillo & Giraldo, 1991).

Recrudescencia es la recurrencia de los parásitos asexuales en el torrente sanguíneo, de mismo genotipo que causa la infección primaria, después de tratamiento antimalárico, debido a la dosificación inadecuada o a la resistencia de los parásitos a la terapia. La reinfección ocurre cuando el paciente es infectado otra vez después de la infección inicial. Recrudescencia y recaída son términos relacionados con la falla terapéutica, pero podrían indicar fracaso de las drogas para eliminar los parásitos debido a dosis subóptimas no-adherencia con el esquema o por vómito (Durand et al., 2014; Rajgor et al., 2003; Trujillo & Giraldo, 1991).

Recaídas. Las recaídas son causadas por estadios latentes en el hígado adquiridos de infecciones previas por *P. vivax* o *P. ovale*. Cuando un mosquito infectado pica a una persona, es muy probable que inocule esporozoítos genéticamente iguales, que causan la infección primaria y las recaídas (genéticamente homólogas). A diferencia de zonas hiper-endémicas, donde las infecciones con genotipos mixtos son frecuentes y los mosquitos infectados al picar

inoculan parásitos genéticamente diversos (genotipos múltiples), donde es más factible que la infección primaria sea causada por un genotipo de *P. vivax* distinto al que causa las recaídas, cada recaída podría ser causada por un genotipo diferente (Gonzalez-Ceron et al., 2013; Imwong et al., 2007).

Se reconocen dos principales patrones de recaídas: la cepa tropical “Chesson” de la costa pacífico de Asia y produce recaídas frecuentes de corta latencia dentro de los primeros 3 meses después de la infección primaria, mientras la cepa templada “St Elizabeth” aislada de la costa atlántico produce recaídas de largo tiempo de latencia, dentro de 7 y 14 meses (Coatney, Cooper, & Young, 1950; White, 2004). El patrón de recaídas producido por parásitos de Tailandia y Vietnam coinciden con el patrón de recaídas de la cepa Chesson (Cogswell, 1992) y los parásitos de Venezuela muestran recaídas con latencia similar a la cepa St Elizabeth. Los parásitos de Nicaragua se detectaron recaídas de latencia entre 3 y 7 meses (Contacos, Collins, Jeffery, Krotoski, & Howard, 1972). Adak (Adak, Valecha, & Sharma, 2001) sugirió a las recaídas de corta duración con ocurrencia dentro de 4-26 semanas y de larga duración a las que ocurren en el periodo de 27-52 semanas, siendo las de latencia tardía de más de 52 semanas. La OMS consensa los tiempos de latencia de las recaídas más frecuentes dentro del periodo de 5-50 semanas (WHO, 2015b), pero los riesgos, número y periodos de latencia de las recaídas pueden variar entre regiones por la intensidad de transmisión, genética de los parásitos e interacción con distintas poblaciones humanas, etc. (Goller, Jolley, Ringwald, & Biggs, 2007).

En pacientes del Sur de México (zona mesoamericana) concuerdan también con los reportados para la India e Irán; en Irán en el periodo 1994-2001, se estimó que ocurren principalmente dentro de 3-18 meses (Haghdoost, Mazhari, & Bahaadini, 2006), mientras en la India las recaídas son predominantes dentro del primer año de corta y larga latencia, para el tercer ó 4 año son poco frecuentes (Dua & Sharma, 2001; Sharma, Pillai, & Devi Sharma, 2000; R. C. Sharma, Gautam, Orlov, & Sharma, 1990), aunque hay variaciones en distintas regiones; en Mumbai, India de 150 pacientes con seguimiento por 12 meses y sin la administración de primaquina, 17 de 19 de los que presentaron recaída, esta fueron de corta latencia y dentro de los primeros 6 meses (Gogtay et al., 2000). En parte semejante a lo recientemente reportado en Korea, las recurrencias fueron el 69.4% en tiempos mayores a 6 meses (Moon et al., 2009). A diferencia de Tailandia, donde se reportó que todos los

pacientes con seguimiento de 12 meses presentaron la recaída dentro de los primeros 6 meses (Bunnag et al., 1994). En Irak el seguimiento de 11 meses sin administración de primaquina mostró mayor porcentaje de recaídas de corta latencia 25.5% vs 9.5% de larga latencia (Leslie et al., 2008). En Colombia hay resultados contradictorios de acuerdo a la zona geográfica y con pocos pacientes, se reportan recaídas de corto periodo de latencia (Carmona-Fonseca & Maestre, 2009) y de 6-12 meses (Blair & Giraldo, 1991; Munoz et al., 2006).

Hay recaídas que se han reportado para tiempos muy largos de 4 (Duarte, Pang, & Fontes, 2003) y 20 años (Maslin, Cuguillere, Bonnet, & Martet, 1997). Se estima que una de cada 4- 5 personas afectadas sufrirá una recaída si no cuenta con un tratamiento efectivo de cura radical, pero no es posible determinar ni quién ni cuando sufrirá una recaída. La identidad molecular de las recaídas ha sido analizada (Craig & Kain, 1996; Kain, Craig, & Ohrt, 1996) y sugieren que en zonas de baja transmisión las recaídas son causadas por parásitos que tienen homología genética con los parásitos del episodio primario, pero en zonas de mayor transmisión la identidad genética puede variar (Chen, Auliff, Rieckmann, Gatton, & Cheng, 2007). El estudio molecular de 75 infecciones sintomáticas recurrentes causadas por *P. vivax* en una región del Sur de Chiapas, México, mostró la presencia de un alto porcentaje de recaídas que ocurren dentro de las primeras 52 semanas después de la infección primaria, mediante la demostración de homología genética en parásitos recurrentes con la infección primaria (Gonzalez-Ceron et al., 2013).

Diagnóstico de paludismo. El diagnóstico de rutina del paludismo se realiza por microscopía de la gota gruesa de sangre teñida con Giemsa y usando pruebas de diagnóstico rápido PDR (WHO, 2011b). Estas últimas están sugeridas para zonas de difícil acceso y cuando no hay disponibilidad del diagnóstico parasitológico. La recaída es la recurrencia de la infección sanguínea por lo que el diagnóstico se realiza igual que en la detección de una infección primaria. Aunque hay que considerar que algunas zonas los casos por recaída pueden ser asintomáticos y/o no ser detectados por los métodos tradicionales (OMS, 2016)

Primaquina en el tratamiento de recaídas por *P. vivax*. La primaquina se utiliza para reducir los casos recurrentes causadas por recaídas, y la dosis total de

3.5 mg/kg de peso corporal administrado en 14 días es la de mayor eficacia, reduce aproximadamente el 90% de las recaídas. Sin embargo, se ha sugerido que lo vital es cumplir con la dosis total que puede ser administrada en 7 días (210-7), pero no hay suficientes estudios clínicos y los publicados no han sido concluyentes (Carmona Fonseca, 2015; WHO, 2021a).

Primaquina es una 8- aminoquinoleína (6-metoxi-8-(4'-amino-1'-metilbutilamino) quinoleína) con efecto esquizonticida tisular para todas las especies de *Plasmodium* y los gametocitos en sangre, con limitado efecto sobre las formas sanguíneas asexuales. El mecanismo de acción se sugiere que es a nivel de mitocondria afectando la respiración del parásito (Fletcher, Barton, & Kelly, 1988) y otro es la generación de oxidantes mediada por los metabolitos 5-hidroxiprimaquina y 6-metoxi-8-aminoquinolina (Vasquez-Vivar & Augusto, 1992). La PQ se absorbe en tracto intestinal alcanzando las máximas concentraciones en plasma en 1-2 h después de su administración. Este medicamento se distribuye en diferentes órganos como los pulmones, cerebro, corazón y músculo esquelético, en concentraciones relativamente bajas, aunque en hígado se concentra 10 veces más y se elimina del organismo en aprox. 4-6 h aproximadamente (Chotsiri et al., 2022). La PQ puede generar efectos adversos en personas con deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), esta enzima en los glóbulos rojos protege a la hemoglobina del estrés oxidativo. La deficiencia de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (por sus siglas en inglés; G6PD) permite que los glóbulos rojos sean más sensibles a la hemólisis cuando se exponen a radicales libres de oxígeno (Watson, Taylor, Menard, Kheng, & White, 2017). Este medicamento está contraindicada en mujeres embarazadas, durante la lactancia, niños menores de 6 meses y en personas con deficiencia de la enzima G6PD (Baird & Hoffman, 2004; WHO, 2015b)

Control vectorial

El control de los vectores es una forma muy eficaz de reducir la transmisión de la malaria (o paludismo), así como un componente imprescindible de las estrategias de control y eliminación de esta enfermedad. Actualmente, la OMS recomienda el despliegue de una o dos intervenciones básicas para el control de los vectores de la malaria en zonas de riesgo de transmisión de la enfermedad, ya sean mosquiteras

tratadas con insecticida (ITN, por sus siglas en inglés) o fumigación de interiores con insecticidas de acción residual (IRS, por sus siglas en inglés). En función del entorno y los recursos disponibles, estas intervenciones básicas pueden combinarse a fin de mitigar la resistencia a los piretroides y pueden complementarse con el manejo de fuentes de larvas (criaderos). En circunstancias especiales, las medidas de protección personal, como los repelentes y la ropa tratada con insecticida, pueden prevenir las picaduras de los mosquitos y ofrecer protección individual contra la malaria (WHO., 2021).

Desde 2000, se han entregado más de dos mil millones de mosquiteras tratadas con insecticida a países donde la malaria es endémica, y esta rápida respuesta ha sido, con mucho, el factor que más ha contribuido a los impresionantes descensos en la incidencia de la malaria observados desde el cambio de siglo. De 2000 hasta 2020, el porcentaje de la población con acceso a una ITN en el hogar aumentó del 2% al 43%. La contribución de la IRS a las iniciativas de control de la malaria también ha sido importante, pero más modesta, y el porcentaje de población en situación de riesgo protegida ha disminuido del 5.8% en 2010 al 2.6% en 2020.

El control del vector de la malaria requiere la recopilación e interpretación periódicas de datos sobre las especies de vectores locales, la posible invasión de vectores de otras zonas geográficas, su susceptibilidad a los insecticidas y el comportamiento de los vectores y los seres humanos. Asimismo, resulta imprescindible hacer un seguimiento continuo de la cobertura, el uso, la calidad y la durabilidad de las intervenciones para el control de los vectores después de su aplicación.

Los avances logrados en el control de la malaria se ven amenazados por la propagación de la resistencia a los insecticidas entre los mosquitos *Anopheles*. Si no se controla, la resistencia a los insecticidas podría conducir a un aumento importante de la incidencia y la mortalidad por malaria. Se necesitan acciones urgentes para mitigar y controlar la resistencia a los insecticidas, y para encontrar soluciones que permitan controlar las poblaciones de mosquitos picadores en los espacios abiertos. Y, lo que es más importante, esto requiere innovación para desarrollar nuevas herramientas, técnicas y métodos para el control de vectores, así como la evaluación

rigurosa de estas herramientas individualmente y en combinación a fin de establecer su papel potencial como parte de una estrategia integral de control de la malaria.

3. Justificación

La OMS a través de la Estrategia Técnica Mundial contra el paludismo 2016-2030, ha convocado a los países a reducir de aquí al 2030 la carga de mortalidad por paludismo en todo el mundo en un 90%. Dicha estrategia proporciona a los países y asociados una serie exhaustiva de orientaciones técnicas para los próximos 15 años, con énfasis especial en la importancia de ampliar la escala de las intervenciones de respuesta a esta enfermedad y avanzar hacia la eliminación. Se hace hincapié en la urgente necesidad de aumentar la inversión en relación con todas las intervenciones tales como las pruebas de diagnóstico, el tratamiento y la vigilancia de la enfermedad, así como aprovechar las innovaciones y ampliar las actividades de investigación.

A pesar de los esfuerzos del país en mejorar el acceso al diagnóstico y al tratamiento, *P. vivax* supone un gran reto en el control y eliminación de la enfermedad por diferentes causas entre ellas, las recurrencias y las recaídas. Así mismo el uso de MTILD ha sido usado como una de las intervenciones claves que precisa de planes operacionales integrales como uso de estrategias educacionales, supervisión, monitoreo, plan de reposición entre otras, elementos que si no se llevan a cabo en los tiempos adecuados puede no tener el impacto deseado.

En este contexto y tomando en consideración más de 66 años de lucha contra la paludismo en Nicaragua, esta tesis aporta evidencias en el rol que juega las recurrencias causadas por *P. vivax* para mantener la transmisión de paludismo así como evaluar la longevidad del uso de MTILD a gran escala en complejos escenarios socioeconómicos, culturales, ambientales y de alta movilidad humana a lo largo de corredores de frontera con poblaciones de pueblos y nacionalidades indígenas donde el acceso a los servicios de salud por condiciones de clima, infraestructura vial y pobreza son difíciles.

La especie de *P. vivax* es considerada difícil para eliminar porque producen recaídas, que consisten en la recurrencia de la infección sanguínea debido a la activación de las fases latentes (hipnozoitos) en el hígado después de haber curado la infección primaria sanguínea (WHO, 2015b). Por lo que la frecuencia y patrones temporales de casos recurrentes nos podrían dar información útil para las acciones de control y eliminación.

Capítulo I. Análisis de casos recurrentes por *P. vivax* en Nicaragua, 2013-2018

I. 4. Antecedentes

Las recurrencias por *P. vivax* pueden ser ocasionadas por una recaída, recrudescencia o reinfección. Las recaídas son causadas por hipnozoítos que permanecen latentes en el hígado y se reactiva su desarrollo semanas, meses o años después de la infección primaria. La recrudescencia por *P. vivax* puede darse por la falla del tratamiento contra fases sanguíneas, cuando este no elimina completamente las fases sanguíneas y días más tarde se incrementa la parasitemia nuevamente. La recurrencia de la infección sanguínea por una reinfección, ocurre por la picadura de un mosquito infectivo. La temporalidad de los casos recurrentes puede orientar sobre su origen; en *P. vivax*, la recrudescencia es más común dentro de 7-24 días (WHO, 2021a) después de inicio de síntomas de la infección primaria, mientras las recaídas en la región de Centroamérica se ha sugerido ocurren desde la tercer semana y hasta más de un año (Mason, 1975). Pero la probabilidad de reinfección en zonas hipo endémicas es baja dentro de un año después de la infección primaria (Mason, 1975; Imwong et al., 2007).

Los hipnozoítos puede ser más de uno y ocasionar múltiples recaídas, y una proporción de estas podrían ser indetectable con los métodos de diagnósticos actuales (OMS, 2016). En el Salvador, Centro América se reportó que después del caso primario, la primera recaída puede ocurrir entre 8 - 53 semanas, con mayor porcentaje entre 20 - 32 semanas (Mason, 1975), los estudios experimentales con

cepas de la región demostraron recaídas dentro del periodo antes citado y varía su patrón y número de veces entre individuos (Collins, Contacos, Stanfill, & Richardson, 1973). Estudios en el Sureste de México mostró resultados similares a lo reportado en CA; las recaídas se detectaron desde 4 semanas y hasta más de 12 meses (Gonzalez-Ceron et al., 2013; Gonzalez-Ceron et al., 2015). En personas que han tenido una infección primaria y que no reciben o cumplen con el tratamiento, o por ineficacia de los tratamientos administrados, presentan recaídas contribuyendo a iniciar y/o mantener la transmisión. Por esto, el tratamiento supervisado y el seguimiento a los pacientes son elementos claves para disminuir el riesgo de recaídas o alcanzar la mayor efectividad (Carmona Fonseca, 2015; Kitchener, Nasveld, Bennett, & Torresi, 2005).

La intensidad de la transmisión determina la frecuencia con que se presentan las infecciones de *P. vivax* con distintos genotipos (infecciones mixtas). En regiones hipo-endémicas como Mesoamérica las infecciones mixtas son menores de 10% (Gonzalez-Ceron et al., 2013; Joy et al., 2008; Manandhar et al., 2013).

En el sur de México realizaron una caracterización molecular y epidemiológica de las infecciones recurrentes del *P. vivax* en la cual describe que la mayoría de las infecciones recurrentes se produjo dentro de un año de la infección primaria, y una gran proporción de éstas fueron causadas por parásitos genéticamente homólogos a la infección primaria. Esto aplica para regiones de baja endemia, con diversidad parasitaria baja, donde la probabilidad de recibir un piquete infectivo es de aproximadamente uno por año. Estas infecciones recurrentes homólogas tenían generalmente de corta o moderado intervalo de tiempo (< 6 meses) o de largo intervalo de tiempo (6 – 12 meses) entre la infección primaria (PI) y las infecciones recurrentes (RI); mientras que las infecciones que contienen genotipos heterólogos tenían intervalos relativamente más largos. Otro estudio para la evaluación de los tratamientos a base de CQ y PQ mostraron que la administración de un esquema pobremente efectivo, los casos recurrentes causados por recaídas y dentro de 12 meses de seguimiento, ocurrieron en al menos 50% de los individuos afectados (Gonzalez-Ceron et al., 2015). En general, los datos epidemiológicos para la región mesoamericana sugieren que las infecciones recurrentes heterólogas podrían ser recaídas o reinfecciones y de preferencia si son de largo intervalo de tiempo (más de

un año después de la infección primaria) (Gonzalez-Ceron et al., 2013; Rajgor et al., 2003).

I. 5. Planteamiento del problema

De acuerdo con los antecedentes presentados se generó la pregunta de investigación:

¿Cuál es el patrón epidemiológico y las características de los casos recurrentes por *P. vivax* en el período 2013-2018 en Nicaragua?

Preguntas específicas:

la ¿Cómo se presentan las recaídas en espacio, tiempo y personas en las zonas afectadas por paludismo?

Ib ¿Cuáles son los posibles factores que favorecen las recaídas: para el individuo afectado (falta de tratamiento, tratamiento no supervisado, tratamientos poco efectivos) y la presencia casos asintomáticos o bajas parasitemias que no son detectadas por diagnóstico microscópicos, falta de seguimiento al paciente en poblaciones móviles, demora en el diagnóstico, que podrían favorecer el incremento de casos por *P. vivax* y las recaídas etc.

¿Cuál sería la mejor estrategia en atender las recaídas con el fin de eliminar la transmisión de la enfermedad?

I. 6. Objetivos

Objetivo general

Caracterizar el patrón epidemiológico de los casos recurrentes (probables recaídas) por *P. vivax* en Nicaragua durante el período 2013-2018.

Objetivos específicos

1.- Identificar los casos recurrentes por *P. vivax* en la base de registro nominal durante el periodo de estudio.

2- Determinar la incidencia de los casos recurrentes o probables recaídas en pacientes afectados por *P. vivax* y tratados según esquema nacional.

3.- Analizar las características espacio-temporal y los factores asociados a los casos recurrentes o probables recaídas.

I. 7. Hipótesis

Con base a la evidencia publicada, la prevalencia de las recaídas en *Plasmodium vivax* impide avanzar hacia la eliminación del paludismo. En Nicaragua los casos recurrentes (probables recaídas) por *P. vivax* prevalecen en la región y contribuyen a mantener la transmisión e incremento de casos en las zonas con condiciones de vulnerabilidad social y económica durante 2013 - 2018.

I. 8. Diseño metodológico

Estudio observacional descriptivo de los casos recurrentes de *P. vivax* en las zonas afectadas por paludismo, el cual fue realizado con la información de una fuente secundaria constituida de los registros nominales de casos de paludismo en Nicaragua del 2013 al 2018. Los datos fueron compilados en hojas de cálculo en Excel en un formato establecido el Componente de Paludismo a nivel central del Ministerio de Salud con base a una fuente de variables que se utilizan para registros nominales de enfermedades sujetas a control y eliminación.

Dicho estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Revisión Ética (CIRE) del Ministerio de Salud de Nicaragua (NIC-MINSA/CNDR CIRE-08/08/16-071). Después de utilizar los nombres y apellidos de los pacientes para buscar evidencias de infecciones recurrentes, se protegió la identidad de cada paciente asignando un código encriptado antes de realizar el análisis de las infecciones recurrentes.

Limpieza de datos y análisis.

Se revisaron los registros de casos nominales de paludismo del periodo 2013 - 2018, para verificar la consistencia de la información mediante el examen de primer y segundo nombre(s), apellido(s), edad, sexo, etnia, localidad y municipio de origen, y

fecha de toma de muestra de sangre para diagnóstico parasitológico. Se verificaron cuidadosamente datos adicionales en las bases de datos corregidas en hojas de Excel, incluyendo la medicación y los días de tratamiento (las fechas de inicio y finalización del tratamiento), si la administración del tratamiento fue supervisada “en boca”, la fecha de inicio de los síntomas antes de la toma de la muestra de sangre para diagnóstico, y la posible existencia de parasitemia (mediante la realización de recuentos de parásitos). Se contó el número total de casos por especie de *Plasmodium* para todo el período y por año.

El análisis de los datos se dividió en dos etapas. Primero se realizó una búsqueda para encontrar pacientes con al menos dos casos de paludismo entre 2013 y 2018. Para ello, se examinaron los registros de paludismo para períodos de tres años, cada uno incluyó: 2013–2015, 2014–2016, 2015–2017 y 2016–2018. Dos investigadores filtraron manualmente los datos, comparando la identidad de cada paciente sospechoso de tener dos o más infecciones. Se prepararon cuatro columnas, con el primer nombre, segundo nombre, primer apellido y segundo apellido de los pacientes. Se tuvieron en cuenta otros parámetros, como la edad, el género, la etnia, la localidad y el municipio de los pacientes, para confirmar una coincidencia. Se compiló una lista de pacientes con más de un caso confirmado de paludismo (independientemente de la especie de parásito) en una “base de datos R”, y después el nombre completo de cada paciente fue encriptado con un código único. La segunda etapa consistió en analizar las características de los casos de paludismo recurrente (R) y de los pacientes que los presentaron. Un paciente con una infección recurrente, aquí se definió, como aquella persona con dos o más ataques por paludismo causados por la misma especie de *Plasmodium* (en pocos casos se presentó una infección mixta con ambas especies). Se excluyeron del análisis 178 pacientes porque se encontraron duplicados o tenían una latencia menor de 7 días. La latencia se expresó como el intervalo de tiempo en días entre dos infecciones consecutivas (la infección primaria y el primer episodio recurrente (R1), R2 y R3, y así sucesivamente).

En Nicaragua, debido a la coexistencia histórica de *P. vivax* y *P. falciparum* (Sequeira, 2010; WHO, 2021b), se contrastaron frecuencias en los casos recurrentes. Si en el caso primario se detectó a *P. vivax* o *P. falciparum*, y la infección posterior por la especie distinta, el segundo caso se definió aquí como una reinfección. Se

estableció la proporción de casos recurrentes desencadenados por la especie homóloga para *P. vivax* o *P. falciparum*. Los casos recurrentes con intervalo de tiempo corto después de la infección primaria (o la primera infección detectada en la base de datos) se consideró como un caso recrudescente probable: 7–24 días para *P. vivax* (WHO, 2021a) y 7–60 días para *P. falciparum* (Covell, 1960; Stepniewska et al., 2004).

Los conteos de datos se realizaron con Microsoft Excel y el análisis estadístico (al 95% de confianza) se realizó en Stata v14.2 (StataCorp LLC, College Station, Texas 77845-4512, EU) (StataCorp, 2015). Las variables evaluadas no mostraron distribución normal, por lo tanto, se utilizaron análisis estadísticos no paramétricos. Se calculó la mediana y el rango intercuartílico (RIC) del 25-75% para las variables numéricas, y se utilizó la prueba U de Mann-Whitney o la prueba de rangos de Kruskal-Wallis para comparar dos o más grupos independientes, respectivamente. El coeficiente de Spearman se estimó para evaluar el nivel de correlación entre dos variables numéricas independientes. Se utilizó la prueba de chi-cuadrada (χ^2) para determinar las diferencias en la frecuencia de dos o más grupos independientes.

Descripción de la zona de estudio.

Nicaragua es un país multiétnico y pluricultural ubicado en medio del istmo centroamericano. En 2020, se estimó una población de 6,518,478 (BANCO MUNDIAL, 2020) habitantes, de los cuales el 51% eran mujeres y el 49% hombres. De la población económicamente activa, el 74% tenía menos de 40 años. El país abarca 120,339 km², divididos en 15 departamentos y 2 regiones autónomas, con un total de 153 municipios.

Los municipios de la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte (RACCN) que fueron más afectados por el paludismo son Puerto Cabezas, Rosita y Waspam (Figura 1.1). Tienen un clima muy húmedo (subtropical) y una precipitación anual de entre 1900 y 3290 mm, y la temporada de lluvias se presenta de mayo a noviembre. Puerto Cabezas tiene una población multiétnica de 111,803 habitantes (predominantemente misquitos) y una extensión territorial de 5,985 km² en la costa caribeña. Aproximadamente el 95% de las personas tienen menos de 49 años. La economía

está impulsada principalmente por la pesca, la extracción forestal, la agricultura de subsistencia, la cría de animales y el comercio informal. La mayoría de la población vive en zonas inundables. La zona urbana de la ciudad de Puerto Cabezas se divide en 26 corregimientos, mientras que la zona rural del municipio consta de 99 localidades (Gobierno de Nicaragua, 2020). Rosita tiene un territorio de 2,205 km² con 36,309 habitantes, compuesta en su mayoría por mestizos. También habitan otras etnias, como los misquitos, magnyas y criollos. La principal actividad económica se basa en la agricultura y la ganadería. El área urbana se divide en 11 distritos. Aunque la mayoría de la gente vive en las áreas rurales, que constan de 80 localidades. El diagnóstico de paludismo se confirma rutinariamente mediante microscopía del frotis de sangre gruesa en instalaciones de laboratorio o mediante la aplicación de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) en áreas remotas e inaccesibles ("PLAN NACIONAL DE NICARAGUA EN EL MARCO DEL PLAN MESOAMERICANO PARA MEJORAR EL CONTROL DE LA MALARIA HACIA SU ELIMINACIÓN 2015," 2015). En Nicaragua, *Anopheles albimanus* y *An. pseudopunctipennis* son los principales vectores implicados en la transmisión del paludismo. Los mosquitos *An. albimanus* son la especie principal en la época de lluvias en todo el país, con pocas excepciones, y muestran mayor abundancia en los municipios con mayor transmisión ("Biología y Ecología de Anopheles albimanus Wiedemann en Centroamérica," 1996). En cambio, *An. pseudopunctipennis* prevalece en la época seca, especialmente en el municipio de Chinandega, debido a la abundancia de viveros establecidos para el cultivo de la caña de azúcar (Sinka et al., 2010).

Figura 1.1. Ubicación geográfica de Nicaragua y de los municipios más afectados por transmisión de paludismo. RAACN, Región Autónoma de la Costa Caribe Norte; W, Waspám ; PC, Puerto cabezas ; R, Rosita.



I. 9. Resultados

Base de datos de Casos de paludismo por especie, por año y a nivel nacional.

La base de datos secundaria de registros de casos nominales de paludismo reveló 36,787 casos de 2013 a 2018, de los cuales *P. vivax* fue responsable del 86.8 % de los casos. El número anual de casos de paludismo causados por *P. vivax*, *P. falciparum* o por infecciones mixtas se muestra en el cuadro 1.1. Anualmente, los casos de *P. vivax* oscilaron entre 79.5 y 91.4%, y la prevalencia de infecciones mixtas (con *P. falciparum*) varió de 0.1 a 0.

Cuadro 1.1. Registros de casos de paludismo de la fuente de datos secundaria de Nicaragua (2013–2018).

Especies de <i>Plasmodium</i>	Años (Número de Casos)						Total
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	
<i>P. vivax</i>	950	924	1880	4343	8959	14,501	31,557
<i>P. falciparum</i>	211	139	320	1104	2033	1319	5126
<i>Pv–Pf</i>	0	0	3	17	35	49	104
Total	1161	1063	2203	5464	11,027	15,869	36,787
% <i>P. vivax</i>	81.8	86.9	85.3	79.5	81.2	91.4	85.8
% <i>P. falciparum</i>	18.2	13.1	14.5	20.3	18.4	8.3	13.9
% <i>Pv–Pf</i>	0	0	0.1	0.3	0.3	0.3	0.3
NI	4	2	0	70	0	1	77

NI, la especie de *Plasmodium* no se indica y no se incluye en los conteos; *Pv*, *P. vivax*; *Pf*, *P. falciparum*.

Objetivo 1.- Identificar los casos recurrentes por *P. vivax* en la base de registro nominal 2013-2018. Objetivo 2.- Determinar la incidencia de recaídas en pacientes afectados por *P. vivax* y tratados según esquema nacional durante 2013-2018.

Pacientes con infección sanguínea recurrente por P. vivax a nivel nacional

De un total de 3,624 pacientes con paludismo por *P. vivax* encontramos registro de al menos una infección recurrente (R) con una latencia ≥ 7 días, con la misma especie o *P. falciparum* o una infección mixta. De estos pacientes, el 88.2% tuvieron al menos una recurrencia (R1) con *P. vivax* (3,196 pacientes y acumulando 7,324 infecciones por *P. vivax* o el 13.2% del total de casos registrados para esta especie). Las infecciones recurrentes se agruparon por el intervalo de tiempo entre la infección primaria (PI) y recurrente (R1), o entre R1 y R2, y así sucesivamente.

Del total de episodios recurrentes de *P. vivax*, el 88% correspondió con intervalo para R1 de 25 - 450 días (51.9% correspondió a mujeres y 48.1% a hombres); este intervalo para el caso recurrente por la misma especie (*P. vivax*) se ha sugerido previamente para la región (Gonzalez-Ceron et al., 2013; Mason, 1975). Para este intervalo hubo una ligera diferencia en edad por sexo: 22 años para las mujeres (RIC 15-34) y 21 años para los hombres (RIC 14-32; Mann-Whitney, $z = 3.009$, $p = 0.002$). Aparte de esto, en relación con el resto de las infecciones recurrentes de mayor intervalo de tiempo no se detectaron diferencias en la edad por sexo ($n = 375$, $z = 0.16$, $p = 0.86$). En general, no se detectaron diferencias significativas en el intervalo para la recurrencia de la infección sanguínea con el grupo de edad y el sexo ($\chi^2 (5) = 8.48$; $p = 0.131$) (Figura 1.2).

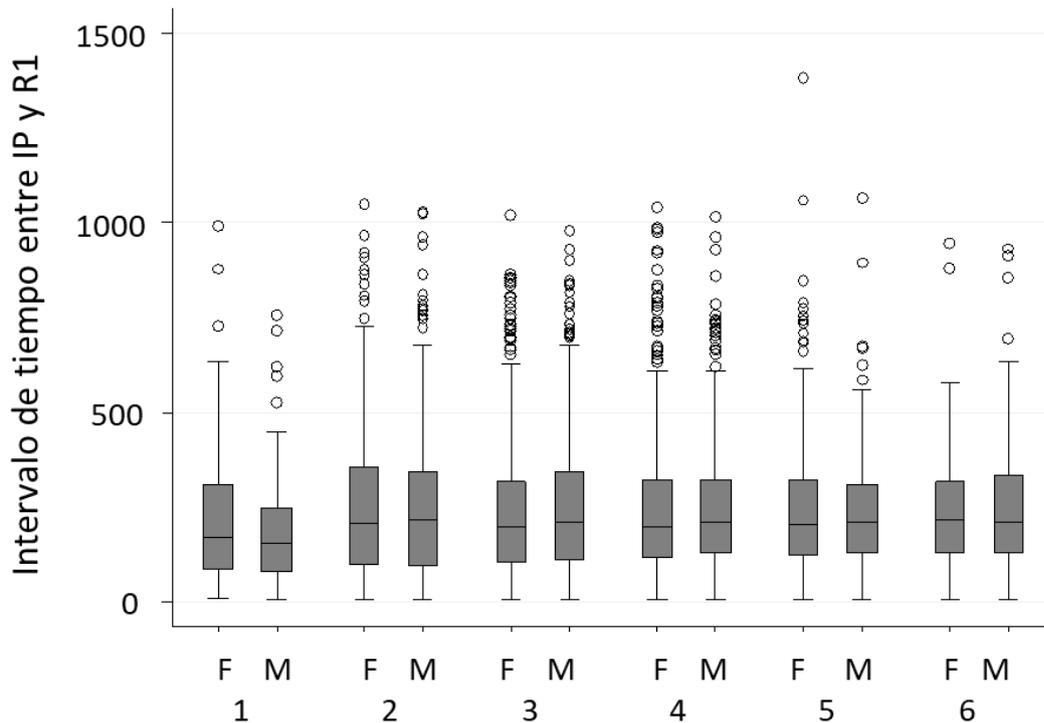


Figura 1.2. Relación entre el intervalo de tiempo (≥ 25 días) entre el caso primario (IP) y el primer caso recurrente de *P. vivax* (R1) con el sexo y la edad, en Nicaragua, 2013 - 2018. Grupos de edad: 1, 0–5 ($n = 101$); 2, 6–15 ($n = 371$); 3, 16–25 ($n = 470$); 4, 26–40 ($n = 363$); 5, 41–55 ($n = 128$); 6, >55 ($n = 81$). Se encontró una asociación entre el intervalo de tiempo en días y la edad en el grupo de mujeres (Wilcoxon: $\chi^2(5) = 11.57$; $p = 0.041$). Si el intervalo de tiempo se limita a 25–450 días, la significancia se pierde ($\chi^2(5) = 8.48$; $p = 0.131$). F, femenino; M, masculino.

Considerando el intervalo de tiempo de 25-450 días entre IP y R1 ($n = 2,786$), la mediana fue de 186 días (RIC 105-275), ligeramente menor que cuando se consideran todos los casos recurrentes R1 (≥ 25 días) (Figura 1.3). El intervalo entre los episodios recurrentes de *P. vivax* R1 y R2 fue más corto ($n = 633$, mediana = 135/RIC 73-236) que el detectado entre la infección primaria y R1, así mismo el intervalo de las recurrencias R2-R3 fue menor ($n = 177$, mediana = 108/RIC 63-202) que el calculado para R1-R2 y así sucesivamente ($\chi^2(3) = 136.2$, $p = 0.0001$; Figura 1.3). Lo que podría sugerir algunas excepciones para los primeros episodios recurrentes (R1), más temprana que 25 días; 18-22 días.

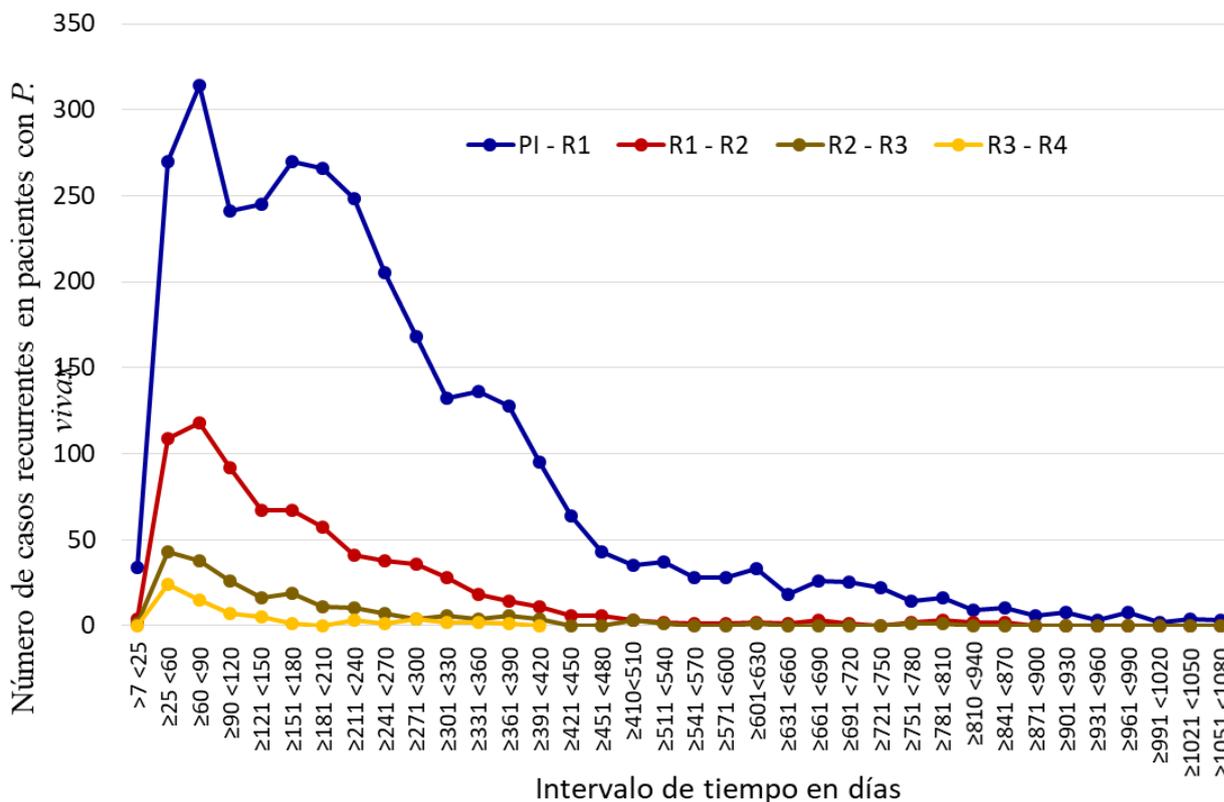


Figura 1.3. Pacientes con infecciones recurrentes por *P. vivax* en Nicaragua, categorizadas por el intervalo de tiempo, 2013 - 2018. El intervalo entre la infección primaria (PI) y la primera recurrencia (R1) ≥ 25 días (en azul; $n = 3166$, mediana = 208/RIC, 117 –334), entre R1 y R2 (en naranja; mediana = 135/IQR, 73-236), entre R2 y R3 (en gris; mediana = 108/RIC 63-202), y entre R3 y R4 (en amarillo; mediana = 72/RIC, 54-132). El intervalo de tiempo de los casos recurrentes disminuyó a medida que aumentó el número de episodios R ($\chi^2 (3) = 136.2$, $p < 0.001$).

En relación con la administración de PQ, el 88,6% de esos pacientes fueron anotados para recibir el tratamiento de 7 días, y todas las dosis fueron registradas como supervisadas “en boca”. Del otro 11.4% de los pacientes, no existía información para el 9%, mientras que la medicación se tomó durante un período de 4 a 34 días (excluyendo 7 días) para el 2.4%. Hubo 34 casos de infección recurrente por *P. vivax* con una latencia de 7 a 24 días (detectados en ambos sexos y para diferentes edades; $z = -0.462$, $p = 0.643$). La recurrencia de infección primaria y recurrencias por *P. falciparum* también se presentaron en ambos sexos y todos os grupos de edad ($z = -0.307$, $p = 0.758$) (ver Anexo 1). De los pacientes con *P. vivax*, un paciente tuvo un total de tres casos (con recurrencia R1 a los 23 días post- IP, y la segunda a los 178 días después de la R1. Otros dos pacientes tuvieron cuatro episodios de *P. vivax*; uno

con recurrencia R1 a los 18 días y la R2 y R3 los días 337 y 390 días después de la IP, y el otro paciente con casos recurrentes a los 22, 297 y 496 después de la IP.

Del total de pacientes con infecciones recurrentes por *P. vivax* (latencia de 25 a 450 días), se identificaron 88.2% en el municipio de Puerto Cabezas, 4.4% en Rosita y 3.1% en Waspán en la RACCN. El resto se distribuyó entre los municipios restantes.

Proporción e intervalo de tiempo de los casos recurrentes por P. vivax en los Municipios de Puerto Cabezas y Rosita, RACCN (2013–2018)

Los municipios de Puerto Cabezas y Rosita difirieron en cuanto al número de casos registrados y a la frecuencia de infecciones por *P. vivax* versus *P. falciparum* durante 2013–2018 y fueron seleccionados para un análisis más detallado. El porcentaje de pacientes con una o más infecciones recurrentes por *P. vivax* y con un intervalo de ≥ 25 días para la R1 se ilustra en la Cuadro 2a. La nación en su conjunto y Puerto Cabezas tuvieron proporciones similares de pacientes con una o más infecciones recurrentes (casos R1-R6; $\chi^2 = 1.7$, $p = 0.78$), mientras que, en Rosita, para $>90\%$ de los pacientes se registró solo un episodio recurrente de *P. vivax* (Cuadro 1.2). Por el contrario, en ambos municipios, fue común que los pacientes con recurrencias de *P. falciparum* registraran una sola infección homóloga recurrente.

Durante 2013–2018, el municipio de Rosita acumuló el 10.5% del total de casos de paludismo en Nicaragua. De estos, el 66.5% correspondió a *P. vivax* y el 33% a *P. falciparum*, siendo el 0.44% infecciones mixtas. De los casos de *P. vivax*, el 82% se reportó en la población mestiza, seguido del 13% para la población misquita y el 4.9% de los mayangnas viviendo en ese municipio. Del total de casos de paludismo en Rosita, el 90% fueron detectados por vigilancia pasiva, correspondiendo el 45.5% a mujeres y el 54.5% a hombres.

Cuadro 1.2. Porcentaje de pacientes con infecciones recurrentes por *P. vivax* (con intervalo ≥ 25 – 450 días entre la infección primaria y la primera recurrencia) versus total de pacientes con infecciones recurrentes en Nicaragua y dos municipios de la RACCN durante el periodo 2013-2018.

Número de infecciones	Nicaragua (%) <i>n</i> = 3,163	Municipio de Puerto Cabezas (%) <i>n</i> = 2,789	Municipio de Rosita (%) <i>n</i> = 139
2	77.2	75.3	90.7
3	16.7	17.9	7.2
4	4	4.4	2.1
5	1.2	1.3	0.7
6	0.6	0.7	-
7	0.09	0.1	-

RACCN, Región Autónoma de la Costa Caribe Norte. Las frecuencias de pacientes con diferentes infecciones recurrentes entre Puerto Cabezas y Rosita fueron diferentes ($\chi^2 = 14.1$, $p = 0.006$), pero no hubo diferencia entre los datos a nivel nacional versus los datos del municipio de Puerto Cabezas ($\chi^2 = 1.71$, $p = 0.78$).

Por otro lado, el 67.6% del total de casos de paludismo en Nicaragua del 2013 al 2018 se ubicó en el municipio de Puerto Cabezas, RACCN. De estos, el 91.5% fueron registrados con *P. vivax*, el 8.1% por *P. falciparum* y sólo el 0.3% por infecciones mixtas. Las estrategias de vigilancia pasiva y activa detectaron el 63% y el 37% de los casos recurrentes de paludismo, respectivamente, y el 50.7% se encontraron en mujeres y el 49.2% en hombres, siendo el 95% de los pacientes misquitos; el grupo étnico predominante en la región.

En Rosita, 185 pacientes tenían al menos una infección recurrente por una especie de *Plasmodium* con intervalo de 25 - 450 días después de la infección sanguínea primaria. De estos pacientes, el 66.4% presentó recurrencia de *P. vivax* y el 8.9% padeció una infección por *P. falciparum*. Solo tres se registraron con infección mixta (Pv-Pf) en el caso primario o infección recurrente (PI o R1, respectivamente). De los 2,702 pacientes de Puerto Cabezas con al menos una recurrencia de una infección por *Plasmodium* e intervalo de 25 - 450 días después de la infección sanguínea primaria, el 91% de las fueron producidas por *P. vivax*. Además, el 2.2% de los pacientes con infecciones recurrentes por *P. vivax* sufrieron una infección por *P. falciparum* en algún momento durante el período de estudio; antes o después de la infección con *P. vivax*.

La Figura 1.4 muestra el número de casos de *P. vivax* y la proporción de casos recurrentes versus casos totales de *P. vivax* categorizados por año. En Rosita, *P.*

vivax predominó durante 2013–2015 (91–95%) y el número de casos aumentó 2016–2018, pero la proporción de casos de *P. vivax* disminuyó a 64, 50 y 65% por año, respectivamente (Figura 1.4A1). Si bien Puerto Cabezas tuvo menos casos de paludismo que Rosita en 2013 y 2014 (145 frente a 221 y 133 frente a 239, respectivamente), el número de casos en Puerto Cabezas aumentó a 588 en 2015 y a 12,683 en 2018. Del total de casos de paludismo, el porcentaje de *P. vivax* en Puerto Cabezas en 2015–2018 varió del 83 al 94% (Figura 1.4B1).

La proporción de casos recurrentes en pacientes con *P. vivax* con intervalo de tiempo de 25 a 450 días variaron en los distintos años de estudio, del 1.8 al 7% con respecto al total de casos de *P. vivax* en Rosita (Figura 1.4A2) y de 0.8 al 14.5% en Puerto Cabezas (Figura 1.4B2). En el 2017, la mayor proporción (7%) de recurrencias se detectó en Rosita, y fue un poco menor que la calculada para Puerto Cabezas. En este municipio, la tasa de casos recurrentes aumentó con el número de casos de *P. vivax*, especialmente del 2016 al 2018 ($\chi^2 = 367.8$, $p < 0.0001$), mientras que en Rosita no se observó esta tendencia ($\chi^2 = 6.9$, $p = 0.13$). En el 2018, año con mayor reporte de casos en Puerto cabezas por *P. vivax* y mayor número de recurrencias R1 de 25 a 450 días (>14%), también las recurrencias >450 días o posibles reinfecciones se incrementaron al 2%. Para todo el período y para la población afectada por *P. vivax* ($n = 22,715$), la proporción de infecciones recurrentes R1 de *P. vivax* con latencia de 25 a 450 días fue mayor en Puerto Cabezas (10.8 %) que en Rosita ($n = 2,593$, 4.8 %; $\chi^2 = 92.5$, $p < 0.0001$).

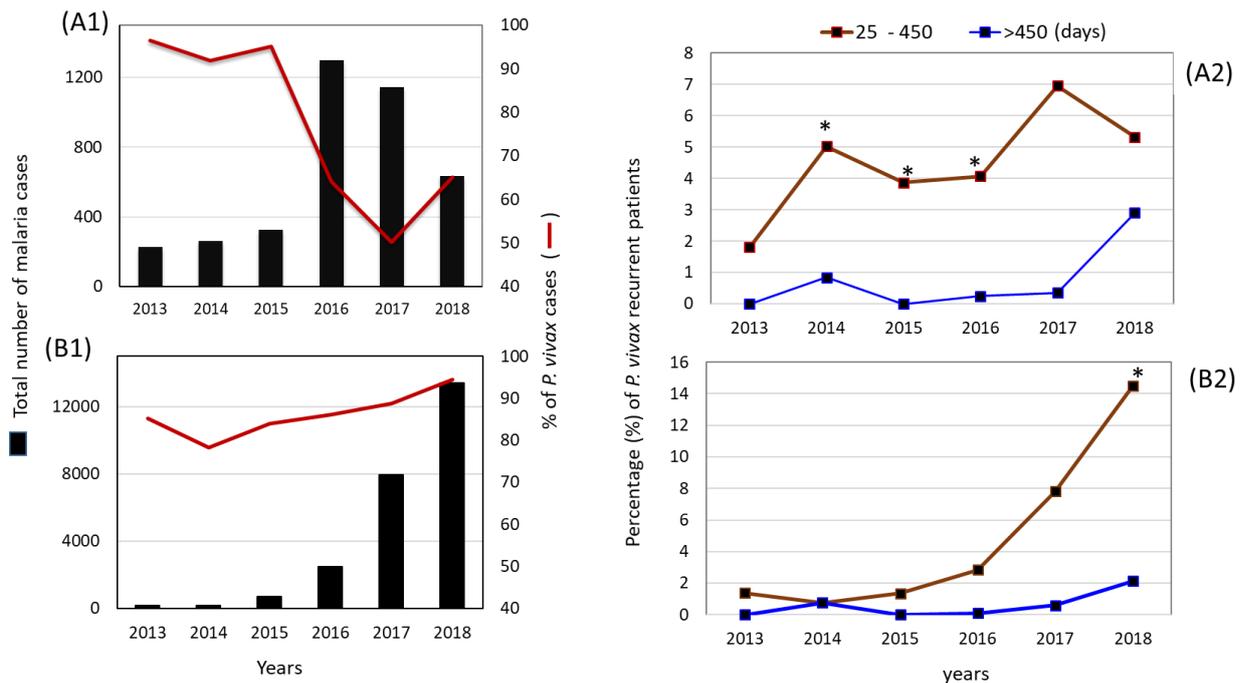


Figura 1.4. Número de casos de *P. vivax* por año y la proporción de pacientes con infección recurrente homologa (R1) en dos municipios del RACCN, Nicaragua, 2013 - 2018. (A) Rosita, (B) Puerto Cabezas. En A1/B1 se indica el número de casos totales por municipio y la proporción de casos de *P. vivax*. Casos por año: Puerto Cabezas (2013 = 145 casos, 2014 = 133, 2015 = 588, 2016 = 2,117, 2017 = 7049, 2018 = 12,683); Rosita (2013 = 221 casos, 2014 = 239, 2015 = 310, 2016 = 834, 2017 = 575, 2018 = 413). En A2/B2, los casos recurrentes de *P. vivax* se representan como un porcentaje del número total de pacientes con *P. vivax*. La recurrencia se ilustra según el intervalo de tiempo en días (entre la infección sanguínea primaria y la recurrente (R1): de 25 a 450 días (en marrón, el número de pacientes con infecciones recurrentes) y más de 450 días (en azul). Para los años 2014–2016*, la proporción de casos recurrentes de *P. vivax* fue mayor en Rosita que en Puerto Cabezas (2014: $\chi^2 = 4.6$, $p = 0.031$; 2015: $\chi^2 = 5.9$, $p = 0.015$; 2016: $\chi^2 = 67.5$, $p < 0.0001$), y para 2018**, el porcentaje fue mayor* en Puerto Cabezas que en Rosita ($\chi^2 = 26.1$, $p < 0.0001$).

Distribucion temporal de los casos recurrentes R1 por su intervalo de tiempo vs total número de infecciones en los municipios de Rosita y Puerto Cabezas, RACCN

Para determinar si había patrones de casos recurrentes en pacientes afectados por *P. vivax*, los pacientes de Rosita (por reportar menor número de casos que Puerto cabezas) se alinearon todos al día de la primera infección (IP) y se trazaron los casos recurrentes según la semana de ocurrencia después de la IP, se observó que los puntos fueron distribuidos en todas las semanas (Figuras 1.5 y Anexo 2), y distribuidos en múltiples barrios de la cabecera municipal así como en localidades de todo el municipio. En la figura 1.5B observamos la presencia el primer caso o IP y los casos recurrentes de 25 a 450 días, además los casos con *P. falciparum* que

presentaron 8.6% de estos pacientes, la mayoría antes o después del caso recurrente por *P. vivax*. Para los casos recurrentes en pacientes con *P. vivax* del municipio de Puerto cabezas fueron demasiados para mapearlos.

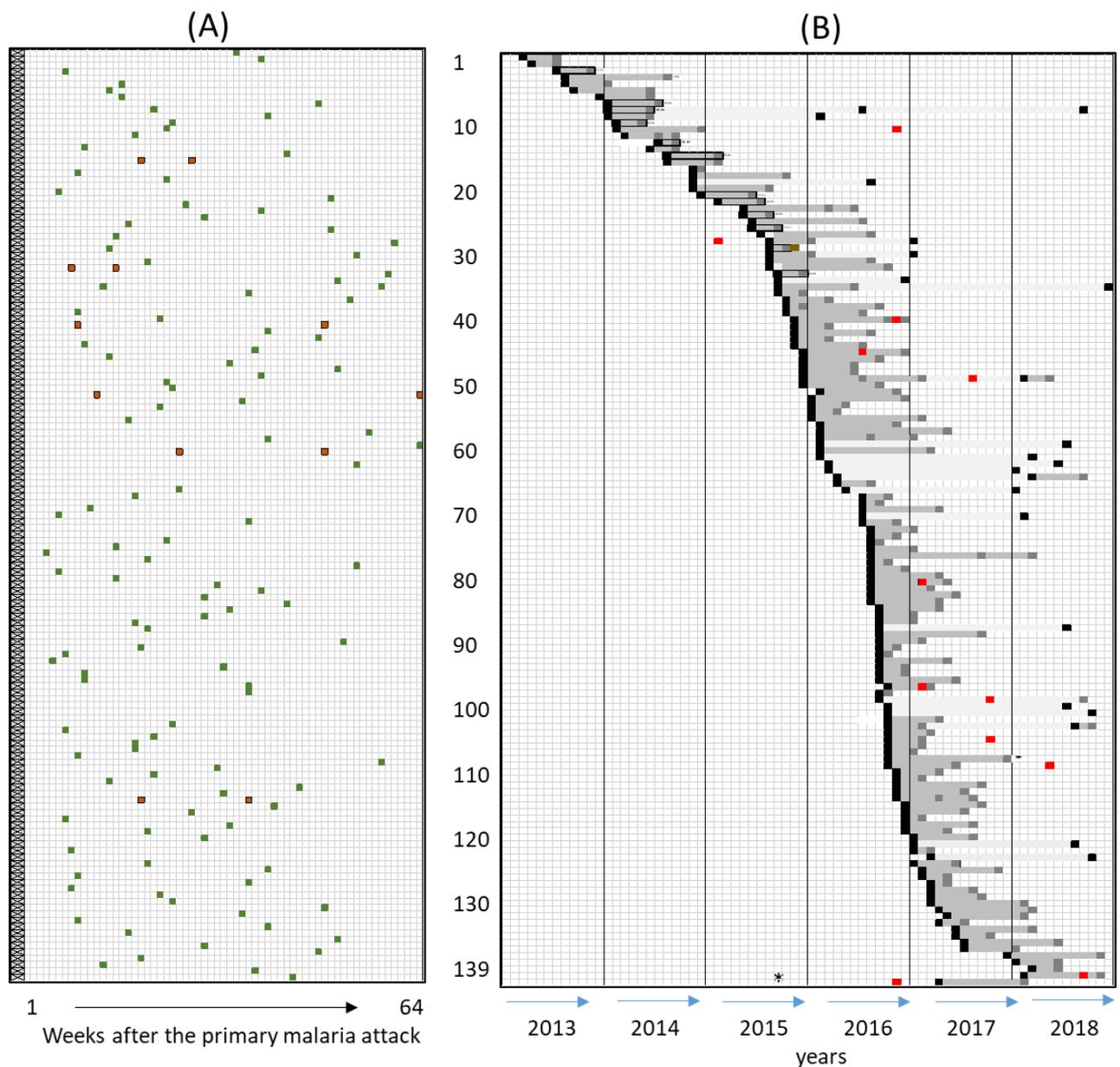


Figura 1.5. Distribución temporal de casos recurrentes de *P. vivax* por paciente, en el municipio de Rosita, Nicaragua, 2013-2018. Un caso de malaria se indica en el mes que se diagnostico diagnostico. A). lista los pacientes y la distribución de los casos recurrentes en la semana correspondiente (dentro de las 64 semanas) y posteriores al caso primario de *P. vivax*. El caso inicial se muestra en la primera semana (con una cruz), y los los casos recurrentes en verde, y los que tienen más de un caso recurrente en naranja. B). Se supuso que el primer caso detectado era el caso primario (primer recuadro en negro). Solo aquellos con intervalo de tiempo ≥ 25 y ≤ 450 días están en gris/gris oscuro (intervalo de tiempo). Algunos de estos pacientes también tenían una infección por *P. falciparum* (indicada en rojo). Cuatro de los 141 pacientes tenían una infección mixta (Pv+Pf) en el caso de infección primaria o recurrente por *P. vivax*.

Para visualizar y comparar los casos recurrentes de los municipios analizados, el número de casos de *P. vivax* y los episodios recurrentes (por su intervalo de tiempo) se acumularon mensualmente y se graficaron para ambos municipios. Se observó que la altura y amplitud de los picos de transmisión variaron cada año y entre municipios. En Rosita, los casos de *P. vivax* fueron pocos durante enero-junio del 2015; después, comenzó la temporada de transmisión y en agosto alcanzó una meseta con algunas fluctuaciones que se prolongaron hasta enero del 2016. Este último año, en septiembre se observó otro pico alto de casos; luego, el número de casos descendió gradualmente a un nivel moderado durante tres meses (de diciembre del 2016 a febrero del 2017). Mientras, los casos disminuyeron al número más bajo en abril del 2017 (Figura 1.6). Posteriormente, el número de casos por mes continuó bajo con fluctuaciones en el tiempo. Independientemente del número de infecciones recurrentes (R_1), se observó un patrón punteado, con una pendiente que nace de un pico de transmisión al siguiente, que fue más evidente cuando se registraron más casos e infecciones recurrentes entre los años 2015 y 2017 (Figura 1.6). En Puerto Cabezas, los casos de *P. vivax* aumentaron discretamente en agosto-diciembre del 2015, aumentando aún más después de junio del 2016 y alcanzando una meseta que se mantuvo hasta junio del 2017.

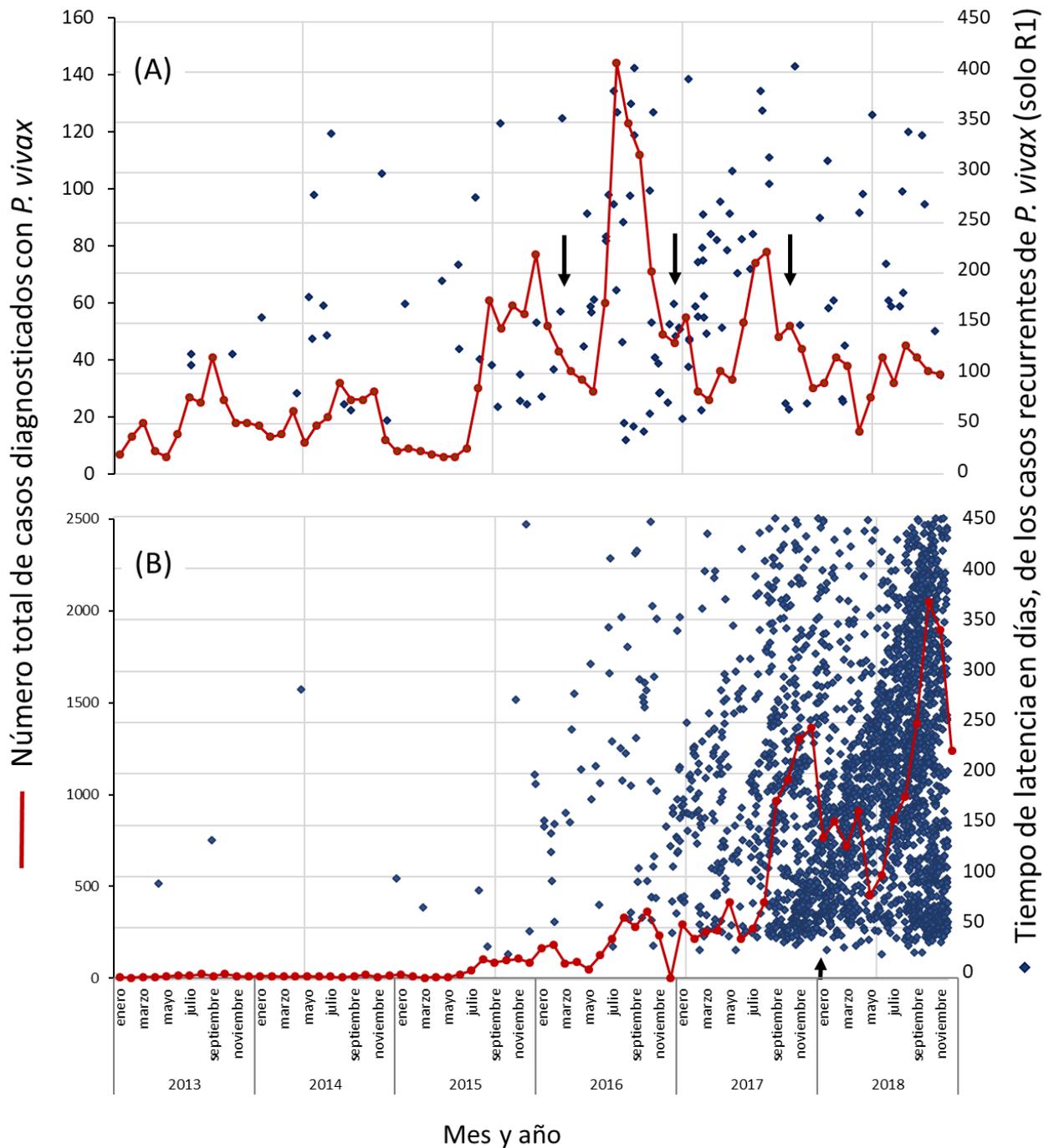


Figura 1.6. Distribución temporal del total de las infecciones por *P. vivax* de 2013 a 2018 versus infecciones recurrentes R1 en Nicaragua, 2013-2018. Se muestra el total de casos de *P. vivax* por mes (línea roja) y los casos recurrentes (diamantes azules) con intervalo de tiempo de 25 a 450 días. Los diamantes se colocan según el intervalo de tiempo (en días) de la primera infección recurrente después de la infección primaria. A) Rosita; B) Puerto Cabezas. R1 representa el 91.8 % y el 73.6 % de todos los casos recurrentes en pacientes afectados por *P. vivax* y una latencia de 25–2450 en R1 en Rosita y Puerto Cabezas, respectivamente. Las flechas negras señalan la extensión de los principales picos de transmisión.

Posteriormente, los casos aumentaron rápidamente, presentando un pico en diciembre, seguido de una reducción moderada que se mantuvo hasta abril del 2018, pero en mayo los casos disminuyeron nuevamente. En junio, los casos aumentaron y alcanzaron un pico en octubre, y disminuyeron en diciembre, último mes analizado. En este municipio, las infecciones recurrentes formaron un patrón punteado (como se observó en Rosita), que normalmente emerge de los picos de casos hasta más allá del siguiente pico. En los últimos años, los casos recurrentes de todos los intervalos aumentaron con la transmisión. De hecho, el patrón de puntos estuvo muy saturado para 2017-2018 cuando sólo se mostraron los casos R1 (alrededor del 73 % de todos los casos recurrentes detectados), y especialmente considerando que solo se incluyó una proporción de recurrencias para 2018, muchos de los pacientes afectados en el 2018 podrían presentar casos recurrentes por recaídas en el 2019. Cuando la transmisión alcanzó su punto máximo en noviembre de 2017. En un solo mes se produjeron 1,400 casos de *P. vivax*: cuatro veces más que el año anterior.

Se realizó una comparación de las frecuencias de casos recurrentes categorizados con un intervalo corto-moderado (25-180 días) o largo (181-450 días) que ocurrieron durante las estaciones de seca y lluviosa, que comprenden los picos de alta transmisión en Rosita y Puerto Cabezas (Figura 1.7, Cuadros 1.3A/B). En ambos municipios, durante la temporada alta de transmisión de paludismo, se observó que los casos recurrentes de ambos períodos de latencia fluctuaron en el tiempo (Figura 1.7). En Rosita, durante la temporada de lluvias en 2016 y 2017, se detectó una mayor proporción de casos recurrentes de intervalo de tiempo largo que de los de corto-moderado intervalo (Cuadro 1.3). Para los mismos años y durante la época seca se observó un patrón opuesto; Se estimó una mayor proporción de recurrencias de latencia corta que de latencia larga. En Puerto Cabezas, durante el período de mayor transmisión en 2017, el 52,6 % de los casos recurrentes fueron de latencia corta y, en el período siguiente, esta proporción aumentó a 65 %. Se observó que la transmisión moderada se mantuvo hasta abril del año siguiente (2018) (Figura 1.7B, Cuadro 1.3B). En el período siguiente, se invirtió la proporción de casos recurrentes cortos versus largos; los de larga latencia aumentaron al 65% (Figura 1.7B). En Rosita y Puerto Cabezas y para todos los períodos analizados, se detectaron casos primarios de *P. vivax* vinculados a recurrencia posterior en

diferentes proporciones, y la proporción general fue mayor para Puerto Cabezas ($\chi^2 = 150.4$, $p < 0.0001$; Cuadro 1.3A/B). Además, el mayor número de esos casos recurrentes coincidió con el período de mayor número de casos registrados de *P. vivax* (Figuras 1.6 y 1.7).

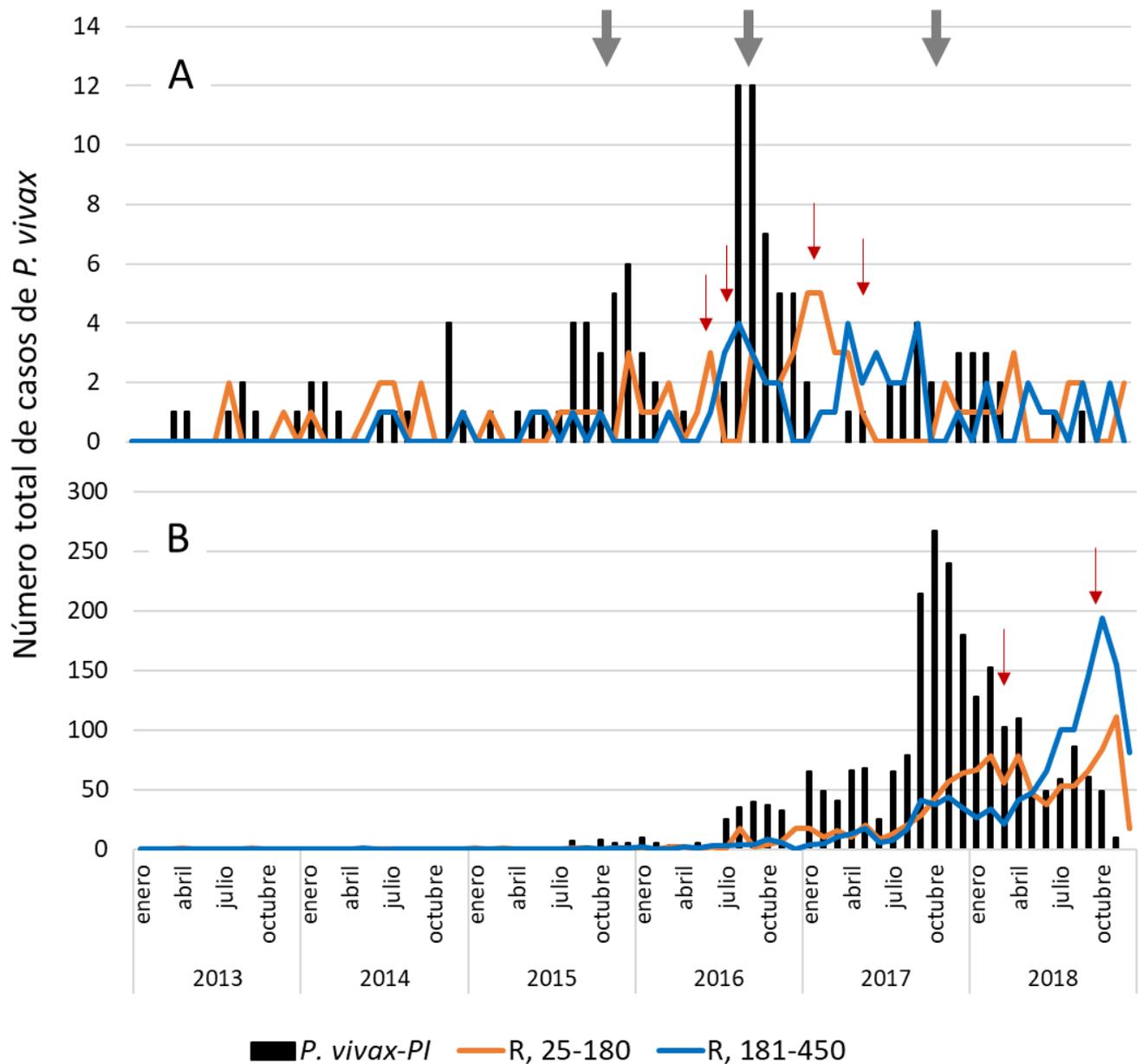


Figura 1.7. Frecuencia de casos recurrentes de *P. vivax* con corto-mediano y largo intervalo de tiempo, en dos municipios de Nicaragua, 2013-2018. Se indican únicamente las infecciones primarias (PI) relacionadas con episodios recurrentes (R1) posteriores, en Rosita (A) y Puerto Cabezas (B), RACCN, Nicaragua. En ambos municipios se presentaron casos recurrentes con intervalo corto-moderado (25-180 días) o largo (181-450 días) antes y/o durante el pico de transmisión, y observándose cierta alternancia en algunos períodos de tiempo (fechas) No se evaluó el pico de transmisión que tuvo lugar en 2018, ya que se requieren los datos de casos del año

siguiente (2019). Las flechas grises señalan los picos de transmisión observados en la Figura 1.3.

Cuadro 1.3. Comparación de los casos recurrentes de *P. vivax* con intervalo de tiempo. Corto-moderado (de 25 a 180 días) y largo (181 a 450 días), los casos primarios vinculados a casos recurrentes posteriores y comparaciones entre las estaciones lluviosa y seca en el municipio de (a) Rosita (junio 2015-noviembre 2017) y (b) Puerto Cabezas (diciembre de 2016 a noviembre de 2018), RACCN, Nicaragua.

(A)						
Parámetros	Estación/periodo					Estadística (comparación de todos los grupos)
	Lluvia	secas	lluvia	secas	Lluvia	
	junio– noviembre 2015	diciembre 2015–mayo 2016	junio– noviembre 2016	diciembre 2016–mayo 2017	junio– noviembre 2017	
Número de casos de <i>P. vivax</i>	216	302	533	241	338	
Casos vinculados a episodios recurrentes posteriores (%)	8.3	3.9	7	3	3.7	$\chi^2 = 9.6, p = 0.046$
Número e intervalo de tiempo de la R1:						
<i>N</i>	6	9	21	28	13	
Corto-moderado: 25–180 días (%)	66.6	88.8	33.3	71.4	15.3	$\chi^2 = 11.04, p = 0.026$
Largo: 181–450 días (%)	33.3	11.2	66.7	28.6	84.7	
<i>Comparaciones</i>		$\chi^2 = 7.7, p = 0.005$		$\chi^2 = 16.6, p < 0.0001$		
	$\chi^2 = 1.1, p = 0.69$		$\chi^2 = 9.03, p = 0.007$			

(B)						
Parámetros	Estación/periodo				Estadística (comparación de todos los grupos)	
	Secas	Lluvia	secas	lluvia		
	diciembre 2016–mayo 2017	junio– noviembre 2017	diciembre 2017–mayo 2018	junio– noviembre 2018		
Número de casos de <i>P. vivax</i>	1439	4251	5062	n.d.		
Casos vinculados a episodios recurrentes posteriores (%)	20	20	14 *	n.d.	$\chi^2 = 76.7, p < 0.0001$	
Número e intervalo de tiempo de la R1:						
<i>N</i>	142	325	598	1111		
Corto-moderado: 25–180 días (%)	64.7	52.6	65	35		
Largo: 181–450 días (%)	35.3	47.4	35	65	$\chi^2 = 211.8, p < 0.0001$	
<i>Comparaciones</i>		$\chi^2 = 5.9, p = 0.014$		$\chi^2 = 132.2, p < 0.0001$		
	$\chi^2 = 10.1, p = 0.001$					

Para el período junio-noviembre de 2018, no fue posible determinar el número de casos de *P. vivax* vinculados a los casos recurrentes posteriores (n.d., no determinado; no se incluyó información de casos recurrentes para 2019). *Los números pueden estar subestimados ya que no se incluyó información de 2019 en el análisis.

No se detectaron diferencias en la distribución de días de latencia entre 25-450 días entre casos R1 vs IP entre Puerto Cabezas y Rosita ($z = 0.44$, $p = 0.65$) ni entre géneros ($\chi^2 = 0.20$, $p = 0.64$). En el grupo de mujeres de Puerto Cabezas la edad fue mayor en comparación con el de Rosita (Rosita: $n = 61$, mediana = 19/RIC 14-16 vs. Puerto Cabezas: $n = 1265$, mediana = 23/RIC 15-35; $z = -2,479$, $p = 0.013$).

*Parasitemia (Parasitos/ μ L) en Pacients con infecciones recurrent con *P. vivax**

Del total de pacientes recurrentes de *P. vivax* con intervalo a la recurrencia de 25 a 450 días, el 73% y el 80% tenían registros de densidad parasitaria para el caso primario y la recurrencia R1, respectivamente. Estos datos se registraron solo para los años 2017 y 2018, y la gran mayoría (>94%) de los casos con infección recurrente por *P. vivax* y densidad parasitaria procedían de Puerto Cabezas, RACCN. El valor de rho de Spearman entre la parasitemia en infecciones PI o R1 y la edad fue cercano a cero (para PI, $n = 1986$; rho de Spearman = -0.06 ; $p = 0.029$). Se encontró una pobre correlación positiva entre la parasitemia en la primoinfección por *P. vivax* y los días con síntomas previos al diagnóstico ($n = 1903$; rho de Spearman = 0.209 ; $p < 0.001$). Para las recurrencias R1, la parasitemia e intervalo de tiempo tuvieron un valor negativo muy bajo para la rho de Spearman = -0.109 ($n = 2123$, $p < 0.001$).

Los datos acumulativos de densidades de parásitos para infecciones primarias y recurrentes por *P. vivax* se muestran en la Figura 1.10. Una densidad de parásitos superior a 10,000 parásitos/ μ L fue más frecuente en las recurrencias R1 ($n = 2,123$, 19 %), R2 ($n = 545$, 9.8 %), y R3 ($n = 312$, 16.2%) que en la PI ($n = 37$, 3.7%). Por lo tanto, las infecciones recurrentes (R1-R3) exhibieron una mediana más alta para la densidad de parásitos que las infecciones primarias (Figura 1.10). Independientemente del intervalo de tiempo, se detectó una diferencia significativa

entre los grupos (Kruskal-Wallis: $\chi^2 [5] = 79.7, p < 0.001$), con mayor parasitemias en R1, R2, R3 que en la IP.

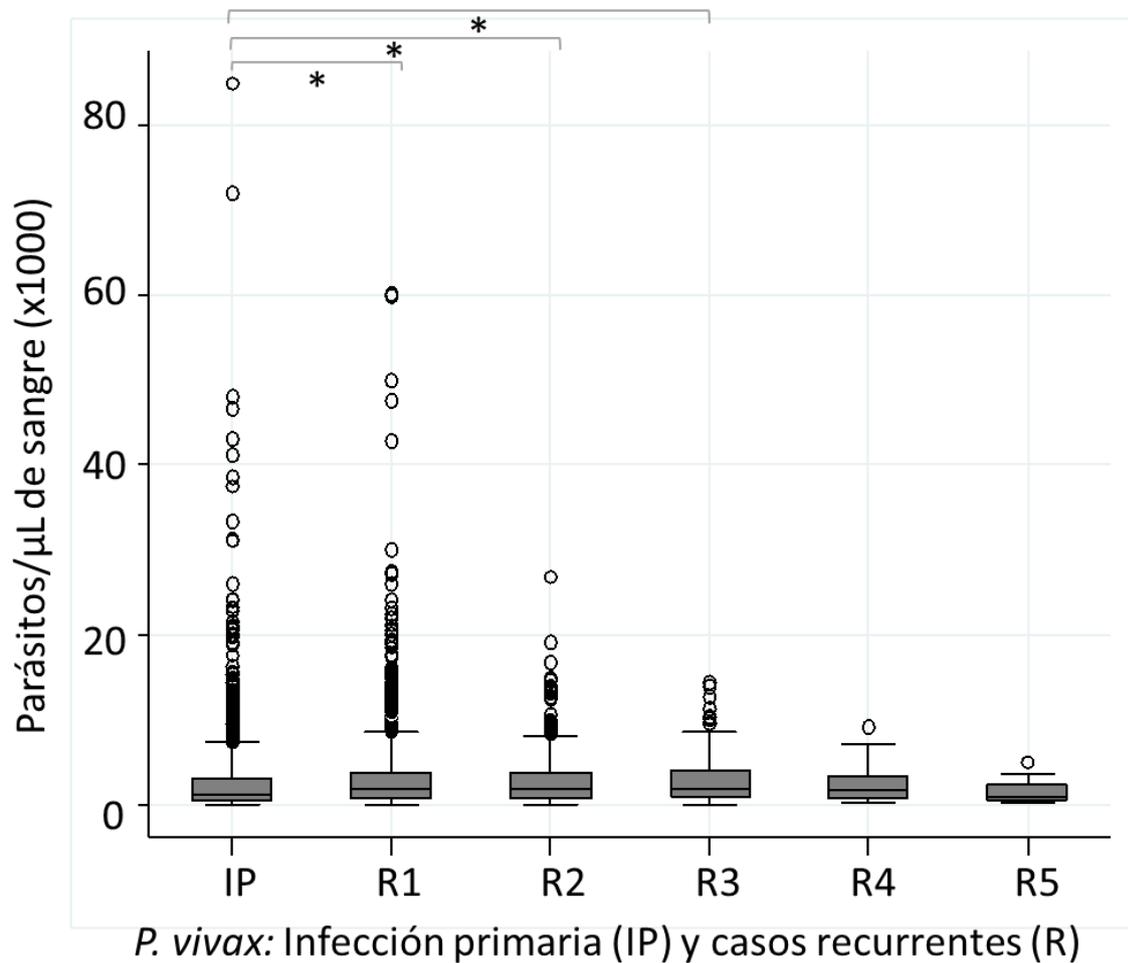


Figure 1.8. Parasitemia por *P. vivax* en infecciones sanguíneas de casos primarios y casos recurrentes en pacientes de Puerto Cabezas, RACCN, Nicaragua. Datos agregados de la infección primaria ($n = 1986$) e infecciones recurrentes, R1 ($n = 2123$), R2 ($n = 545$), R3 ($n = 132$), R4 ($n = 37$), and R5 ($n = 17$) Kruskal–Wallis: $\chi^2 (5) = 79.7, p < 0.001$. Se indican con un asterisco las comparaciones con diferencia significativa al 95%. PI (mediana = 1,200, RIC 360–3,120) versus R1 (mediana = 1,740, RIC 660–3,870); $z = -7.78, p < 0.001$. PI vs. R2 (mediana = 1,860, RIC 720–3,750; $z = -5.95, p < 0.0001$), and PI vs R3 (mediana = 1,875, RIC 885–3,990; $z = -3.76, p = 0.0002$). La parasitemia fue registrada en parásitos/μL de sangre.

Además, se detectó una pobre correlación al comparar la densidad de parásitos en las infecciones primarias y R1 ($n = 1784$, rho de Spearman = 0.138; $p < 0.0001$), así como entre las infecciones R1 y R2 ($n = 495$, rho de Spearman = 0.109,

$p = 0.015$) (Anexo 3). A nivel individual, la densidad de parásitos para PI y las infecciones recurrentes subsiguientes no mostraron ningún patrón (Anexo 4).

En cuanto a la parasitemia asintomática, solo 34 casos con infección primaria fueron identificados en pacientes recurrentes por *P. vivax*. De las primeras infecciones recurrentes (R1), hubo 108 casos presumiblemente asintomáticos versus 2,015 casos sintomáticos con registros de parasitemia; los primeros mostraron una menor densidad de parásitos en sangre que los segundos (mediana = 960 (IQR, 360-1,830) versus 1,800 (IQR, 690-3,960) parásitos/ μL ($z = 5.23$, $p < 0.0001$) (Figura 1.13). Par la recurrencia R3 hubo 25 casos asintomáticos y 520 sintomáticos con parasitemia mayor en los casos sintomáticos ($z = 4.19$, $p < 0.0001$) y para R3 los pacientes fueron en menor número; 4 asintomáticos y 128 sintomáticos y sin diferencia en la parasitemia ($z = 1.55$, $p = 0.120$) (Figura 1.9).

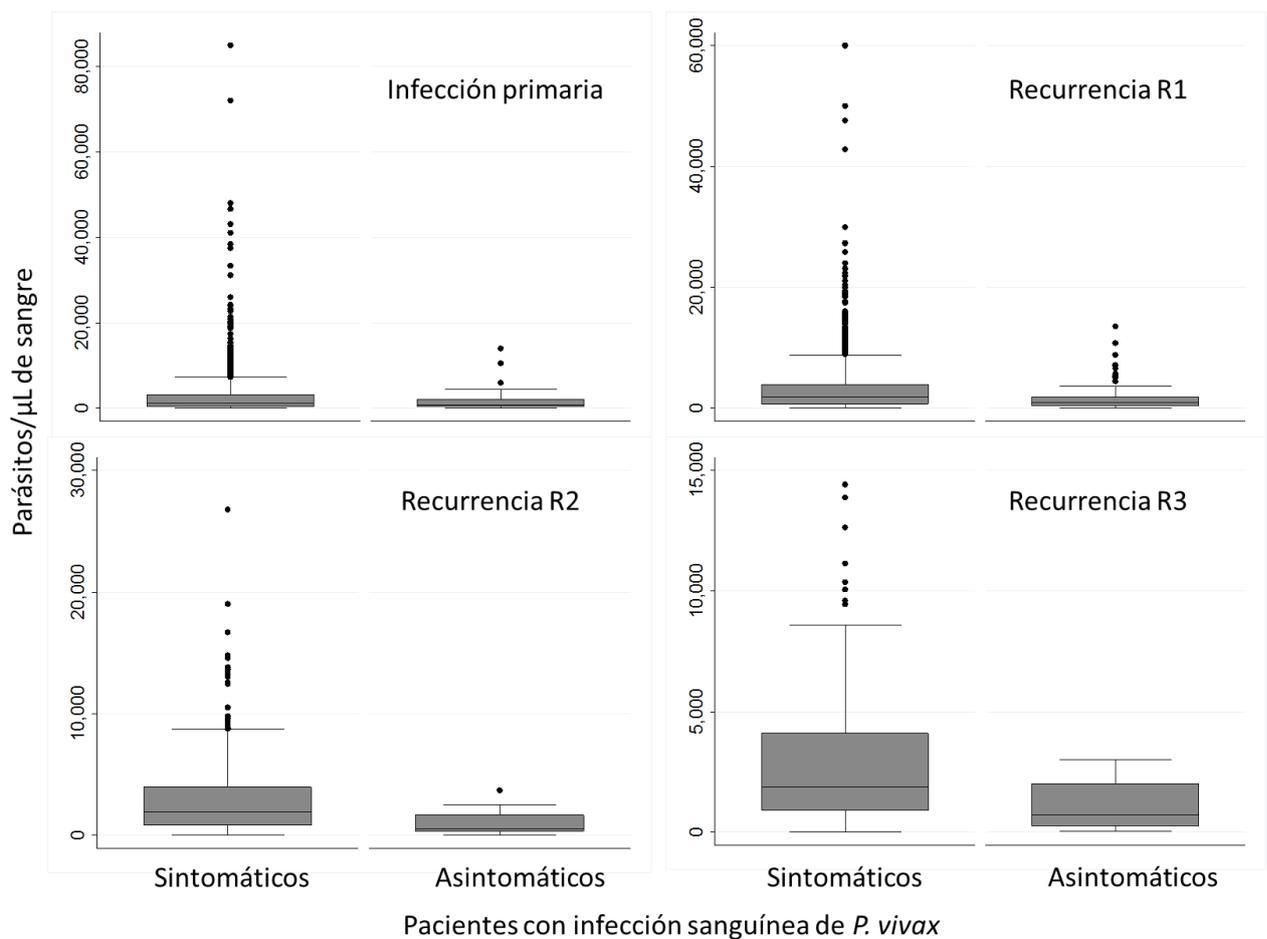


Figura 1.9. Comparación de la densidad parasitaria de *P. vivax* entre casos sintomáticos y asintomáticos para el caso primario e infecciones recurrentes R1, R2 y R3.

Para los pacientes del municipio de Rosita, la densidad parasitaria se registró en pocos casos de la IP (n = 23, mediana 2,700; IQR 701-6,045) y de episodios R1 (n = 40, mediana 2,108; IQR 693-3,730); solo la densidad parasitaria de PI fue superior a la de Puerto Cabezas (z = 2.74; p = 0.006), pero no se estimaron diferencias entre IP y R1 (z = 0.22; p = 0.82).

3.6. Comparación de las infecciones recurrentes homologas con *P. vivax* o *P. falciparum* (25–450 días) en RACCN Municipalities: Puerto Cabezas and Rosita

En Rosita la proporción de casos de paludismo por *P. vivax* fue más baja (66.8 %, n = 3,881) que en Puerto Cabezas (94.5%, n = 24,036; $\chi^2 = 3,024$, p < 0.0001). En Rosita, del total de casos recurrentes con una latencia de 25 a 450 días fue de 185, que representa el 66.5% de los pacientes con *P. vivax* que registraron infecciones recurrentes homólogas (por la misma especie) mientras otro 8.6% pacientes con infección por *P. falciparum* experimentó infecciones recurrentes con la misma especie. Otro 24.8% fueron presumiblemente reinfecciones: 9.7% con recurrencia de *P. vivax* después de una infección primaria por *P. falciparum* y 15.1% a la inversa (Anexo 6). De los pacientes en Rosita con una infección primaria por *P. vivax*, ocurrió un segundo episodio con la misma especie para ~5% y, en los pacientes con *P. falciparum* afectados por una especie homóloga, los casos recurrentes fueron menos (~1%, n = 1,288); $\chi^2 = 30.8$, p < 0.0001). En Rosita, para el período 2016-2018, se detectaron diferencias en la proporción de pacientes con casos recurrentes entre *P. vivax* y *P. falciparum* ($\chi^2 = 20$; p < 0.0001); una simple resta de los casos recurrentes de *P. falciparum* estimó que al menos el 60% de los casos recurrentes de *P. vivax* con intervalo de 25 a 450 días no fueron reinfecciones.

En Puerto Cabezas, del total de episodios recurrentes R1 fueron 2,702, y de los pacientes recurrentes con *P. vivax* representaron el 90.9%, mientras que el 0.4% de los pacientes fueron afectados por *P. falciparum* tuvieron una infección recurrente con la misma especie. Los pacientes con reinfecciones (causadas por especies heterólogas) representaron el 8.5%; El 5.5 % involucró infecciones primarias por *P. falciparum* seguidas de *P. vivax*, y el 3 % involucró infecciones primarias por *P. vivax*

seguidas de *P. falciparum* (Anexo 6). En este municipio, el número de pacientes diagnosticados con infecciones primarias y recurrentes por *P. vivax* fue 10.8%, y superior al número de pacientes con infecciones primarias y recurrentes por *P. vivax* y recurrentes por *P. falciparum* (0.05%, n = 1,321) ($\chi^2 = 2,560$, $p < 0.0001$). El anexo 7 muestra la comparación de la distribución temporal de casos mensuales por *P. vivax* versus *P. falciparum*, y de los casos recurrentes R1 para ambas especies en el municipio de Rosita, Nicaragua, 2016-2018

I. 10. Discusión (Análisis de resultados)

El resurgimiento de la parasitemia por paludismo en un individuo previamente infectado puede deberse a una reinfección, recrudescencia o recaída. Después de la inoculación de esporozoítos de *P. vivax* en una persona por una especie de mosquito *Anopheles*, estos parásitos ingresan al hígado y, bajo ciertas circunstancias, permanecen latentes en forma de hipnozoítos. Esta etapa latente de *P. vivax* puede activarse semanas, meses y en menor proporción años más tarde, por lo tanto, se causa una nueva infección sanguínea o episodio de recaída (Galappaththy, Tharyan, & Kirubakaran, 2013). La Primaquina (PQ) es el fármaco de elección en todo el mundo para el tratamiento de infecciones por *P. vivax* con el fin de prevenir episodios de recaída (WHO, 2015b). Las dosis adecuadas y la finalización del tratamiento son elementos clave para reducir la frecuencia de recaídas en los pacientes (Carmona Fonseca, 2015; Kitchener et al., 2005). Cuando los casos de paludismo en Nicaragua estaban disminuyendo en 2006, se implementó un tratamiento a base de cloroquina (25 mg/kg administrados en 3 días) y PQ (0.5 mg/kg diarios administrados durante 7 días). De acuerdo a la base de casos, se anotó la positiva supervisión y cooperación de personal voluntario de las comunidades (Col-vols) (MINISTERIO DE SALUD, 2014). Durante el período aquí analizado (2013-2018), se inició y continuo un brote de casos de *P. vivax* en Nicaragua, y las infecciones por *P. vivax* superaron a las de *P. falciparum*, variando del 71 al 98 % del número total de infecciones cada año (WHO, 2019b).

Según los datos actuales, al menos el 13,4% de los casos de *P. vivax* registrados en 2013-2018 correspondieron a episodios recurrentes. Del total de primeras

infecciones recurrentes (R1), las que ocurrieron 25-450 días (aproximadamente 1-15 meses) después de la infección primaria constituyeron el 88%, con una mediana de intervalo de 186 días (105-275). Los hallazgos de América Central respaldan el hecho de que los episodios recurrentes R1 de 25 a 450 días podrían estar relacionados con episodios de recaída. En esta región, la latencia desde la infección primaria hasta la primera recaída es variable, comprendiendo intervalos cortos y largos (Battle et al., 2014). En El Salvador, las infecciones recurrentes que fueron episodios de recaída aparentemente ocurrieron de 1 a 14 meses después de la infección primaria (Mason, 1975). De 1998 a 2008, en el sur de México, una región hipo-endémica, el 8% de las infecciones primarias por *P. vivax* dieron lugar a infecciones recurrentes. Para la mayoría de los casos, el intervalo de tiempo entre estas dos infecciones fue de 4 a 52 semanas (Gonzalez-Ceron et al., 2013), similar al encontrado en el municipio de Rosita. De acuerdo con los resultados actuales y asumiendo que, en Nicaragua, los casos recurrentes de 25 a 450 días fueron episodios de recaída, la latencia probablemente no dependa del género o la edad ya que no se detectaron asociaciones estadísticas.

Los municipios de Puerto Cabezas y Rosita en la RACCN mostraron cada uno una incidencia distinta de paludismo. Puerto Cabezas fue el sitio del 67,5% de los casos de paludismo a nivel nacional, de los cuales el 94% se debieron a *P. vivax*. En contraste, Rosita albergó el 10,5% de los casos de paludismo a nivel nacional, con un 66,5% registrados por *P. vivax*. La tasa de recurrencia de infecciones por *P. vivax* en cualquiera de los municipios estuvo relacionada con la intensidad de transmisión de *P. vivax*. En este sentido, la mayor proporción de primeros episodios recurrentes de *P. vivax* (con una latencia de 25 a 450 días) fue de 14,5% y 7% en Puerto Cabezas en 2018 y en Rosita en 2017, respectivamente, coincidiendo con la alta intensidad de transmisión que se está dando lugar el año anterior. En Puerto Cabezas, el impacto del pico de transmisión más alto observado en 2018, dado por el número de casos, podría haberse reflejado en el próximo año. En este escenario, los datos sugieren que más del 80% los pacientes con infecciones recurrentes por *P. vivax* recibieron un tratamiento con PQ de 7 días bajo supervisión. También se observó un aumento de infecciones recurrentes en presencia de un nivel elevado de transmisión en diferentes áreas geográficas incluso con el uso del tratamiento con PQ, como fue reportado en el estado de Oaxaca, México (Rodriguez et al., 2009).

En Puerto Cabezas y Rosita en la RACCN, la transmisión de paludismo es estacional y fluctúa en el tiempo. El vector principal es *An. albimanus*, que es muy abundante durante la temporada de lluvias ("Biología y Ecología de *Anopheles albimanus* Wiedemann en Centroamérica," 1996; Hurtado et al., 2018) y contribuye a la transmisión activa de la paludismo, procreando portadores de hipnozoítos y preservando el acervo genético de parásitos, como parece ser el caso en otras áreas (Cedillos, Warren, & Jeffery, 1978; Contacos et al., 1972; Gonzalez-Ceron et al., 2013). Sin embargo, la evidencia de especies de vectores que respaldan la continuación de la transmisión durante la estación seca cuando *An. albimanus* se requieren densidades considerablemente reducidas. El hecho de que los portadores de hipnozoítos sean altamente generados durante la transmisión activa apoya que los casos recurrentes provengan de la activación de hipnozoítos. En este estudio, las recaídas de latencia prolongada se observaron justo antes y en los primeros meses posteriores al inicio de la temporada de transmisión, y las de latencia breve fueron más frecuentes 1 o 2 meses después del inicio de la transmisión, a lo largo de esta temporada y hasta la mitad de la estación seca. El número de infecciones recurrentes por *P. vivax*, el amplio gradiente de intervalos de tiempo hasta la recaída y la distribución temporal (en las estaciones lluviosa y seca) garantizan la transmisión del parásito durante todo el año. Ambos episodios de recaída de latencia corta y larga estuvieron presentes durante la estación seca. Asimismo, durante esta temporada en El Salvador, al menos el 60% de los pacientes con episodios de recaída sintomática de *P. vivax* estuvieron presentes, según nuestras estimaciones (Contacos et al., 1972). Las infecciones recurrentes por *P. vivax* de latencia corta y larga a diferentes tasas podrían haber mantenido la transmisión a lo largo del tiempo en Nicaragua.

Según un análisis de los registros de paludismo en Irán, aproximadamente entre el 80 y el 90 % de los pacientes con paludismo recibieron un tratamiento de PQ de 14 días (1994–2001), lo que provocó una recurrencia del 16–24 % con una latencia de 3 a 18 meses con pico de 9 a 12 meses (Haghdoost et al., 2006). Un estudio multicéntrico reciente que incluyó Afganistán, Etiopía, Indonesia y Vietnam informó que los pacientes que recibieron un esquema de tratamiento de 14 o 7 días tenían una probabilidad de recaída del 2 % frente al 16 %, respectivamente, antes de un seguimiento de 12 meses (Taylor et al., 2021). En las Américas, una dosis total de 3,5

mg de PQ por kg de peso corporal administrada dentro de los 14 días es el esquema más efectivo, reduciendo a 10% la ocurrencia de recaídas en los pacientes (WHO, 2021a). En México (en Chiapas), con un tratamiento PQ supervisado de 14 días y un seguimiento de 12 meses, el 15% de los pacientes tuvo una recaída de intervalo largo. En la misma región, el 50 % de los pacientes que recibieron dosis únicas tuvieron uno o más episodios de recaída (en una amplia gama de intervalos de tiempo) después de la infección primaria (Gonzalez-Ceron et al., 2015). En Surinam, América del Sur, el 10% y el 30% de las infecciones recurrentes por *P. vivax* se produjeron (antes de un seguimiento de tres meses) después de un tratamiento de 14 o 7 días, respectivamente (Mac Donald-Ottevanger, Adhin, Jitan, Bretas, & Vreden, 2018). Un estudio en Brasil describió una mayor frecuencia de episodios de recaída en un intervalo de tiempo de 25 a 100 días (Orjuela-Sanchez, da Silva, da Silva-Nunes, & Ferreira, 2009). Al revisar 23,365 casos de paludismo registrados en 2009, se detectaron episodios de recaída en el 23% de los pacientes brasileños, y estos fueron en su mayoría con una latencia breve de 4 a 13 semanas (30 a 90 días) (Rodrigues et al., 2014). En este país se recomienda un tratamiento de PQ de 7 a 9 días (Daher et al., 2019) y, según los informes, el 75% de los pacientes completan el tratamiento (PAHO Malaria Technical Advisory Group, 2017).

Puede que no sea posible extrapolar el resultado del tratamiento de 7 días en América del Sur a Nicaragua, ya que ambas áreas difieren en la temporalidad de la recaída (Battle et al., 2014; Cedillos et al., 1978; Gonzalez-Ceron et al., 2013; Gonzalez-Ceron et al., 2015; Mason, 1975). Un tratamiento con PQ de tiempo limitado podría ser eficaz para disminuir las recaídas de corto plazo y, al mismo tiempo, comprometer la reducción de las recaídas a largo plazo (Cedillos et al., 1978; Galappaththy et al., 2013). En el sur de México, un tratamiento de 14 días evitó el 100 % de las recaídas antes de un seguimiento de 6 meses y el 86% de 6 a 12 meses (Gonzalez-Ceron et al., 2015). Cedillos y colaboradores (Cedillos et al., 1978) informaron que un esquema de PQ de 5 días previno principalmente los episodios de recaída dentro de los primeros 3 meses. A nivel mundial, existe evidencia limitada sobre la efectividad de la PQ administrada durante 7 días (WHO, 2021a), y no hay información disponible para Mesoamérica.

Debido a que, en *P. vivax*, la inmunidad clínica se adquiere rápidamente (Michon et al., 2007; Mueller et al., 2013), se espera que la densidad del parásito sea menor en los episodios de recaída en comparación con la infección primaria, especialmente en el caso de infecciones genéticamente homólogas, que a menudo ocurren en áreas de baja endemia (Gonzalez-Ceron et al., 2013). En cambio, los niveles de parasitemia registrados en pacientes diagnosticados en Puerto Cabezas apuntan a una mayor densidad parasitaria en los casos recurrentes; sin embargo, estos datos no pueden inferir la transmisibilidad ya que no se registraron densidades de gametocitos. La falta de correlación entre la densidad de parásitos y la latencia a la recaída encontrada en este estudio se informó anteriormente utilizando la cepa St. Elizabeth; la latencia prolongada parece no favorecer el aumento de la densidad de parásitos (Collins, Jeffery, & Roberts, 2004). En el sur de México (como en Nicaragua), la parasitemia en R1 no estuvo asociada con la latencia de esta infección (Gonzalez-Ceron et al., 2015). La falta o mala correlación entre la parasitemia y la edad podría reflejar el efecto del reciente brote de paludismo en Puerto Cabezas. En el presente aporte, la población de todas las edades presentaba infecciones recurrentes sintomáticas por parásitos *P. vivax*. Incluso a nivel individual, la densidad de parásitos parecía variar mucho entre la primera y la cuarta infección.

Además, el nivel de parasitemia aparentemente está influenciado por la oportunidad y efectividad del tratamiento. Los pacientes sin tratamiento pueden albergar una infección de la sangre durante semanas o meses como una infección crónica (Camargo, Alves, & Pereira da Silva, 1999; Cucunuba et al., 2008). Además, en las regiones endémicas, la exposición constante al parásito induce inmunidad clínica, lo que significa que las infecciones asintomáticas posiblemente superen a las sintomáticas en algunas áreas (Lin, Saunders, & Meshnick, 2014). En Nicaragua se registraron menos casos asintomáticos aparentemente con menor parasitemia que las infecciones sintomáticas. En consecuencia, probablemente hubo una carga adicional de infecciones recurrentes asintomáticas no diagnosticadas y no registradas. Se sabe que las pruebas parasitológicas y RDT suelen pasar por alto una proporción de parasitemia submicroscópica (Lin et al., 2014; Silva et al., 2007).

El presente estudio podría haber descubierto sólo una parte de las infecciones recurrentes en áreas endémicas de Nicaragua. Hay pocos estudios moleculares

publicados que se centren en un análisis de muestras pareadas de *P. vivax* en la región mesoamericana. Mientras que el 89.7 % y el 37 % de las infecciones recurrentes homólogas y heterólogas, respectivamente, tuvieron una latencia de 31 a 448 días después de la infección primaria en el sur de México, un intervalo más largo caracterizó a la mayoría de las infecciones recurrentes posteriores (Gonzalez-Ceron et al., 2013). En Nicaragua, se informaron varios genotipos para el antígeno *pvmSP142* en etapa sanguínea (Gutierrez et al., 2016) y el gen de resistencia a múltiples fármacos *pvmDR1* (Gonzalez-Ceron et al., 2017) en muestras recolectadas durante 2012-2013 cuando la transmisión era baja. Esta información es útil como referencia para dilucidar los genotipos persistentes y para examinar las infecciones recurrentes por *P. vivax* en las áreas afectadas como parte de las estrategias de vigilancia.

A diferencia de lo informado previamente (Ashley et al., 2019; Douglas et al., 2011), no existió relación entre las infecciones por *P. vivax* y las infecciones recurrentes por *P. falciparum*. Dada la tasa similar de infecciones por *P. vivax* y *P. falciparum* en Rosita durante 2016-2018, se asumió un riesgo de reinfección más similar. Teniendo en cuenta las infecciones primarias por *P. vivax* que fueron seguidas por una infección recurrente por la misma especie (~4,8 %) o por *P. falciparum* (~1,5 %), el 65 % de los episodios recurrentes de *P. vivax* estimados en Rosita siguieron el patrón indicado anteriormente en Irán (Haghdoust et al., 2006). Esto es más bajo que la tasa del 76% de infecciones recurrentes por *P. vivax* (en función del total de episodios de recaída) descrita en un estudio que involucró una amplia gama de entornos endémicos de *P. vivax* (Commons et al., 2020). Dado que *P. vivax* predominó en Puerto Cabezas y la transmisión fue alta entre 2015 y 2018, las reinfecciones deberían haber sido más numerosas, como se observó en otros lugares frente a la transmisión elevada (Sagara et al., 2002). Para comprender la dinámica de transmisión, por lo tanto, es necesario analizar las picaduras infecciosas, entre otros factores.

En Nicaragua, el paludismo está asociada con la pobreza extrema, la inequidad social y el bajo nivel educativo, así como con el aislamiento de algunos grupos étnicos (Larranaga et al., 2013; Rodriguez & Betanzos-Reyes, 2011). Los cambios en los factores socioeconómicos provocaron el desplazamiento humano hacia áreas con

baja o nula transmisión de paludismo, por lo tanto, con medidas antipalúdicas deficientes. Este fenómeno podría haber contribuido al resurgimiento y aumento de la transmisión del paludismo; un gran movimiento de la población ocurrió dentro de la RACCN, desde Waspam hacia Puerto Cabezas y también desde Honduras hacia Nicaragua justo antes de que comenzara el brote en Nicaragua. Estos dos países comparten la región étnica misquita, cuyas fronteras están delimitadas geográficamente por el río Coco; sin embargo, existe libre circulación de la población “Misquita”. Otros factores identificados previamente fueron la alta densidad de población que vive en situaciones de hacinamiento en zonas inundables, la falta de vigilancia en la frontera, el servicio irregular de la red GISI en 2012-2013 y la participación limitada de los municipios en las medidas de control de la paludismo (MINISTERIO DE SALUD, 2014; Rodríguez & Betanzos-Reyes, 2011).

En cuanto a la tarea de disminuir la transmisión de paludismo en Nicaragua, la combinación de diagnóstico de rutina, tratamiento de pacientes infectados y control de vectores puede resultar insuficiente. Se recomienda encarecidamente el seguimiento de las infecciones recurrentes por *P. vivax* a través de estrategias de vigilancia, así como una evaluación de la viabilidad de emplear una técnica única en la detección de casos de paludismo, como se sugirió anteriormente (Balieiro et al., 2021; Daher et al., 2019). Dado que la reducción de la transmisión requerirá potencialmente estrategias más allá de la supervisión de la finalización del tratamiento para el 70% de los pacientes, se deben considerar alternativas, como la mejora de las estrategias de tratamiento supervisado o semi-supervisado y el seguimiento post-infección con una prueba de parasitología aplicada mensualmente y hasta 6 meses (PAHO Malaria Technical Advisory Group, 2017).

El principal problema del tratamiento con PQ es que requiere supervisión, de manera óptima, durante 14 días. Una posible alternativa es la tafenoquina (TQ), que puede administrarse en una dosis única de 300 mg/kg. La TQ mostró una eficacia similar a la del esquema PQ de 14 días (0,5 mg/kg de peso) y no se detectaron problemas de seguridad (Llanos-Cuentas et al., 2019). TQ fue aprobado recientemente por la FDA (<https://www.fda.gov> (consultado el 17 de mayo de 2022)) y TGA en Australia (<https://www.tga.gov.au> (consultado el 17 de mayo de 2022)). Sin embargo, su administración está limitada a mayores de 16 años (WHO, 2019a). Es

necesario evaluar el desempeño de TQ frente a episodios de recaída a largo plazo, así como el tratamiento de 7 días con PQ en Mesoamérica. Se pueden implementar tratamientos masivos con curas radicales en áreas con transmisión sustancial para disminuir drásticamente las infecciones por *P. vivax* (Kondrashin et al., 2014; Mendis, 2019).

I. 11. Conclusiones

El análisis de los casos de paludismo antes y durante el brote de *P. vivax* en Nicaragua reveló que el enorme aumento de las infecciones recurrentes por *P. vivax* se correlacionó con la alta intensidad de transmisión. En los municipios de Rosita y Puerto Cabezas en la región de la RACCN, se produjeron episodios de recaída de latencia corta y larga (de 25 a 450 días) durante todo el año. Sin embargo, los episodios de recaída de latencia corta (25 a 180 días de latencia) fueron más evidentes durante la estación seca y los de latencia prolongada (181 a 450 días de latencia) fueron más evidentes justo antes de que comenzara la estación de transmisión del paludismo y durante la estación lluviosa. Pero recurrencias con variable intervalo de tiempo se presentaron en la época de alta transmisión. El número de infecciones recurrentes por *P. vivax*, el amplio rango de latencia y su distribución temporal favorecen la continuidad e intensidad de la transmisión e incremento de casos. Aunque hubo una incidencia similar de infecciones por *P. vivax* y *P. falciparum* entre 2016 y 2018 en Rosita, el 60% de los casos recurrentes dentro de los 25 a 450 días aparentemente fueron causados por la recaída después de una infección primaria por *P. vivax*. Una revisión sistemática informó una estimación mayor (al menos 79%) de casos recurrentes atribuibles a recaídas (Commons et al., 2020). La continuación del análisis observacional de la fuente secundaria de registros de paludismo de las zonas más afectadas de Nicaragua, como Puerto Cabezas, podría contribuir a la comprensión de la dinámica de transmisión de casos recurrentes, mejorar el registro de casos de paludismo y mejora la distribución de antipalúdicos. Paralelamente al control de vectores, es necesario evaluar la efectividad y el cumplimiento del tratamiento actual, así como el posible uso de fármacos alternativos. Además, se deben fortalecer las estrategias de prevención del paludismo y la vigilancia de los casos recurrentes.

Capítulo II. Evaluación de la eficacia de mallas impregnadas con insecticida de larga duración MTILD (LLIN por sus siglas en inglés)

II. 4. Antecedentes

El Ministerio de Salud de Nicaragua ha implementado planes integrados para el control de la malaria con el apoyo del Fondo Mundial y otros donantes, incluida la distribución de mosquiteros insecticidas de larga duración (MTILD) o por sus siglas en inglés LLIN). Los LLIN ofrecen protección contra la malaria proporcionando una barrera química para los mosquitos que buscan alimentarse en humanos. Un creciente cuerpo de literatura ha descrito la durabilidad y el uso de LLIN en múltiples contextos en África. Investigaciones anteriores informaron que después de 38 meses de uso, los LLIN de poliéster, como PermaNet®, demostraron una pérdida significativa de la integridad física y contenido de insecticida (Smith et al., 2007). Esto planteó preocupaciones acerca de cómo los LLIN largos permanecerían funcionales bajo uso regular y condujo a una serie de estudios sobre la distribución neta y estrategias de reemplazo, principalmente en África y Asia (Kilian et al., 2011; Sahu, Gunasekaran, Vijayakumar, & Jambulingam, 2017; Vanden Eng et al., 2017). Se sabe muy poco sobre la longevidad de estas herramientas en escenarios de las Américas. A medida que los países de las Américas se centran cada vez más en eliminación de la malaria, es de creciente importancia comprender los factores que pueden afectar el funcionamiento óptimo de las intervenciones de control de vectores, cómo lo cultural prácticas y características epidemiológicas de la malaria la transmisión en las Américas es distinta de África y puede afectar la forma en que se cuidan los MTILDs y por cuánto tiempo son efectivos.

El control de vectores para la prevención del paludismo se basa con mayor frecuencia en el uso de MTILD y fumigación con insecticidas de acción residual en interiores (WHO, 2015a). Se sabe poco acerca de la longevidad de los MTI de larga duración en las Américas. El equipo de estudio llevó a cabo el monitoreo de la integridad física y la retención de insecticidas de los MTI con el tiempo después de una campaña de distribución de mosquiteros y evaluamos las prácticas comunitarias en torno al cuidado y uso de MTILD en Waspam, noreste de Nicaragua.

Así, el objetivo de este estudio fue monitorear la integridad física y la retención de insecticidas de MTILD a lo largo del tiempo y evaluar las prácticas comunitarias en torno a las instrucciones de cuidado y uso de LLIN cuidado y uso en una eliminación de la malaria entorno en el noreste de Nicaragua.

II. 5. Pregunta de investigación

De acuerdo a los antecedentes presentados se generó la pregunta de investigación:

¿Cuál es la longevidad de la efectividad de los LLIN de larga duración y prácticas comunitarias en Waspam, Nicaragua?

II. 6. Objetivos

Objetivo general

Monitorear la integridad física y retención del insecticida en LLINs a lo largo del tiempo y evaluar las prácticas de las comunidades en cuanto al uso de los LLIN en Waspam, Nicaragua.

Objetivos específicos

2.1.- Determinar la duración de la retención de insecticida en los LLIN y que costumbres afectan esta durabilidad.

2.2.- Determinar la duración de la integridad de los LLIN y factores que la afectan, así como clasificar los daños observados.

II. 7. Hipótesis

La frecuencia del lavado y el mal uso por parte de la población afectaron la bioefectividad química y la integridad física de los mosquiteros tratados con insecticidas en Waspám, Nicaragua.

II. 8. Diseño metodológico

Estudio observacional longitudinal para evaluar los mosquiteros distribuidos previamente en una muestra representativa de hogares para ello se recolectaron al

menos 30 mosquiteros PermaNet cada tiempo a los 6, 12, 24 y 36 meses después de una distribución de 1768 de estos en el año 2010 y utilizados en el municipio de Waspam, Región Atlántica Norte. La integridad física se midió contando los agujeros y clasificando los mosquiteros en categorías (buenos, dañados y demasiado rotos) en función de un índice proporcional de agujeros (pHI). La bioeficacia de los insecticidas se evaluó mediante bioensayos de conos, y el contenido de insecticidas se midió mediante una prueba de campo de cianopirenoides (CFT).

El protocolo fue aprobado como parte de una evaluación del programa por la Oficina del Asociado Director de Ciencias en el Centro para la Salud Global en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU. (CENTROS PARA EL CONTROL Y LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES). El consentimiento verbal de los participantes se obtuvo antes de la encuesta en los hogares (EH) y recopilación de los MTILD (o LLIN).

Los datos del censo de mosquiteros distribuidos, casas beneficiadas, jefes de familia, georreferenciación y resultados las pruebas de bioensayo de conos fueron recopilados como parte de esta evaluación fueron accesibles sólo a los directamente involucrados en el proyecto. El Ministerio de Salud de Nicaragua llevó a cabo este estudio como parte de una evaluación programática basada en las directrices para evaluar la durabilidad de los mosquiteros tratados con insecticidas en condiciones operativas conforme la guía de Organización Mundial de la Salud (OMS).

Sitio de Estudio

Este estudio se llevó a cabo en el municipio de Waspam (14° 44' 30.8" N, 83°58' 18.1" W), ubicado en el Atlántico Norte Región Autónoma (RAAN) del noreste de Nicaragua. La zona urbana de Waspam tiene un estimado de 11,432 habitantes y 1732 casas, con transmisión perenne de paludismo.

Estrategia de muestreo de MTILD o LLIN

Un total de 1768 mosquiteros impregnados con insecticida de alta duración (MTILD) PermaNet 2.0® rectangulares (160 × 180 × 150 cm, 100 denier, y tratados con deltametrina) se distribuyeron con mayor criterio de priorización en casas donde

habitaban niños menores de 5 años y mujeres embarazadas durante el mes de mayo y en el año 2010. Este estudio siguió la Directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para evaluación de LLIN con algunas modificaciones (WHO, 2005). Se recogieron los LLIN en cuatro tiempos diferentes después de la distribución: a los 6, 12, 24 y 36 meses después. Se requirieron recogieron al menos 30 LLIN por cada tiempo. Para maximizar la posibilidad de lograr los tamaños de muestra objetivo, un número progresivamente mayor de las casas fueron seleccionadas para recolectar sus LLIN por cada tiempo: 55 casas para los 6 meses y 12 meses post-distribución, 65 casas a los 24 meses, y 75 casas a los 36 meses. Las casas fueron seleccionadas por muestreo aleatorio simple entre las casas que recibieron al menos un mosquitero LLIN. No hubo reemplazo de LLIN para casas que no pudieron ser ubicadas, o si no había LLIN disponible para la evaluación. En los casos en que hubiera más de un LLIN de la distribución original para una casa, un mosquitero LLIN fue seleccionado para la colección (de numeración y selección de un número de un paño bolsa al azar). Se proporcionaron LLIN de reemplazo para los LLIN recogidos durante el estudio. En el momento de la colección de los mosquiteros, una encuesta que recopila información sobre el cuidado del LLIN, uso y percepciones del impacto del mosquitero en la presencia de casos de paludismo o la enfermedad y en la prevención.

Durabilidad física de los LLIN

Los LLIN recolectados se transportaron a la Dirección de Entomología Médica-Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia en Managua. Se construyeron marcos de 165 × 185 × 155 cm (correspondientes al tamaño y la forma de los LLIN) utilizando tubos de plástico comerciales con una cubierta negra añadida para facilitar el examen del LLIN por proporcionar un fondo de contraste (Smith et al., 2007). Para su inspección, se colgaron los LLIN en el marco y se registró el número, el tamaño y la posición de los orificios en cada uno. Se midieron todos los orificios de los paneles (cuatro espacios laterales y techo del mosquitero), e incluyeron las fallas en las costuras, para estimar un índice proporcional de orificios (pHI por sus siglas en inglés), según las pautas de la OMS (WHO, 2011a). Los agujeros se midieron utilizando el método del pulgar, el puño y la cabeza. Los tamaños de los agujeros se estimaron de la siguiente manera: tamaño 1, más pequeño que un pulgar (0.5 a 2

cm); tamaño 2, más grande que un pulgar pero más pequeño que un puño (2-10 cm); tamaño 3, más grande que un puño pero más pequeño que una cabeza (10–25 cm); y tamaño 4, mayor que el tamaño de la cabeza (> 25 cm). El pHI se calculó ponderando cada hoyo por tamaño y sumando para cada malla (WHO, 2013a). Los pesos corresponden a las áreas aproximadas de los agujeros de cada categoría de tamaño de agujero (1.23 cm², 28.28 cm², 240.56 cm², 706.95 cm², respectivamente), divididos por la categoría más pequeña de 1.23 cm². Estas áreas de agujeros se basan en la suposición de que los tamaños de los orificios en cada categoría son iguales a los puntos medios: $pHI = (1 \times \text{número de orificios de tamaño 1}) + (23 \times \text{número de orificios de tamaño 2}) + (196 \times \text{número de orificios de tamaño 3}) + (576 \times \text{número de orificios de tamaño 4})$. Luego, los LLIN se agruparon en tres categorías según su pHI: buenos (≤ 64), dañados (65–642) y demasiado desgarrado (≥ 643) (WHO, 2013b)

Bioeficacia de los insecticidas

Después de la evaluación física, un total de 10 muestras midiendo 20 cm por 40 cm se cortaron de los diferentes paneles del mosquitero (Figura 2.1). Los paneles A y C (de acuerdo a la figura 1) correspondieron a los extremos del mosquitero (cabeza y pie) y las muestras se cortaron 30 cm desde el centro superior (panel A) o desde la parte inferior centro (panel C). En los paneles B y D (los lados laterales), se cortaron tres muestras: la primera tenía 20 cm de lado de arriba de la malla, el segundo fue de 60 cm desde la parte superior en el centro, y el tercero fue de 40 cm del fondo y 20 cm del lado. El panel E fue del techo de la malla, y se cortaron dos muestras a 45 cm del centro el borde de los paneles A y C. Luego, cada muestra se partió por la mitad, y la mitad se utilizó para bioensayos de cono y la otra mitad para la prueba de campo del cianopiretroide (CFT por sus siglas en inglés) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (Calle et al., 2018).

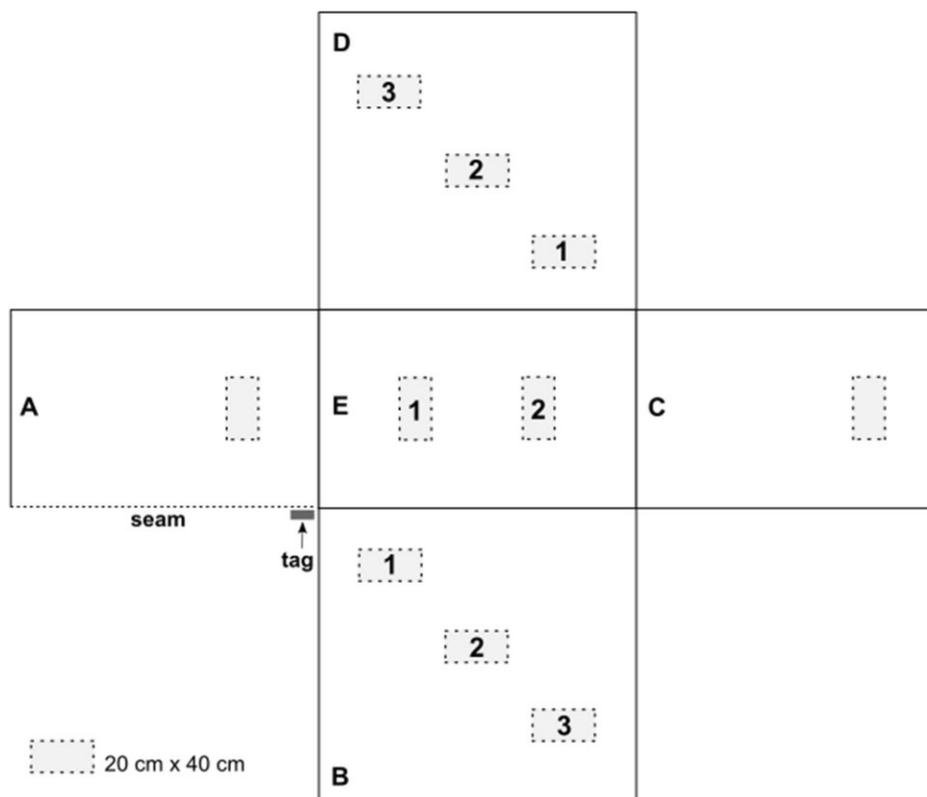


Figura 2.1 Diagrama de los mosquiteros impregnados con insecticidas de larga duración (LLIN) que muestra la posición de las muestras recolectadas para el procesamiento.

Los bioensayos de cono se realizaron utilizando las 10 muestras de cada LLIN siguiendo el protocolo de la OMS (WHO, 2005). Dada la falta de una colonia de *Anopheles* susceptible a los insecticidas, la cepa Leningrado de *Aedes aegypti* fue utilizado en los bioensayos de cono. Este fue realizado en un laboratorio donde la colonia de mosquitos fue mantenida, en el Ministerio de Salud en Managua. Se probó usando el bioensayo de botella de los CDC y se confirmó que los mosquitos fueron sensibles a la deltametrina. En resumen, las muestras se colocaron sobre una superficie plana y el cono de bioensayo estaba firmemente sujeto a cada pieza. Cinco mosquitos hembra de 2 a 5 días de edad y no alimentados con sangre fueron introducidos en cada cono. Los mosquitos estuvieron expuestos durante tres minutos y luego transferidos a espera en contenedores. Se registró el efecto knock down o caída (KD) a los 60 min, y la mortalidad se registró 24 h después de la exposición. El porcentaje de mortalidad se calculó a partir de la proporción de mosquitos muertos en relación con el total número de mosquitos expuestos. Un control por día se corrió en una pieza de mosquitero sin tratar.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Veintiséis muestras, todas del panel B3 fueron recogidas a los 6 meses, se enviaron a CDC para realizar HPLC. Antes del análisis por HPLC, se extrajo la deltametrina de cinco piezas de 5 cm × 5 cm tomadas de cada muestra. Las piezas se pesaron juntas, se sumergieron en 50 ml de disolvente (20% 1,4-dioxano, 80% isooctano). Se colocaron en un baño de ultrasonido durante 15 min, después, los matraces se agitaron durante 30 min en un baño a 25 °C (frecuencia de 155 ciclos/min). El análisis se llevó a cabo utilizando un HPLC Agilent 1200 máquina (Santa Clara, CA, EE. UU) equipada con un 250 × 4 (d.i.) mm, LiChrosorb Si60 5 µm, con isooctano/1,4- dioxano (+ 0,15 % agua), 94/6 (v/v) fase móvil a 1,5 caudal ml/min. El contenido total de deltametrina fue estimado utilizando un detector UV a 230 nm (Tan et al., 2016).

La retención de insecticidas superficiales (CFT) se realizó como se describió previamente (Green, Atieli, & Akogbeto, 2009). Brevemente, se preparó un dispositivo de muestreo magnético (MSD) para obtener muestras de insecticidas de las superficies de muestras recolectadas en cada intervalo de tiempo (6, 12 y 24 meses). Se adhirieron pedazos de papel de filtro al MSD, que ejercía una fuerza constante, como los papeles de filtro fueron frotados sistemáticamente a ambos lados de la superficie del material de la malla dentro de los límites de un marco de madera. Se colocaron piezas de papeles filtro en placas de 24 pocillos y se añadió el reactivo colorimétrico. La intensidad del color púrpura formado por la reacción de deltametrina con el reactivo colorimétrico se registró con una cámara digital y posteriormente cuantificada usando un programa de análisis de imagen. Cada placa tenía una serie de estándares para la curva de concentración de deltametrina, a usarse para calcular esta cantidad en los adheridos a los papeles por área de la malla muestreada (mg/m²). Un factor de respuesta promedio se determinó a partir de las muestras de la curva estándar de cada lote y se utiliza para determinar la superficie de deltametrina niveles Precisión del ensayo por lotes (% desviación estándar relativa, % RSD) se determinó recalculando la curva estándar de cada placa usando el factor asociado de respuesta del lote. Los % RSD promedio son 12, 7 y 6 % para 0,04, 0,10 y 0,20 mg/m², respectivamente (n = 4 lotes)

Análisis de los datos

La información de los hogares encuestados (HE) y de laboratorio se ingresaron en una base de datos y por duplica en un EpiInfo 2002 (Versión 3.5.4, CDC, Atlanta, EE. UU.). Se realizó la revisión y limpieza de datos y los análisis se realizaron utilizando RStudio (versión 1.2.5033). Los datos descriptivos de variables categóricas se muestran como porcentajes y para variables continuas se muestran las medias o medianas. Las figuras fueron generadas usando el Paquete ggplot2 en R (versión 3.1.0) y el refinado en Inkscape (versión 0.92.3) (I-Team., 2004; Wickham, 2016).

Se realizaron pruebas de ANOVA y chi-cuadrada para determinar diferencias significativas en las medias y frecuencias entre grupos, respectivamente. Se utilizaron pruebas de Post-hoc Tukey honest de diferencia significativa (HSD) para determinar entre que grupos hay diferencias después de las pruebas de ANOVA. LASSO (contracción mínima absoluta y selección operador) se realizó para el modelo multivariado con variables que contribuyeron a la degradación física de LLIN, y se realizó utilizando el paquete glmnet en R (Friedman, Hastie, & Tibshirani, 2010). Se utilizó validación cruzada para elegir el parámetro de contracción del tiempo. Las variables de interés incluyeron, la longitud del tiempo de uso (estimado por el tiempo de entrega al tiempo de recolección del MTILD), lavado (método, frecuencia, fuente de agua y lugar de secado), material de las paredes de la casa, nivel educativo, número de personas que duermen en el hogar, reparaciones de LLIN, si había niños menores de cinco años en el hogar, y si había mujeres embarazadas en el hogar y que durmió bajo un mosquitero la noche anterior. Los análisis para todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de confianza del 95%.

II. 9. Resultados

Encuestas en hogares y recopilación de LLIN

De los 250 hogares seleccionados originalmente, se realizaron encuestas en 165 (66%): 55 en la primera visita, 42 en la segunda, y 34 en la tercera y cuarta visitas porque no siempre se podía encontrar un miembro del hogar encuestado (HE) en el momento de la visita. De las 165 encuestas de EH realizadas, 163 (98.8 %) tenían al menos un LLIN elegible disponible para la recolección/intercambio. La mediana del

número total de espacios para dormir en todos los hogares visitados la noche anterior a la encuesta fue de 4 (rango: 0–14) y consistía principalmente en camas (mediana = 3; rango: 0-8) (Cuadro 2.1). En 26 (15.8 %) de los HE también se había colocado una hamaca para dormir la noche anterior a la encuesta. Un total de 1,015 personas durmieron en los HE la noche antes de la encuesta (mediana = 5,0 por HE; rango: 0–21). De esas 429 (42.3 %) personas durmieron bajo un mosquitero LLIN, 148 (34,5 %) fueron del sexo masculino y la mediana de edad fue de 9 años (rango: 1–80). Además, muchos HE (78,2 %) informaron tener hijos menores de 5 años, mientras pocos HE (6.7 %) reportaron al menos una mujer embarazada que haya dormido bajo un mosquitero LLIN la noche anterior.

La mediana del número de mosquiteros por HE antes de la distribución de LLIN en 2010 fue de 3.0 (rango: 0–12), mientras que después de la campaña este número aumentó a 5.0 (rango: 0–12). Los entrevistados comúnmente informaron que las personas aprendieron sobre la campaña de distribución de LLIN a través de líderes comunitarios (40,0 %), seguido de los promotores de salud (36,4 %) o los radiales (18,8 %). Los indicadores socioeconómicos asociados a los HE se indican en el cuadro 2.2.

Cuadro 2.1. Detalles sobre espacios para dormir y uso de MTILD de campaña por punto de recolección, Waspam, Nicaragua.

Indicador	tiempo de recogida del mosquitero				Total
	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	
Espacios para dormir: mediana (rango)					
Camas	3 (0–8)	3 (1–6)	3 (0–8)	3 (1–7)	3 (0–8)
Hamacas	0 (0–2)	0 (0–2)	0 (0–1)	0 (0–1)	0 (0–2)
Cualquier otro espacio para dormir	3 (0–8)	3 (1–8)	4 (2–14)	4 (1–12)	4 (0–14)
Personas durmiendo en HE la noche anterior: mediana (rango)					
< 5 años	1 (0–3)	1 (0–3)	1 (0–3)	1 (0–4)	1 (0–4)
5 - 15 años	2 (0–10)	1 (0–4)	2 (0–9)	2 (0–5)	2 (0–10)
> 15 años	3 (1–12)	1 (0–6)	3.5 (2–8)	3 (1–9)	3 (0–12)
Todas las edades	8 (1–21)	2 (0–8)	6 (4–14)	6 (3–16)	5 (0–21)
Personas durmiendo bajo un mosquitero LLIN la noche anterior, % (n/N)	44.6 (189/424)	86.7 (91/105)	39.2 (93/237)	22.5 (56/249)	42.3 (429/1015)
Edad, mediana (rango)	11 (1–80)	6 (1–56)	13 (1–57)	24 (2–68)	9 (1–80)
Hombre, No. (%)	62 (32.8) 85.5 (47/55)	34 (37.4) 64.3 (27/42)	37 (39.8) 82.4 (28/34)	15 (26.8) 79.4 (27/34)	148 (34.5) 78.2 (129/165)
Hogares con hijo 1- 5 años, % (n/N)	6	(27/42)	(28/34)	(27/34)	(129/165)
Hogares con hijo 1- 5 años durmiendo bajo un mosquitero LLIN la noche antes, % (n/N)	74.5 (35/47)	92.6 (25/27)	75.0 (21/28)	29.6 (8/27)	69.0 (89/129)
Hogares con ≥ 1 mujer embarazada durmiendo bajo un mosquitero LLIN la noche anterior, % (n/N)	0 (0/55)	0 (0/42)	5.9 (2/34)	26.5 (9/34)	6.7 (11/165)

N = 165 hogares. N, número.

Cuadro 2.2. Activos socioeconómicos de propietarios de MILD por punto de recolección, Waspam, Nicaragua. (n=165 hogares)

Indicador	Tiempo de recolección y análisis				Total
	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	
Activo del hogar presente, N (%)					
Electricidad	47 (85.5)	35 (83.3)	30 (88.2)	31 (91.2)	143 (86.7)
Radio	40 (72.7)	31 (73.8)	25 (73.5)	26 (76.5)	122 (73.9)
Televisión	39 (70.9)	33 (78.6)	28 (82.4)	20 (58.8)	120 (72.7)
Refrigerador	27 (49.1)	25 (59.5)	20 (58.8)	13 (38.2)	85 (51.5)
Bicicleta	28 (50.9)	20 (47.6)	16 (47.1)	9 (26.5)	73 (44.2)
Motocicleta	6 (10.9)	13 (31.0)	6 (17.6)	1 (2.9)	26 (15.8)
Tipo de empleo, N (%)					
Trabajadores por cuenta propia	17 (30.9)	15 (35.7)	18 (52.9)	22 (64.7)	72 (43.6)
Institución del Estado	16 (29.1)	15 (35.7)	10 (29.4)	12 (35.3)	53 (32.1)
Granja de la familia	9 (16.4)	0 (0.0)	1 (2.9)	9 (26.5)	19 (11.5)
Institución privada	7 (12.7)	6 (14.3)	5 (14.7)	1 (2.9)	19 (11.5)
Organización no gubernamental	5 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.9)	7 (4.2)
Ama de casa	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (8.8)	3 (1.8)
Otro	1 (1.8)	2 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8)
Desempleados	2 (3.6)	3 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.0)
Abastecimiento principal de agua, N (%)					
pozo perforado	30 (54.5)	26 (61.9)	21 (61.8)	22 (64.7)	99 (60.0)
Tuberías	19 (34.5)	9 (21.4)	11 (32.4)	8 (23.5)	47 (28.5)
agua de río	3 (5.5)	4 (9.5)	0 (0.0)	1 (2.9)	8 (4.8)
Puesto de agua público o grifo	3 (5.5)	3 (7.1)	2 (5.9)	1 (2.9)	9 (5.5)
Agua de lluvia en barriles	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.9)	2 (1.2)
Servicio de higiene principal, No (%)					
letrina cubierta	53 (96.4)	41 (97.6)	33 (97.1)	32 (94.1)	159 (96.4)
Sin instalaciones, arbustos o campos.	1 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.9)	3 (1.8)
Baño	0 (0.0)	1 (2.4)	1 (2.9)	0 (0.0)	2 (1.2)
letrina descubierta	1 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
Tipo de suelo de la vivienda, N (%)					
Madera	48 (87.3)	33 (78.6)	28 (82.4)	27 (79.4)	136 (82.4)
Teja	3 (5.5)	4 (9.5)	6 (17.6)	3 (8.8)	16 (9.7)
Ladrillo	4 (7.3)	5 (11.9)	0 (0.0)	1 (2.9)	10 (6.1)
Otro	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (8.8)	3 (1.8)
Tipo de paredes en vivienda, N (%)					
Madera	50 (90.9)	31 (73.8)	28 (82.4)	24 (70.6)	133 (80.6)
Ladrillo	5 (9.1)	7 (16.7)	3 (8.8)	1 (2.9)	16 (9.7)
madera y bloques	0 (0.0)	4 (9.5)	2 (5.9)	5 (14.7)	11 (6.7)
Bambú	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.9)	4 (11.8)	5 (3.0)
Tipo de techo, N (%)					
Aluminio (láminas de zinc)	55 (100.0)	40 (95.2)	33 (97.1)	34 (100.0)	162 (98.2)
Palmera	0 (0.0)	2 (4.8)	1 (2.9)	0 (0.0)	3 (1.8)

N, número.

Todos los hogares encuestados (HE, n = 165) informaron haber utilizado el LLIN de la campaña al menos una vez, y el 97,6% informó haberlos usado todas las noches. El uso del LLIN durante todo el año fue reportado por el 93.9 % de los HE, mientras que el 5,5% informó haberlo usado sólo durante la temporada lluviosa. Casi todos los hogares encuestados (99,4%) sintieron que los mosquiteros eran efectivos, incluso si sus mosquiteros estaban rotos o dañados. La mayoría de los HE (80,6%) sintió que la cama con mosquitero fue importante para la prevención del paludismo, 44,8% para la protección contra mosquitos y el 1.8 % para prevención las diarreas. Estas frecuencias no difirieron por categoría de pHl ($p > 0,05$). La estratificación de datos por intervalo de tiempo de uso, la proporción de encuestados que percibieron la prevención del paludismo como beneficio de los mosquiteros fue más alta a los 12 meses (88,1 %) y 24 meses (94,1 %), y el valor más bajo a los 36 meses (58,8 %) ($p = 0,001$). La proporción de los que percibieron la protección contra los mosquitos como beneficio fue mayor a los seis meses (65,5 %) y a los 36 meses (67,6 %) y siendo el más bajo a los 12 meses (9,5 %) ($p < 0,0001$).

Lavado y cuidado de LLIN

De los 165 HE encuestados, 162 (98.2 %) informaron que sus LLINs de la campaña habían sido lavados al menos una vez (Cuadro 2.3). La frecuencia de lavado más común fue una vez al mes (45,1 %), y el método de lavado más frecuente fue utilizando un lavadero de cemento y una tabla de lavar/cacerola de madera. Los encuestados informaron que 159 (98,1 %) los mosquiteros se lavaron con jabón. Entre los que utilizaron jabón; 77,4 % fue de barra o bola, 13,2 % fue detergente en polvo, 8.8 % usaron una combinación detergente de polvo y una pastilla/bola de jabón, y 0,6 % usaron jabón líquido. Después del lavado, el 71 % de los mosquiteros se secaron al aire libre directo a la luz solar, muchos en cercas de alambrado (20,4 %).

Condición física

Durante los cuatro periodos de recolección de mosquiteros, se contaron un total de 2,816 agujeros: de tamaño 1, 2.119 (75.2 %), tamaño 2 511 (18.1 %) y de

tamaño 3 186 (6.6 %) (Cuadro 4). Ninguno de los LLIN recolectados tenía orificios de tamaño 4 (> 25 cm). Los paneles laterales grandes presentaban la mayor cantidad de agujeros, con un 27% y 27.1 % de agujeros contados en los paneles B y D, respectivamente (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.3. Prácticas de cuidado de MILD por punto de tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua (n=165 hogares).

Indicador	Punto de tiempo de recogida				Total
	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	
Frecuencia de lavado, N (%)					
alguna vez lavado	52/55 (94.5)	42 (100)	34 (100)	34 (100)	162/165 (98.2)
> Una vez al mes	28/52 (53.8)	21 (50.0)	14 (41.2)	10 (29.4)	73/162 (45.1)
Una vez al mes	17/52 (32.7)	17 (40.5)	7 (20.6)	16 (47.1)	57/162 (35.2)
Una vez cada 6 meses	4/52 (7.7)	1 (2.4)	10 (29.4)	7 (20.6)	22/162 (13.6)
Una vez al año	1/52 (1.9)	1 (2.4)	3 (8.8)	1 (2.9)	6/162 (3.7)
Incierto	2/52 (3.8)	2 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	4/162 (2.5)
Modo de lavado, N (%)					
Fregadero de piedra	34/52 (65.4)	26 (61.9)	19 (55.9)	1 (2.9)	80/162 (49.4)
Lavadero de madera	6/52 (11.5)	13 (31.0)	14 (41.2)	25 (73.5)	58/162 (35.8)
Manualmente	12/52 (23.1)	1 (2.4)	1 (2.9)	8 (23.5)	22/162 (13.6)
Roca de río	0/52 (0.0)	1 (2.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1/162 (0.6)
Incierto	0/52 (0.0)	1 (2.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1/162 (0.6)
Empapados, N (%)					
Si	42/52 (80.8)	37 (88.1)	29 (85.3)	27 (79.4)	135/162 (83.3)
No	9/52 (17.3)	5 (11.9)	5 (14.7)	6 (17.6)	25/162 (15.4)
Incierto	1/52 (1.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.9)	2/162 (1.2)
Jabón utilizado, N (%)					
Si	49/52 (94.2)	42 (100.0)	34 (100.0)	34 (100.0)	159/162 (98.1)
Tipo de jabón, N (%)					
Barra o pelota	40/49 (81.6)	29 (69.0)	29 (85.3)	25 (73.5)	123/159 (77.4)
Detergente en polvo	8/49 (16.3)	3 (7.1)	1 (2.9)	9 (26.5)	21/159 (13.2)
Barra o bola, y detergente en polvo	0/49 (0.0)	10 (23.8)	4 (11.8)	0 (0.0)	14/159 (8.8)
Líquido	1/49 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1/159 (0.6)
Secado, N (%)					
Afuera en el sol	43/52 (82.7)	28 (66.7)	24 (70.6)	20 (58.8)	115/162 (71.0)
Afuera en la sombra	9/52 (17.3)	13 (31.0)	7 (20.6)	9 (26.5)	38/162 (23.5)
En la casa	0/52 (0.0)	1 (2.4)	3 (8.8)	5 (14.7)	9/162 (5.6)
Secado en alambre, N (%)	4/52 (7.7)	7 (16.7)	15 (44.1)	7 (20.6)	3/162 (20.4)
Fuente de agua para lavado de MILD, N (%)					
Pozo perforado	35/52 (67.3)	20 (47.6)	21 (61.8)	23 (67.6)	99/162 (61.1)
Tuberías de agua potable	12/52 (23.1)	10 (23.8)	7 (20.6)	4 (11.8)	33/162 (20.4)
Agua de río	5/52 (9.6)	12 (28.6)	6 (17.6)	7 (20.6)	30/162 (18.5)

Cuadro 2.4. Recuento de orificios y ubicación de la mayoría de los daños en 163 mosquiteros LLIN recolectados en todos los tiempos de evaluación, Waspam, Nicaragua.

Indicador	Panel				
	A	B	C	D	E*
Agujeros, N (%)					
Talla 1	331 (71.8)	577 (75.9)	384 (76.8)	589 (77.3)	238 (71.5)
Talla 2	100 (21.7)	136 (17.9)	81 (16.2)	115 (15.1)	79 (23.7)
Talla 3	30 (6.5)	47 (6.2)	35 (7.0)	58 (7.6)	16 (4.8)

Total	461 (100.0)	760 (100.0)	500 (100.0)	762 (100.0)	333 (100.0)
Ubicación de la mayoría de los daños en el panel, N (%)					
Tercero superior	10 (10.9)	14 (12.7)	14 (17.1)	13 (12.9)	21 (28.4)
Tercio medio	14 (15.2)	15 (13.6)	17 (20.7)	19 (18.8)	22 (29.7)
Tercero inferior	63 (68.5)	70 (63.6)	46 (56.1)	63 (62.4)	24 (32.4)
Distribución equitativa	5 (5.4)	11 (10.0)	5 (6.1)	6 (5.9)	7 (9.5)
Total	92 (100.0)	110 (100.0)	82 (100.0)	101 (100.0)	74 (100.0)

*Para el techo (E) tercio superior = a lo largo del panel A, tercio inferior = a lo largo del panel C. Categorías de tamaño de los orificios: tamaño 1 (0,5-2 cm), tamaño 2 (2-10 cm), tamaño 3 (10-25 cm), tamaño 4 (> 25 cm); no se observaron orificios de tamaño 4. A los 6 meses, sólo 52 de los 55 LLIN recogidos habían sido lavados, mientras que todos los LLIN recogidos a los 12 (42 LLIN), 24 (34 LLIN) y 36 (34 LLIN) meses habían sido lavados cuando se volvieron a recoger. N, número.

Los paneles de cabeza (A) y pie (C) de los LLIN tuvieron 16.4% y 17.8% de agujeros, respectivamente, y el techo tenía 11.8% de agujeros. La mayor concentración de agujeros estaba cerca del fondo de la malla. En este estudio, el 62.9% de los paneles laterales con agujeros tenían la mayoría de los daños en el tercio inferior de la malla; el 16,9% de los paneles tenían en el tercio medio, el 13.2% en el tercio superior y el 7.0% en el tercio superior, 13.2% en el tercio superior y el 7.0% presentaba daños distribuidos en este panel. A los seis meses, el 78.2% de los mosquiteros tenían al menos un agujero, aumentando a 97.5% a los 12 meses, 100% a los 24 meses, y 97.1% a los 36 meses (Cuadro 2.5). Sólo dos de los mosquiteros mostraban signos de reparación con puntos de sutura a lo largo de las costuras

laterales. La proporción de LLINs en las categorías bueno, dañado y demasiado rotos, y estratificados por tiempo de recolección se observan en el cuadro 2.4.

A los seis meses, el 87,3% de los LLIN estaban físicamente en buen estado y ninguno estaba demasiado roto. De los LLIN recolectados a los 36 meses, el 20,6% seguía en buen estado y el 38,2% estaban demasiado rotos. A los seis meses, la mediana del pHI fue de 7 aumentando a 480.5 a los 36 meses. Se observaron diferencias significativas al comparar las medias geométricas de pHI por meses de uso de los LLIN, según el tiempo post campaña (ANOVA, $p < 0,0001$). Las pruebas

post-hoc confirmaron diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de uso de los mosquiteros ($p < 0,05$), excepto cuando se compararon los tiempos de 24 y 36 meses ($p = 0.86$) (Figura 2.4).

Cuadro 2.4. Condición física de MTILD por tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua (N=163 mosquiteros).

Indicador	Tiempo de recogida			
	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Categoría LLIN pHI, N (%)				
Bueno	48 (87.3)	28 (70.0)	8 (23.5)	7 (20.6)
Dañado	7 (12.7)	9 (22.5)	16 (47.1)	14 (41.2)
Demasiado desgarrado	0 (0.0)	3 (7.5)	10 (29.4)	13 (38.2)
Redes con al menos un agujero, N (%)	43 (78.2)	39 (97.5)	34 (100.0)	33 (97.1)
Número de agujeros, mediana (rango)	2.0 (0–26)	6.5 (0–96)	21.0 (1–74)	25.5 (0–160)
pHI, mediana (rango)	7.0 (0–588)	37.5 (0–1,272)	221.0 (1–1,678)	480.5 (0–5,113)
Redes con al menos una falla en la costura, N (%)	10 (18.2)	9 (22.5)	19 (55.9)	11 (32.4)
Reparaciones, N (%)	0 (0.0)	1 (2.5)	1 (2.9)	0 (0.0)
Número total de redes, No	55	40	34	34
Tamaño del agujero, N (%)				
Talla 1	207 (82.8)	492 (80.0)	671 (77.4)	749 (69.1)
Talla 2	37 (14.8)	104 (16.9)	138 (15.9)	232 (21.4)
Talla 3	6 (2.4)	19 (3.1)	58 (6.7)	103 (9.5)
Número total de agujeros, N (%)	250 (100.0)	615 (100.0)	867 (100.0)	1,084 (100.0)

Categoría de pHI: bueno (≤ 64), dañado (65-642), demasiado desgarrado (≥ 643). Categorías de tamaño de los orificios: tamaño 1 (0,5-2 cm), tamaño 2 (2-10 cm), tamaño 3 (10-25 cm), tamaño 4 (> 25 cm); no se observaron orificios de tamaño 4. N, número.

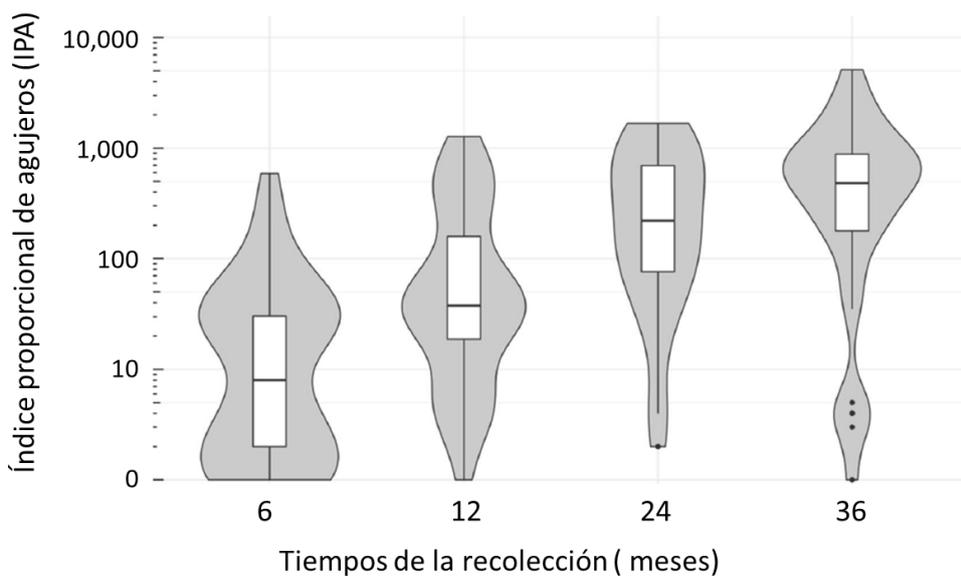


Figura 2.2. Índice proporcional de agujeros (pHI) en mosquiteros según tiempo de la recolección, Waspam, Nicaragua. La anchura de las figuras en forma de violín representa el número de mosquiteros con pHI similar. Los gráficos de caja muestran la mediana, los límites intercuartílicos y los valores atípicos. El eje y utiliza la escala log10. N = 163 mosquiteros.

De los 146 encuestados que respondieron a la pregunta sobre la causa de la mayoría de los agujeros en LLIN, dijeron que los agujeros los causaron los niños (32,9%), seguido de meter el mosquitero debajo del colchón (28,1%), haber sido colgado en alambres (22,6%), o por animales (10,3%). Casi todos los encuestados (98,2%) afirmaron que metían el mosquitero bajo la cama o el colchón por la noche. El modelo multivariable pHI elegido mediante el procedimiento LASSO incluyó el tiempo de uso (edad) de los mosquiteros tratados con insecticidas, el número de personas que durmieron en el hogar la noche anterior, la fuente de agua utilizada para lavar los mosquiteros, el lavado de los mosquiteros y el tipo de mosquitero, el método de lavado y si fue lavado más de seis veces ($p < 0,0001$) (Cuadro 2.5).

Cuadro 2.5 Modelo lineal final† de pHI, Waspam, Nicaragua.

Variable	Coefficiente (95% CI)	p
Intercepto	1.336 (0.673–1.999)	<0.001*
Momento de recogida (referencia: seis meses):		
12 meses	0.105 (-0.455–0.666)	0.71
24 meses	0.513 (-1.139–2.165)	0.54
36 meses	1.650 (0.817–2.485)	<0.001*
Nº de personas durmiendo en la vivienda la noche anterior a la encuesta (ref: 0–4 personas):		
5–9 personas	- 0.705 (- 1.280– - 0.130)	0.02*
10+personas	- 0.179 (- 0.839–0.480)	0.59
Fuente de agua utilizada para lavar la red (referencia: Agua corriente):		
agua de pozo	0.026 (- 0.296–0.349)	0.87
agua de río	0.345 (- 0.070–0.760)	0.1
Lavado > 6 veces (Número de referencia):		
Sí	0.220 (- 0.081–0.521)	0.15
Método de lavado (referencia: A mano):		
Sumidero de piedra/roca de río	- 0.203 (- 0.624–0.217)	0.34
Lavadero de madera	0.149 (- 0.568–0.269)	0.48
Interacción del punto de tiempo de recolección y no. de gente durmiendo en el hogar (referencia: 6 meses: 0–4 personas):		
12 meses: 5–9 personas	1.347 (0.267–2.427)	0.01*
24 meses: 5–9 personas	1.011 (- 0.682–2.704)	0.24
36 meses: 5–9 personas	- 0.273 (- 1.184–0.637)	0.55
24 meses: 10+personas	0.794 (- 1.033–2.662)	0.39
36 meses: 10+personas	- 0.496 (- 1.553–0.561)	0.35

* $p < 0.05$; † $R^2 = 0.460$, F-estadístico 8.172, $p = 3.457 \times 10^{-13}$. (n = 163 mosquiteros)

Debido al escaso número de mosquiteros tratados con reparaciones (n = 2), esta variable no pudo incluirse en la selección del modelo. El término de interacción entre la antigüedad del LLIN y el número de personas que dormían en el hogar fue significativa, lo que indica que el efecto del uso de los LLIN en el pHI dependía de cuántas personas durmieron en la vivienda la noche anterior.

Bioensayos de conos

Tras seis meses de uso, sólo 10 de los 55 LLIN probados tuvieron una o más muestras con mortalidad de $\geq 70\%$ en el bioensayo del cono. Sólo 1 de 40 mosquiteros tratados y a los 12 meses tenía una muestra con mortalidad $\geq 80\%$. La mortalidad de todos los demás muestreos de todos los LLIN probados después de 12 meses estaba por debajo del umbral del 80% de eficacia óptima, sugerido por la OMS (WHO, 2005).

Tras seis meses de uso, la mortalidad media por LLIN fue del 16% (rango: 2-70 %). A los 36 meses, la mediana de mortalidad había descendido al 2% (rango: 0-6 %) (Figura 2.3).

La KD a los 60 minutos mostró resultados similares. Tras seis meses de uso, la mediana de mortalidad por LLIN fue del 22% (intervalo: 2-64%), mientras que a los 36 meses había caído al 0% (intervalo: 0-6 %). Se encontraron diferencias significativas al comparar la mortalidad media del bioensayo del cono por meses de uso de LLIN según el tiempo de uso/recolección ($p < 0,0001$). Otras comparaciones por pares confirmaron una diferencia entre tiempos de evaluación del LLIN ($p < 0,05$) excepto cuando se compararon entre 12 y 24 meses ($p = 0.26$), y entre 24 y 36 meses ($p = 0.59$).

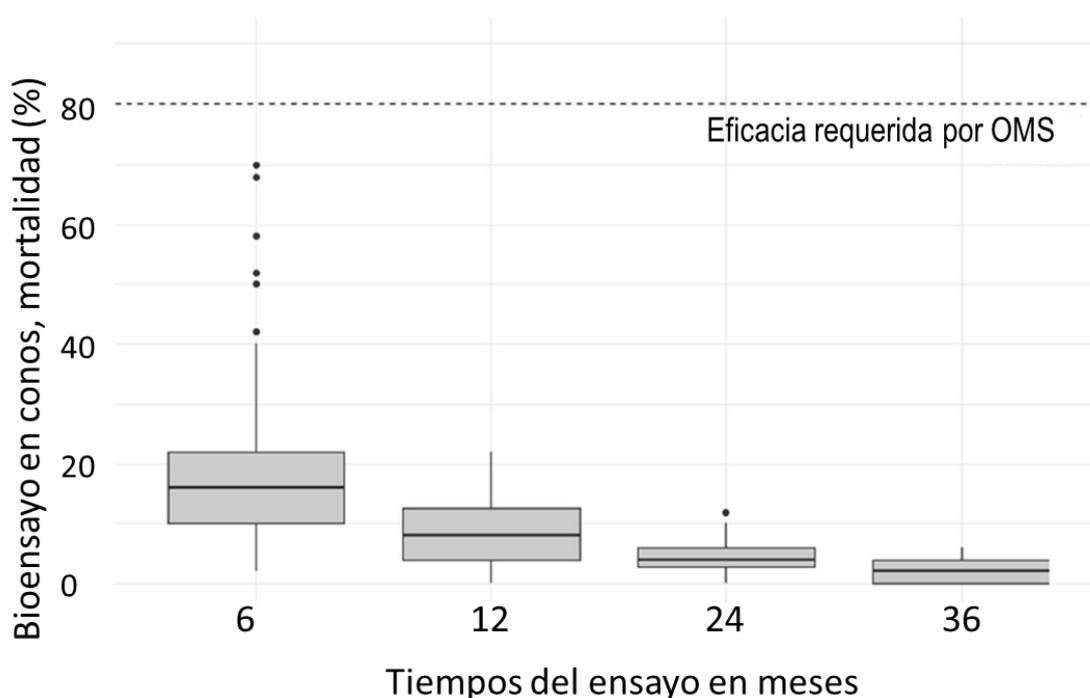


Figura 2.3. Mortalidad de mosquitos por bioensayo de conos por tiempo de recolección, Waspam, Nicaragua. La mortalidad estimada de mosquitos por mosquitero fue calculada tomando la media de todas las muestras. N = 160 mosquiteros.

Retención del insecticida

Debido a las restricciones del equipo HPLC, el contenido del insecticida sólo se analizó en 26 de los 55 LLIN recogidos a los 6 meses de su distribución. El contenido medio total de deltametrina tras 6 meses de uso fue de 31.9 mg/m² (rango:

10.0-55.3 mg/m²). Ninguno de los LLIN probados estaba por debajo de la concentración mínima eficaz de 0.04 mg/m², y sólo tres estaban por encima de la concentración óptima sugerida de 0.15 mg/m² (Kilian et al., 2008). Más de la mitad (73,1%) de los mosquiteros se lavaban más de una vez al mes y éstas mantenían una concentración media de deltametrina de 30,3 mg/m². Los mosquiteros tratados que se lavaron una vez al mes (n = 4) tenían una concentración media de deltametrina de 32.3 mg/m² y la concentración de La LLIN que no se había lavado tenía una concentración de deltametrina similar, de 33.4 mg/m².

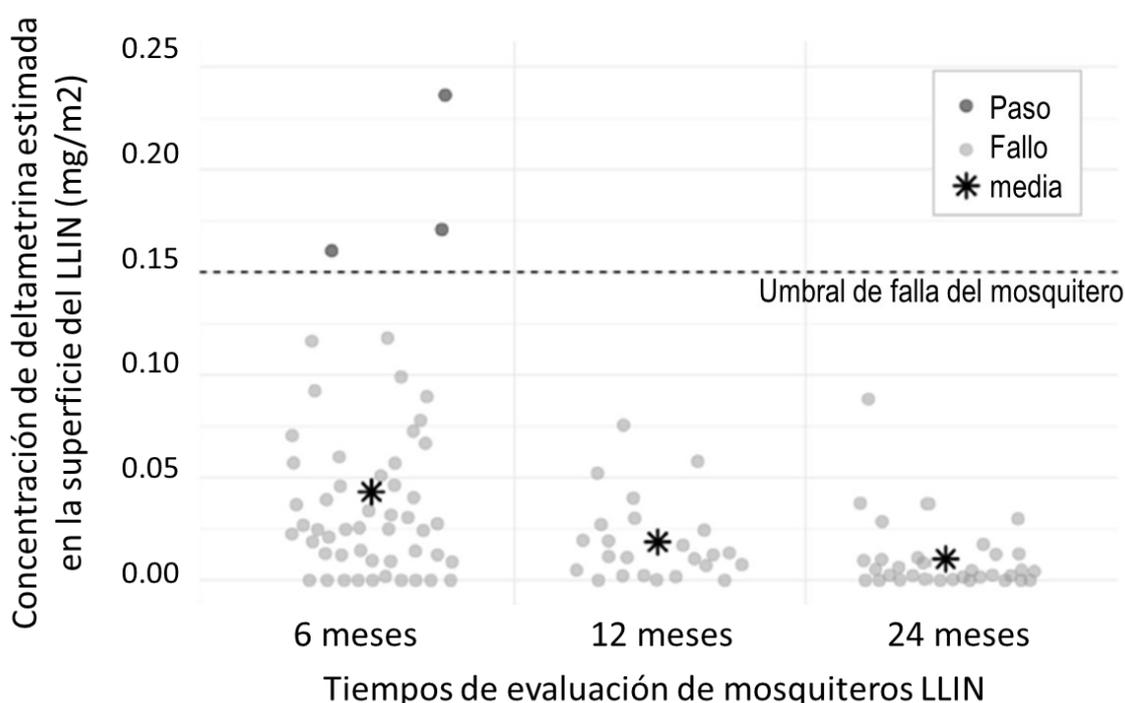


Figura 2.4. Resultados de las pruebas de campo de LLIN con cianopiretroides por tiempo de uso, Waspam, Nicaragua. El umbral de fracaso de la red se fijó en 0.15 mg/m², equivalente a la concentración de superficie necesaria para alcanzar una mortalidad del 80% con *Anopheles gambiae* susceptibles en bioensayos con conos. N = 109 mosquiteros.

El análisis CFT se realizó en 52 mosquiteros recogidos a los seis meses, en 24 a los 12 meses y 33 a los 24 meses. Se observó una rápida disminución del nivel de deltametrina detectado en la superficie de los mosquiteros. Tras 6 meses de uso, el 94,2% de los mosquiteros impregnados con insecticida habían superado el umbral de fallo para ser considerados mosquiteros defectuosos (0,15 mg/m²), mientras que el 100 % falló a los 12 y 24 meses (Figura 2.4).

La figura 2.5 resume las comparaciones por pares entre los resultados obtenidos mediante CFT, HPLC y los bioensayos de cono. Cuando se compararon los resultados de CFT y HPLC HPLC, se detectó una correlación positiva moderada ($r = 0.53$, $p < 0,01$). Cuando se compararon los resultados de la CFT con los resultados de los bioensayos de conos, se detectó una correlación positiva moderada ($r = 0.46$, $p < 0.001$). Sin embargo, se detectó una pobre correlación entre HPLC y los resultados del bioensayo de conos ($r = 0.18$, $p = 0.38$).

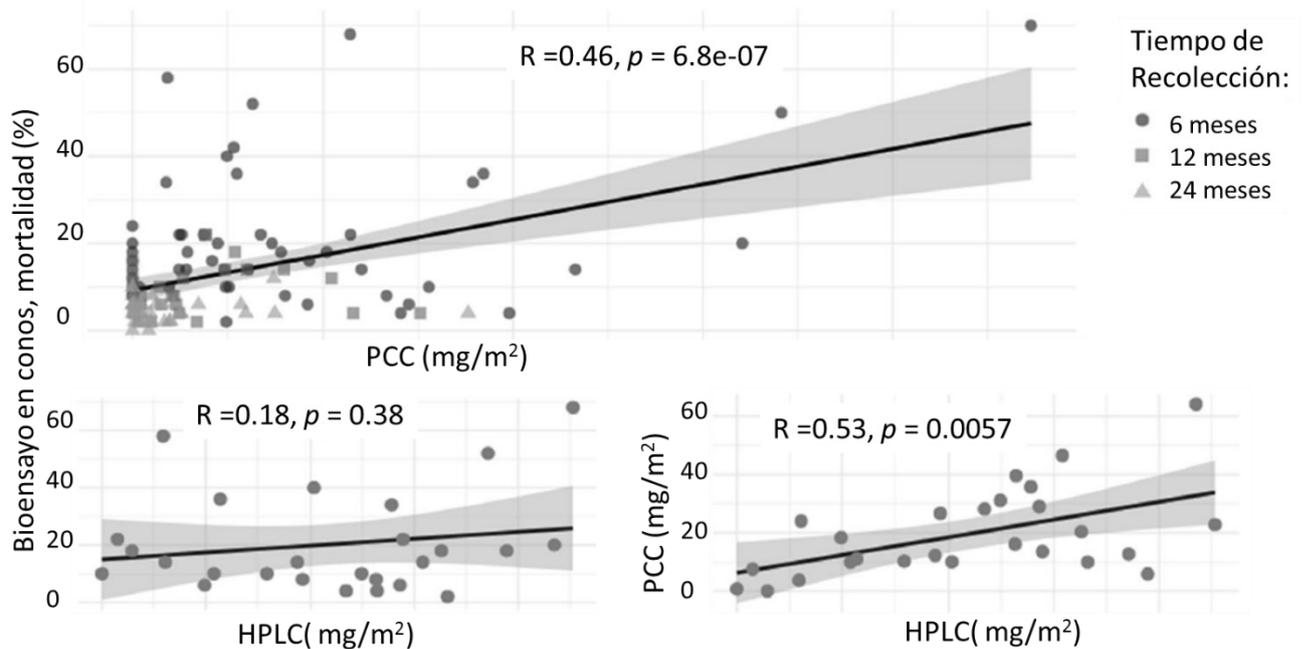


Figura 2.5. Comparaciones por pares entre los resultados de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la prueba de campo de cianopiretroides (PCC) y el bioensayo en conos de LLIN, Waspam, Nicaragua. En la comparación con HPLC sólo se tuvieron en cuenta los mosquiteros tratados con insecticida de larga duración recogidos a los 6 meses: a, $n = 108$ mosquiteros; b, $n = 26$ mosquiteros; c, $n = 26$ mosquiteros.

II. 10. Discusión (análisis de resultados)

Como se ha observado en estudios similares realizados en África, las condiciones físicas de los LLIN distribuidos en Nicaragua se deterioraron con el tiempo. El descenso más notable en la integridad física de los mosquiteros se produjo entre los 12 y 24 meses, aunque la mayoría de los mosquiteros presentaban agujeros incluso después de sólo seis meses de uso. Esta pérdida de integridad física también se reflejó en un aumento del pHI entre esos dos tiempos; a los 24 meses, el 76,5% de los mosquiteros tratados con insecticidas estaban demasiado rotos, frente al 30%

encontrado a los 12 meses. Esta cifra es comparable a las observaciones de un estudio similar en Etiopía, y expone la limitada vida útil de los MTILD (Wills et al., 2013).

La manipulación de los mosquiteros tratados con insecticidas de larga duración se asoció con una durabilidad física reducida. De las entrevistas a los HE, los agujeros en los mosquiteros se atribuyeron más comúnmente a la mala manipulación por parte de los niños, o por meterlos debajo de los colchones, o a rasgaduras debidas al secado sobre alambres. Al igual que en otros casos, la mayor concentración de agujeros se detectó en la parte inferior de los mosquiteros (Wills et al., 2013). Es probable que meter los mosquiteros bajo los colchones contribuya a la formación de agujeros en el tercio inferior del mosquitero, pero es una práctica para evitar que los mosquitos entren en los mosquiteros (A. S. Craig et al., 2015; Lorenz et al., 2014; Mutuku et al., 2013; Vanden Eng et al., 2017). Es importante que tanto los fabricantes tanto para los fabricantes como para los usuarios finales conozcan los daños físicos, para reforzar estas áreas del LLIN y orientar mejor a los usuarios en su manipulación y reparación de los mismos. Los estudios de laboratorio han demostrado que los *Anopheles albimanus* atacan más a menudo el techo de las mallas mosquiteras, lo que significa que incluso pequeños agujeros en esta zona supone un riesgo mayor que los daños en los paneles laterales (Sutcliffe & Yin, 2014). Sin embargo, necesita investigarse hasta qué punto el comportamiento de los mosquitos de laboratorio es comparable con los que habitan en las casas afectadas.

En este estudio se observó poca evidencia de reparaciones de los LLIN dañados, a diferencia de lo observado en estudios similares realizados en África (Massue et al., 2016; Smith et al., 2007). También fue interesante que el beneficio percibido de la protección contra los mosquitos fue mayor a los 36 meses, cuando los mosquiteros ya estaban muy dañados físicamente, y no poco después de su distribución. Estas observaciones subrayan la necesidad de transmitir mensajes contundentes sobre el cuidado de los mosquiteros y el promover su uso rutinario en el momento de la distribución. Lamentablemente, este estudio no evaluó el desgaste de los mosquiteros tratados con insecticida a lo largo de los meses. Lo que representa una limitación para interpretar los datos de su durabilidad. Sin embargo, encontramos que la posesión de mosquiteros distribuidos durante la campaña en el 98,8% de los hogares en los que se realizaron entrevistas,

posiblemente indicando una elevada tasa de retención de mosquiteros a lo largo del tiempo.

Este estudio detectó un aumento progresivo del pHI en cada tiempo de la evaluación. Sin embargo, esta diferencia no fue significativa entre los 24 y los 36 meses, lo que sugiere que el mayor daño físico a los mosquiteros había ocurrido a los 24 meses. Sin embargo, en este estudio no se cuantificó el grado en que el daño físico de los LLIN estudiados en Nicaragua *versus* su capacidad de proteger contra la transmisión del paludismo. Un estudio previo en Malawi demostró que, tras un año de uso, los mosquiteros estaban en buen estado según los criterios de la OMS y no encontraron correlación entre los casos de paludismo y la superficie total de agujeros de los mosquiteros (Minta et al., 2017). Si estas observaciones se pueden extrapolar para las condiciones epidemiológicas en las Américas, se puede de los mosquiteros tratados con insecticida de larga duración en este estudio que también estaban en buenas condiciones hasta los 12 meses, que fueron capaces de proteger la población de riesgo. Sin embargo, dado su posterior deterioro físico y la pérdida de eficacia química, no está claro en qué medida que estos factores puedan haber aumentado el riesgo del paludismo después de 12 meses de uso.

La frecuencia de lavado de los MTILD observada en este estudio y el hecho de que muchos MTILD estuvieran expuestos a la luz solar durante el secado podrían haber provocado la inesperada baja en la bioeficacia detectada en los bioensayos de conos a los 6 meses después de la distribución, como otros estudios (A. S. Craig et al., 2015; Green et al., 2013; Kilian et al., 2011; Mutuku et al., 2013; Sahu et al., 2017; Sreehari et al., 2007). A pesar de la baja mortalidad de los bioensayos a los seis meses, los resultados de la HPLC sugirieron que quedaba suficiente insecticida en los mosquiteros para considerar que funcionaban a un nivel óptimo. Sin embargo, el análisis por HPLC extrae el contenido total de insecticida de un trozo de red, por lo que no está claro qué proporción de ese insecticida es realmente biodisponible para los mosquitos que se posan en la superficie de la malla. Por otro lado, los resultados del CFT mostraron que casi todos los mosquiteros analizados a los 6 meses se considerarían "fallidos" debido a los niveles extremadamente bajos de deltametrina en la superficie. Según el fabricante la cantidad total de deltametrina en un mosquitero PermaNet 2.0® es de 55 mg/m² ± 25 %. Investigaciones anteriores en las que se utilizó para detectar deltametrina en la superficie de PermaNet 2.0 PermaNet 2.0®

nueva dio como resultado 1,01 mg/m² (IC del 95 %:0,94-1,09) y asoció un valor de 0,15 mg/m² con una mortalidad del 80 % en el bioensayo del cono. Una malla usada con un contenido inferior al 15 % (0,15/1,01) de deltametrina en una nueva malla fue como el valor umbral que representa una malla fallida (Green et al., 2013).

Los resultados del bioensayo fueron sorprendentes, ya que mostraron tasas de mortalidad muy bajas, incluso tras sólo 6 meses de uso del mosquitero. Permanet 2.0® había demostrado anteriormente que se mantiene eficacia insecticida tras 20 lavados y 2-3 años de uso (Fettene, Balkew, & Gimblet, 2009; Kayedi et al., 2017; Sreehari et al., 2007). Es preocupante que los mosquiteros tratados con insecticida de larga duración con sólo 6 meses de uso tuvieran unas tasas de mortalidad tan bajas. No está claro si este hallazgo se debe a que los mosquiteros con cierto grado de deterioro del insecticida, ya que los mosquiteros tratados con insecticida no se evaluaron antes de su entrega a los hogares HE. Se prevén programas de control y calidad estrictos durante la fabricación de los mosquiteros y su garantía antes de su entrega, pero estos resultados ponen de realce la necesidad de métodos sobre el terreno que permitan realizar pruebas rutinarias sencillas y análisis de las mallas mosquiteras desde el momento de su distribución hasta su vida útil prevista para detectar a tiempo su deterioro (Calle et al., 2018).

II. 11. Conclusiones

Los resultados que aquí se presentan constituyen el primer análisis exhaustivo de la durabilidad de los MTILD en una zona con paludismo en Centroamérica. Este estudio muestra que, durante 36 meses de seguimiento, los MTILD perdieron rápidamente la bio-eficacia química y se dañaban progresivamente. Estos resultados pueden servir de guía para futuras intervenciones en entornos de eliminación del paludismo en Nicaragua y, potencialmente, en otros lugares de Centroamérica, y la importancia de educar a las poblaciones que reciben los MTILD sobre las mejores prácticas sobre su cuidado y mantenimiento.

Una limitación importante de este de este estudio es la falta de datos entomológicos que corroboren la medida en que los MTILD protegían a la población destinataria de las picaduras de los vectores locales del paludismo. Se sabe que las especies de *Anopheles* presentes en América Central presentan comportamiento de

picadura heterogéneo, a menudo con picos de picadura en horas que las personas no están protegidas con mallas mosquiteras (Briet et al., 2019; Kroeger, Gonzalez, & Ordonez-Gonzalez, 1999; Richards et al., 1994; Zimmerman, 1992). Como la eliminación del paludismo en las Américas un pilar fundamental es el control vectorial, el logro de una comprensión de los factores que influyen en la eficacia de las diferentes herramientas de control vectorial en estos entornos será clave para que se apliquen con éxito y alcancen su máximo impacto.

12. Recomendaciones

Capítulo I. Caracterización de las recurrencias de casos de *P. vivax* 2016-2018

- Hasta donde sea posible mantener actualizadas las bases de datos nominales mediante el correcto y oportuno llenado de las fichas de investigación de casos que permita de forma sistemática caracterizar la dinámica de transmisión del paludismo, para analizar los casos recurrentes y reorientar estrategias de adherencia al tratamiento.
- Actualizar lineamientos nacionales para la detección, diagnóstico y tratamiento supervisado en boca sobre todo cuando se acerca el período de mayor transmisión en la entrada del invierno y fin de cada año en los picos de más alta transmisión.
- Tomar en cuenta para la implementación del DTIR (diagnóstico, tratamiento, investigación y respuesta) los períodos de latencia corta y larga que permita reforzar la búsqueda pasiva de la vigilancia y búsqueda activa de paludismo en la red de servicios de salud.

Capítulo II. Evaluación de la eficacia de mallas impregnadas con insecticida de larga duración MTILD

- Diseñar, validar e implementar un plan de comunicación social que enfatice el cuidado y mantenimiento de los Mosquiteros Tratados con Insecticida (MTI) tomando en cuenta la interculturalidad y condiciones de vida de poblaciones indígenas afectados por el paludismo en la RACCN.
- Desarrollar mayores competencias en la vigilancia entomológica que permita consolidar datos para análisis de la resistencia a los insecticidas y mejorar el uso de los MTI.
- Planificar una asignación y cobertura de MTI con un plan de monitoreo, seguimiento y evaluación anual con participación comunitaria.
- Mayor seguimiento entomológico para determinar los cambios de comportamiento de los mosquitos para conocer la dinámica de picadura: pican más temprano y/o pasan más tiempo reposando fuera de las viviendas o alimentándose del ganado en lugar de los humanos.
- Apoyarse con las universidades autónomas de la región caribe para llevar a cabo más estudios etnográficos que mediante entrevistas cara a cara en grupos focales se puede tener una comprensión profunda de las condiciones de vida de estas poblaciones interculturales y de la adopción de medidas de control para el paludismo.

13. Bibliografía

- Adak, T., Valecha, N., & Sharma, V. P. (2001). Plasmodium vivax polymorphism in a clinical drug trial. [Clinical Trial Comparative Study Randomized Controlled Trial]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 8(5), 891-894. doi: 10.1128/CDLI.8.5.891-894.2001
- Ashley, E. A., Phyo, A. P., Carrara, V. I., Tun, K. M., Nosten, F., Smithuis, F., & White, N. J. (2019). Plasmodium vivax Relapse Rates Following Plasmodium falciparum Malaria Reflect Previous Transmission Intensity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Infect Dis*, 220(1), 100-104. doi: 10.1093/infdis/jiz052
- Baird, J. K., & Hoffman, S. L. (2004). Primaquine therapy for malaria. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Review]. *Clin Infect Dis*, 39(9), 1336-1345. doi: 10.1086/424663
- Balieiro, A. A. S., Siqueira, A. M., Melo, G. C., Monteiro, W. M., Sampaio, V. S., Mueller, I., . . . Villela, D. A. M. (2021). Short-Time Recurrences of Plasmodium vivax Malaria as a Public Health Proxy for Chloroquine-Resistance Surveillance: A Spatio-Temporal Study in the Brazilian Amazon. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Int J Environ Res Public Health*, 18(10). doi: 10.3390/ijerph18105061
- BANCO MUNDIAL. (2020). Población Total Nicaragua Retrieved February 24, 2022, from <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.TOTL?locations=NI>
- Battle, K. E., Karhunen, M. S., Bhatt, S., Gething, P. W., Howes, R. E., Golding, N., . . . Hay, S. I. (2014). Geographical variation in Plasmodium vivax relapse. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Malar J*, 13, 144. doi: 10.1186/1475-2875-13-144
- Biología y Ecología de Anopheles albimanus Wiedemann en Centroamérica. (1996). *Bol Oficina Sanit Panam*, 121(3).
- Blair, S., & Giraldo, C. (1991). Reinfección endógena por Plasmodium vivax. *IATREIA*, 4, 17-21.
- Briet, O. J. T., Impoinvil, D. E., Chitnis, N., Pothin, E., Lemoine, J. F., Frederic, J., & Smith, T. A. (2019). Models of effectiveness of interventions against malaria transmitted by Anopheles albimanus. *Malar J*, 18(1), 263. doi: 10.1186/s12936-019-2899-3
- Bunnag, D., Karbwang, J., Thanavibul, A., Chittamas, S., Ratanapongse, Y., Chalermrut, K., . . . Harinasuta, T. (1994). High dose of primaquine in primaquine resistant vivax malaria. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 88(2), 218-219.
- Calle, D. A., Rua-Urbe, G. L., Osorio, L., Pinerros-Jimenez, J. G., Swamidoss, I., Vizcaino, L., . . . Green, M. D. (2018). Monitoring and Predicting Net Longevity by Measuring Surface Levels of Insecticide: Implementing a Faster, Cost Effective, Nondestructive, and Field-Ready Alternative to the World Health Organization Cone Test Bioassay. *Am J Trop Med Hyg*, 99(4), 1003-1005. doi: 10.4269/ajtmh.18-0250
- Camargo, E. P., Alves, F., & Pereira da Silva, L. H. (1999). Symptomless Plasmodium vivax infections in native Amazonians. [Letter]. *Lancet*, 353(9162), 1415-1416. doi: 10.1016/s0140-6736(99)00941-1
- Carmona-Fonseca, J., & Maestre, A. (2009). Prevention of Plasmodium vivax malaria recurrence: efficacy of the standard total dose of primaquine administered over 3 days. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Acta Trop*, 112(2), 188-192. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.07.024
- Carmona Fonseca, J. (2015). Primaquine and relapses of Plasmodium vivax. Meta analysis of controlled clinical trials. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Rev Bras Epidemiol*, 18(1), 174-193. doi: 10.1590/1980-5497201500010014

- Cedillos, R. A., Warren, M., & Jeffery, G. M. (1978). Field evaluation of primaquine in the control of *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg*, 27(3), 466-472. doi: 10.4269/ajtmh.1978.27.466
- Coatney, G. R., Cooper, W. C., & Young, M. D. (1950). Studies in human malaria. XXX. A summary of 204 sporozoite-induced infections with the Chesson strain of *Plasmodium vivax*. *J Natl Malar Soc*, 9(4), 381-396.
- Cogswell, F. B. (1992). The hypnozoite and relapse in primate malaria. [Review]. *Clin Microbiol Rev*, 5(1), 26-35.
- Collins, W. E., Contacos, P. G., Stanfill, P. S., & Richardson, B. B. (1973). Studies on human malaria in Aotus monkeys. I. Sporozoite transmission of *Plasmodium vivax* from El Salvador. *J Parasitol*, 59(4), 606-608.
- Collins, W. E., Jeffery, G. M., & Roberts, J. M. (2004). A retrospective examination of reinfection of humans with *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg*, 70(6), 642-644.
- Commons, R. J., Simpson, J. A., Watson, J., White, N. J., & Price, R. N. (2020). Estimating the Proportion of *Plasmodium vivax* Recurrences Caused by Relapse: A Systematic Review and Meta-Analysis. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't Systematic Review]. *Am J Trop Med Hyg*, 103(3), 1094-1099. doi: 10.4269/ajtmh.20-0186
- Contacos, P. G., Collins, W. E., Jeffery, G. M., Krotoski, W. A., & Howard, W. A. (1972). Studies on the characterization of *Plasmodium vivax* strains from Central America. *Am J Trop Med Hyg*, 21(5), 707-712.
- Covell, G. (1960). Relationship between malarial parasitaemia and symptoms of the disease: a review of the literature. *Bull World Health Organ*, 22, 605-619.
- Craig, A. A., & Kain, K. C. (1996). Molecular analysis of strains of *Plasmodium vivax* from paired primary and relapse infections. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Infect Dis*, 174(2), 373-379.
- Craig, A. S., Muleba, M., Smith, S. C., Katebe-Sakala, C., Chongwe, G., Hamainza, B., . . . Tan, K. R. (2015). Long-lasting insecticidal nets in Zambia: a cross-sectional analysis of net integrity and insecticide content. *Malar J*, 14, 239. doi: 10.1186/s12936-015-0754-8
- Cucunuba, Z. M., Guerra, A. P., Rahirant, S. J., Rivera, J. A., Cortes, L. J., & Nicholls, R. S. (2008). Asymptomatic *Plasmodium* spp. infection in Tierralta, Colombia. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 103(7), 668-673. doi: 10.1590/s0074-02762008000700007
- Chen, N., Auliff, A., Rieckmann, K., Gatton, M., & Cheng, Q. (2007). Relapses of *Plasmodium vivax* infection result from clonal hypnozoites activated at predetermined intervals. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Infect Dis*, 195(7), 934-941. doi: 10.1086/512242
- Chotsiri, P., Mahamar, A., Høglund, R. M., Koita, F., Sanogo, K., Diawara, H., . . . Tarning, J. (2022). Mechanistic Modeling of Primaquine Pharmacokinetics, Gametocytocidal Activity, and Mosquito Infectivity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Clin Pharmacol Ther*, 111(3), 676-685. doi: 10.1002/cpt.2512
- Daher, A., Silva, J., Stevens, A., Marchesini, P., Fontes, C. J., Ter Kuile, F. O., & Lalloo, D. G. (2019). Evaluation of *Plasmodium vivax* malaria recurrence in Brazil. *Malar J*, 18(1), 18. doi: 10.1186/s12936-019-2644-y
- Douglas, N. M., Nosten, F., Ashley, E. A., Phaiphun, L., van Vugt, M., Singhasivanon, P., . . . Price, R. N. (2011). *Plasmodium vivax* recurrence following falciparum and mixed species malaria: risk factors and effect of antimalarial kinetics. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Clin Infect Dis*, 52(5), 612-620. doi: 10.1093/cid/ciq249
- Dua, V. K., & Sharma, V. P. (2001). *Plasmodium vivax* relapses after 5 days of primaquine treatment, in some industrial complexes of India. [Clinical Trial Multicenter Study]. *Ann Trop Med Parasitol*, 95(7), 655-659. doi: 10.1080/00034980120103225
- Duarte, E. C., Pang, L., & Fontes, C. J. (2003). [Internal validity of clinical trials for *Plasmodium vivax* malaria treatment: analysis of evaluation study of in vivo *Plasmodium vivax* emergence of

- resistance to standard doses of primaquine]. [Validation Study]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 36(3), 383-386. doi: 10.1590/s0037-86822003000300011
- Durand, S., Cabezas, C., Lescano, A. G., Galvez, M., Gutierrez, S., Arrospide, N., . . . Graf, P. C. (2014). Efficacy of three different regimens of primaquine for the prevention of relapses of *Plasmodium vivax* malaria in the Amazon Basin of Peru. [Randomized Controlled Trial Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Am J Trop Med Hyg*, 91(1), 18-26. doi: 10.4269/ajtmh.13-0053
- Fettene, M., Balkew, M., & Gimblet, C. (2009). Utilization, retention and bio-efficacy studies of PermaNet in selected villages in Buie and Fentalie districts of Ethiopia. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, 8, 114. doi: 10.1186/1475-2875-8-114
- Fletcher, K. A., Barton, P. F., & Kelly, J. A. (1988). Studies on the mechanisms of oxidation in the erythrocyte by metabolites of primaquine. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Biochem Pharmacol*, 37(13), 2683-2690. doi: 10.1016/0006-2952(88)90263-8
- Friedman, J., Hastie, T., & Tibshirani, R. (2010). Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *J Stat Softw*, 33(1), 1-22.
- Galappaththy, G. N., Tharyan, P., & Kirubakaran, R. (2013). Primaquine for preventing relapse in people with *Plasmodium vivax* malaria treated with chloroquine. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't Review Systematic Review]. *Cochrane Database Syst Rev*(10), CD004389. doi: 10.1002/14651858.CD004389.pub3
- Gobierno de Nicaragua. (2020). *Perfil Demográfico Nicaragua 2020*. Retrieved from https://pronicaragua.gob.ni/media/publications/Perfil_Demografico_2020_PWsyOuB.pdf.
- Gogtay, N. J., Desai, S., Kadam, V. S., Kamtekar, K. D., Dalvi, S. S., & Kshirsagar, N. A. (2000). Relapse pattern of *Plasmodium vivax* in Mumbai: a study of 283 cases of vivax malaria. *J Assoc Physicians India*, 48(11), 1085-1086.
- Goller, J. L., Jolley, D., Ringwald, P., & Biggs, B. A. (2007). Regional differences in the response of *Plasmodium vivax* malaria to primaquine as anti-relapse therapy. [Meta-Analysis]. *Am J Trop Med Hyg*, 76(2), 203-207.
- Gonzalez-Ceron, L., Montoya, A., Corzo-Gomez, J. C., Cerritos, R., Santillan, F., & Sandoval, M. A. (2017). Genetic diversity and natural selection of *Plasmodium vivax* multi-drug resistant gene (*pvm-dr1*) in Mesoamerica. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, 16(1), 261. doi: 10.1186/s12936-017-1905-x
- Gonzalez-Ceron, L., Mu, J., Santillan, F., Joy, D., Sandoval, M. A., Camas, G., . . . Torreblanca, R. (2013). Molecular and epidemiological characterization of *Plasmodium vivax* recurrent infections in southern Mexico. [Research Support, N.I.H., Intramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Parasit Vectors*, 6, 109. doi: 10.1186/1756-3305-6-109
- Gonzalez-Ceron, L., Rodriguez, M. H., Ovilla-Munoz, M. T., Santillan-Valenzuela, F., Hernandez-Avila, J. E., Rodriguez, M. C., . . . Villarreal-Trevino, C. (2020). Ookinete-Specific Genes and 18S SSU rRNA Evidenced in *Plasmodium vivax* Selection and Adaptation by Sympatric Vectors. *Front Genet*, 10, 1362. doi: 10.3389/fgene.2019.01362
- Gonzalez-Ceron, L., Rodriguez, M. H., Sandoval, M. A., Santillan, F., Galindo-Virgen, S., Betanzos, A. F., . . . Palomeque, O. L. (2015). Effectiveness of combined chloroquine and primaquine treatment in 14 days versus intermittent single dose regimen, in an open, non-randomized, clinical trial, to eliminate *Plasmodium vivax* in southern Mexico. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, 14, 426. doi: 10.1186/s12936-015-0938-2
- Green, M. D., Atieli, F., & Akogbeto, M. (2009). Rapid colorimetric field test to determine levels of deltamethrin on PermaNet surfaces: association with mosquito bioactivity. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Trop Med Int Health*, 14(4), 381-388. doi: 10.1111/j.1365-3156.2009.02247.x

- Green, M. D., Mayxay, M., Beach, R., Pongvongsa, T., Phompida, S., Hongvanthong, B., . . . Swamidoss, I. (2013). Evaluation of a rapid colorimetric field test to assess the effective life of long-lasting insecticide-treated mosquito nets in the Lao PDR. [Evaluation Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *12*, 57. doi: 10.1186/1475-2875-12-57
- Gutierrez, S., Gonzalez-Ceron, L., Montoya, A., Sandoval, M. A., Torres, M. E., & Cerritos, R. (2016). Genetic structure of *Plasmodium vivax* in Nicaragua, a country in the control phase, based on the carboxyl terminal region of the merozoite surface protein-1. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Infect Genet Evol*, *40*, 324-330. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.040
- Haghdoost, A. A., Mazhari, S., & Bahaadini, K. (2006). Estimating the relapse risk of *Plasmodium vivax* in Iran under national chemotherapy scheme using a novel method. *J Vector Borne Dis*, *43*(4), 168-172.
- Hurtado, L. A., Rigg, C. A., Calzada, J. E., Dutary, S., Bernal, D., Koo, S. I., & Chaves, L. F. (2018). Population Dynamics of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) at Ipeti-Guna, a Village in a Region Targeted for Malaria Elimination in Panama. *Insects*, *9*(4). doi: 10.3390/insects9040164
- I-Team. (2004). Inkscape Retrieved August 18, 2023, from <https://inkscape.org/>
- Imwong, M., Snounou, G., Pukrittayakamee, S., Tanomsing, N., Kim, J. R., Nandy, A., . . . White, N. J. (2007). Relapses of *Plasmodium vivax* infection usually result from activation of heterologous hypnozoites. [Randomized Controlled Trial Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Infect Dis*, *195*(7), 927-933. doi: 10.1086/512241
- Joy, D. A., Gonzalez-Ceron, L., Carlton, J. M., Gueye, A., Fay, M., McCutchan, T. F., & Su, X. Z. (2008). Local adaptation and vector-mediated population structure in *Plasmodium vivax* malaria. *Mol Biol Evol*, *25*(6), 1245-1252. doi: 10.1093/molbev/msn073
- Kain, K. C., Craig, A. A., & Ohrt, C. (1996). Single-strand conformational polymorphism analysis differentiates *Plasmodium falciparum* treatment failures from re-infections. *Mol Biochem Parasitol*, *79*(2), 167-175.
- Kayedi, M. H., Khamisabadi, K., Haghdoost, A. A., Kayedi, Z., Fallahi, S., & Abdali, N. (2017). Short and long term evaluation of the efficiency of PermaNet(R) 2.0 bed net against environmental factors and washing using bioassay tests. [Comparative Study]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, *59*, e18. doi: 10.1590/S1678-9946201759018
- Kilian, A., Byamukama, W., Pigeon, O., Atieli, F., Duchon, S., & Phan, C. (2008). Long-term field performance of a polyester-based long-lasting insecticidal mosquito net in rural Uganda. [Clinical Trial, Phase III Comparative Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *7*, 49. doi: 10.1186/1475-2875-7-49
- Kilian, A., Byamukama, W., Pigeon, O., Gimnig, J., Atieli, F., Koekemoer, L., & Protopopoff, N. (2011). Evidence for a useful life of more than three years for a polyester-based long-lasting insecticidal mosquito net in Western Uganda. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *10*, 299. doi: 10.1186/1475-2875-10-299
- Kitchener, S., Nasveld, P., Bennett, S., & Torresi, J. (2005). Adequate primaquine for vivax malaria. [Comparative Study]. *J Travel Med*, *12*(3), 133-135. doi: 10.2310/7060.2005.12306
- Kondrashin, A., Baranova, A. M., Ashley, E. A., Recht, J., White, N. J., & Sergiev, V. P. (2014). Mass primaquine treatment to eliminate vivax malaria: lessons from the past. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Malar J*, *13*, 51. doi: 10.1186/1475-2875-13-51
- Kroeger, A., Gonzalez, M., & Ordonez-Gonzalez, J. (1999). Insecticide-treated materials for malaria control in Latin America: to use or not to use? [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, *93*(6), 565-570. doi: 10.1016/s0035-9203(99)90048-2

- Larranaga, N., Mejia, R. E., Hormaza, J. I., Montoya, A., Soto, A., & Fontecha, G. A. (2013). Genetic structure of *Plasmodium falciparum* populations across the Honduras-Nicaragua border. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *12*, 354. doi: 10.1186/1475-2875-12-354
- Leslie, T., Mayan, I., Mohammed, N., Erasmus, P., Kolaczinski, J., Whitty, C. J., & Rowland, M. (2008). A randomised trial of an eight-week, once weekly primaquine regimen to prevent relapse of *Plasmodium vivax* in Northwest Frontier Province, Pakistan. [Multicenter Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *PLoS One*, *3*(8), e2861. doi: 10.1371/journal.pone.0002861
- Lin, J. T., Saunders, D. L., & Meshnick, S. R. (2014). The role of submicroscopic parasitemia in malaria transmission: what is the evidence? [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Review]. *Trends Parasitol*, *30*(4), 183-190. doi: 10.1016/j.pt.2014.02.004
- Lorenz, L. M., Overgaard, H. J., Massue, D. J., Mageni, Z. D., Bradley, J., Moore, J. D., . . . Moore, S. J. (2014). Investigating mosquito net durability for malaria control in Tanzania - attrition, bioefficacy, chemistry, degradation and insecticide resistance (ABCDR): study protocol. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *BMC Public Health*, *14*, 1266. doi: 10.1186/1471-2458-14-1266
- Llanos-Cuentas, A., Lacerda, M. V. G., Hien, T. T., Velez, I. D., Namaik-Larp, C., Chu, C. S., . . . Green, J. A. (2019). Tafenoquine versus Primaquine to Prevent Relapse of *Plasmodium vivax* Malaria. [Clinical Trial, Phase III Comparative Study Equivalence Trial Multicenter Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *N Engl J Med*, *380*(3), 229-241. doi: 10.1056/NEJMoa1802537
- Mac Donald-Ottevanger, M. S., Adhin, M. R., Jitan, J. K., Bretas, G., & Vreden, S. G. (2018). Primaquine double dose for 7 days is inferior to single-dose treatment for 14 days in preventing *Plasmodium vivax* recurrent episodes in Suriname. *Infect Drug Resist*, *11*, 3-8. doi: 10.2147/IDR.S135897
- Manandhar, S., Bhusal, C. L., Ghimire, U., Singh, S. P., Karmacharya, D. B., & Dixit, S. M. (2013). A study on relapse/re-infection rate of *Plasmodium vivax* malaria and identification of the predominant genotypes of *P. vivax* in two endemic districts of Nepal. [Observational Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *12*, 324. doi: 10.1186/1475-2875-12-324
- Maslin, J., Cuguillere, A., Bonnet, D., & Martet, G. (1997). [Malaria attack: a very late relapse due to *Plasmodium vivax*]. [Case Reports]. *Bull Soc Pathol Exot*, *90*(1), 25-26.
- Mason, J. (1975). Patterns of *Plasmodium vivax* recurrence in a high-incidence coastal area of El Salvador, C. A. *Am J Trop Med Hyg*, *24*(4), 581-585.
- Massue, D. J., Moore, S. J., Mageni, Z. D., Moore, J. D., Bradley, J., Pigeon, O., . . . Lorenz, L. M. (2016). Durability of Olyset campaign nets distributed between 2009 and 2011 in eight districts of Tanzania. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *15*, 176. doi: 10.1186/s12936-016-1225-6
- Mendis, K. (2019). Mass drug administration should be implemented as a tool to accelerate elimination: against. *Malar J*, *18*(1), 279. doi: 10.1186/s12936-019-2907-7
- Michon, P., Cole-Tobian, J. L., Dabod, E., Schoepflin, S., Igu, J., Susapu, M., . . . Mueller, I. (2007). The risk of malarial infections and disease in Papua New Guinean children. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Am J Trop Med Hyg*, *76*(6), 997-1008.
- MINISTERIO DE SALUD. (2014). *ESQUEMA NACIONAL DE TRATAMIENTO DE MALARIA*. NICARAGUA: Retrieved from <https://www.paho.org/es/documentos/esquema-nacional-tratamiento-malaria-miniosterio-salud-nicaragua-2014>.
- Minta, A. A., Landman, K. Z., Mwandama, D. A., Shah, M. P., Eng, J. L. V., Sutcliffe, J. F., . . . Steinhardt, L. C. (2017). The effect of holes in long-lasting insecticidal nets on malaria in Malawi: results

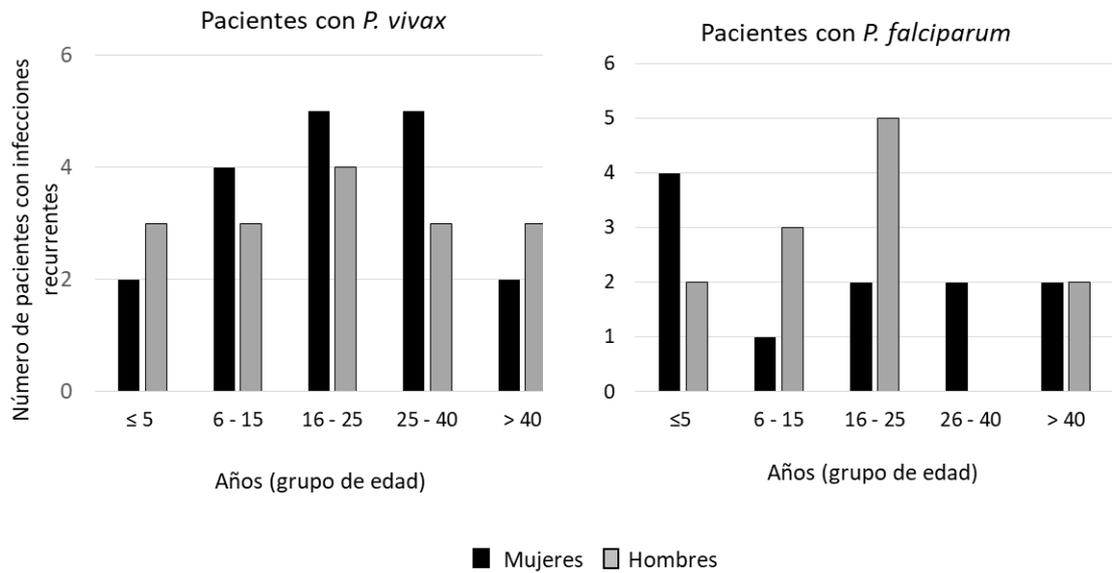
- from a case-control study. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Malar J*, 16(1), 394. doi: 10.1186/s12936-017-2033-3
- Moon, S. U., Lee, H. W., Kim, J. Y., Na, B. K., Cho, S. H., Lin, K., . . . Kim, T. S. (2009). High frequency of genetic diversity of *Plasmodium vivax* field isolates in Myanmar. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Acta Trop*, 109(1), 30-36. doi: 10.1016/j.actatropica.2008.09.006
- Mueller, I., Galinski, M. R., Tsuboi, T., Arevalo-Herrera, M., Collins, W. E., & King, C. L. (2013). Natural acquisition of immunity to *Plasmodium vivax*: epidemiological observations and potential targets. [Review]. *Adv Parasitol*, 81, 77-131. doi: 10.1016/B978-0-12-407826-0.00003-5
- Munoz, J., Velasco, M., Alonso, D., Valls, M. E., Corachan, M., & Gascon, J. (2006). [How much primaquine is needed to eradicate *Plasmodium vivax* hypnozoites?]. [Case Reports]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 24(1), 29-30.
- Mutuku, F. M., Khambira, M., Bisanzio, D., Mungai, P., Mwanzo, I., Muchiri, E. M., . . . Kitron, U. (2013). Physical condition and maintenance of mosquito bed nets in Kwale County, coastal Kenya. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Malar J*, 12, 46. doi: 10.1186/1475-2875-12-46
- OMS. (2016). CONTROL Y ELIMINACION DEL PALUDISMO POR *PLASMODIUM VIVAX* Retrieved August 10, 2023, from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204494/9789243509242_spa.pdf
- Orjuela-Sanchez, P., da Silva, N. S., da Silva-Nunes, M., & Ferreira, M. U. (2009). Recurrent parasitemias and population dynamics of *Plasmodium vivax* polymorphisms in rural Amazonia. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Am J Trop Med Hyg*, 81(6), 961-968. doi: 10.4269/ajtmh.2009.09-0337
- PAHO Malaria Technical Advisory Group. (2017). Strategies to decrease relapses in *P.vivax* cases Retrieved February 24, 2022, from https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&slug=malaria-technical-group-session-6-strategy-for-reducing-the-relapses-of-p-vivax-for-the-control-and-elimination-of-malaria-in-the-americas&Itemid=270&lang=es
- PLAN NACIONAL DE NICARAGUA EN EL MARCO DEL PLAN MESOAMERICANO PARA MEJORAR EL CONTROL DE LA MALARIA HACIA SU ELIMINACIÓN 2015. (2015), from <http://www.proyectomesoamerica.org:8088/smsp/phocadownload/Institucional/PlanesNacionales/PNMalaria/NIC%20PN%20Malaria.pdf>.
- Rajgor, D. D., Gogtay, N. J., Kadam, V. S., Kamtekar, K. D., Dalvi, S. S., Chogle, A. R., . . . Kshirsagar, N. A. (2003). Efficacy of a 14-day primaquine regimen in preventing relapses in patients with *Plasmodium vivax* malaria in Mumbai, India. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 97(4), 438-440. doi: 10.1016/s0035-9203(03)90082-4
- Richards, F. O., Jr., Flores, R. Z., Sexton, J. D., Beach, R. F., Mount, D. L., Cordon-Rosales, C., . . . Klein, R. E. (1994). Effects of permethrin-impregnated bed nets on malaria vectors of northern Guatemala. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Bull Pan Am Health Organ*, 28(2), 112-121.
- Rodrigues, L., Rodrigues, E., Ribatski-Silva, D., Teixeira, L., Ferreira, A., & Fernandes, C. (2014). Factors associated with recurrent *Plasmodium vivax* malaria in Porto Velho, Rondônia State, Brazil, 2009. *Cad Saude Publica*, 30(7), 1403-1417.
- Rodriguez, M. H., & Betanzos-Reyes, A. F. (2011). [Plan to improve malaria control towards its elimination in Mesoamerica]. *Salud Publica Mex*, 53 Suppl 3, S333-348.
- Rodriguez, M. H., Betanzos-Reyes, A. F., Hernandez-Avila, J. E., Mendez-Galvan, J. F., Danis-Lozano, R., & Altamirano-Jimenez, A. (2009). The participation of secondary clinical episodes in the

- epidemiology of vivax malaria during pre- and post-implementation of focal control in the state of Oaxaca, Mexico. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Am J Trop Med Hyg*, 80(6), 889-895.
- Sagara, I., Sangare, D., Dolo, G., Guindo, A., Sissoko, M., Sogoba, M., . . . Doumbo, O. (2002). A high malaria reinfection rate in children and young adults living under a low entomological inoculation rate in a periurban area of Bamako, Mali. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Am J Trop Med Hyg*, 66(3), 310-313. doi: 10.4269/ajtmh.2002.66.310
- Sahu, S. S., Gunasekaran, K., Vijayakumar, K. N., & Jambulingam, P. (2017). Bio-efficacy, physical integrity, community usage and washing practices of mosquito nets treated with ICON MAXX long-lasting insecticidal treatment in India. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 112(2), 108-115. doi: 10.1590/0074-02760160287
- Sequeira M, E. H., Amador JJ, Domingo G, Quintanilla M, and de los Santos T. (2010). Malaria in Nicaragua: A Review of Control Status, Trends, and Needs. . *PATH*. Retrieved May 15, 2022, from https://path.azureedge.net/media/documents/TS_nicaragua_malaria_rpt.pdf
- Sharma, P., Pillai, C. R., & Devi Sharma, J. (2000). In vitro schizontocidal activity of standard antimalarial drugs on chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant isolates of Plasmodium falciparum. [In Vitro]. *Indian J Exp Biol*, 38(11), 1129-1133.
- Sharma, R. C., Gautam, A. S., Orlov, V., & Sharma, V. P. (1990). Relapse pattern of Plasmodium vivax in Kheda district, Gujarat. *Indian J Malariol*, 27(2), 95-99.
- Silva, R. G., Nunes, J. E., Canduri, F., Borges, J. C., Gava, L. M., Moreno, F. B., . . . Santos, D. S. (2007). Purine nucleoside phosphorylase: a potential target for the development of drugs to treat T-cell- and apicomplexan parasite-mediated diseases. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Curr Drug Targets*, 8(3), 413-422. doi: 10.2174/138945007780058997
- Sinka, M. E., Bangs, M. J., Manguin, S., Rubio-Palis, Y., Chareonviriyaphap, T., Coetzee, M., . . . Hay, S. I. (2012). A global map of dominant malaria vectors. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Parasit Vectors*, 5, 69. doi: 10.1186/1756-3305-5-69
- Sinka, M. E., Rubio-Palis, Y., Manguin, S., Patil, A. P., Temperley, W. H., Gething, P. W., . . . Hay, S. I. (2010). The dominant Anopheles vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic precis. *Parasit Vectors*, 3, 72. doi: 10.1186/1756-3305-3-72
- Smith, S. C., Joshi, U. B., Grabowsky, M., Selanikio, J., Nobiya, T., & Aapore, T. (2007). Evaluation of bednets after 38 months of household use in northwest Ghana. *Am J Trop Med Hyg*, 77(6 Suppl), 243-248.
- Sreehari, U., Mittal, P. K., Razdan, R. K., Ansari, M. A., Rizvi, M. M., & Dash, A. P. (2007). Efficacy of PermaNet 2.0 against Anopheles culicifacies and Anopheles stephensi, malaria vectors in India. [Evaluation Study]. *J Am Mosq Control Assoc*, 23(2), 220-223. doi: 10.2987/8756-971X(2007)23[220:EOPAAC]2.0.CO;2
- StataCorp. (2015). *Stata Statistical Software: Release 14*.
- Stepniewska, K., Taylor, W. R., Mayxay, M., Price, R., Smithuis, F., Guthmann, J. P., . . . White, N. J. (2004). In vivo assessment of drug efficacy against Plasmodium falciparum malaria: duration of follow-up. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(11), 4271-4280. doi: 10.1128/AAC.48.11.4271-4280.2004
- Sutcliffe, J. F., & Yin, S. (2014). Behavioural responses of females of two anopheline mosquito species to human-occupied, insecticide-treated and untreated bed nets. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Malar J*, 13, 294. doi: 10.1186/1475-2875-13-294
- Tan, K. R., Coleman, J., Smith, B., Hamainza, B., Katebe-Sakala, C., Kean, C., . . . Craig, A. S. (2016). A longitudinal study of the durability of long-lasting insecticidal nets in Zambia. *Malar J*, 15, 106. doi: 10.1186/s12936-016-1154-4

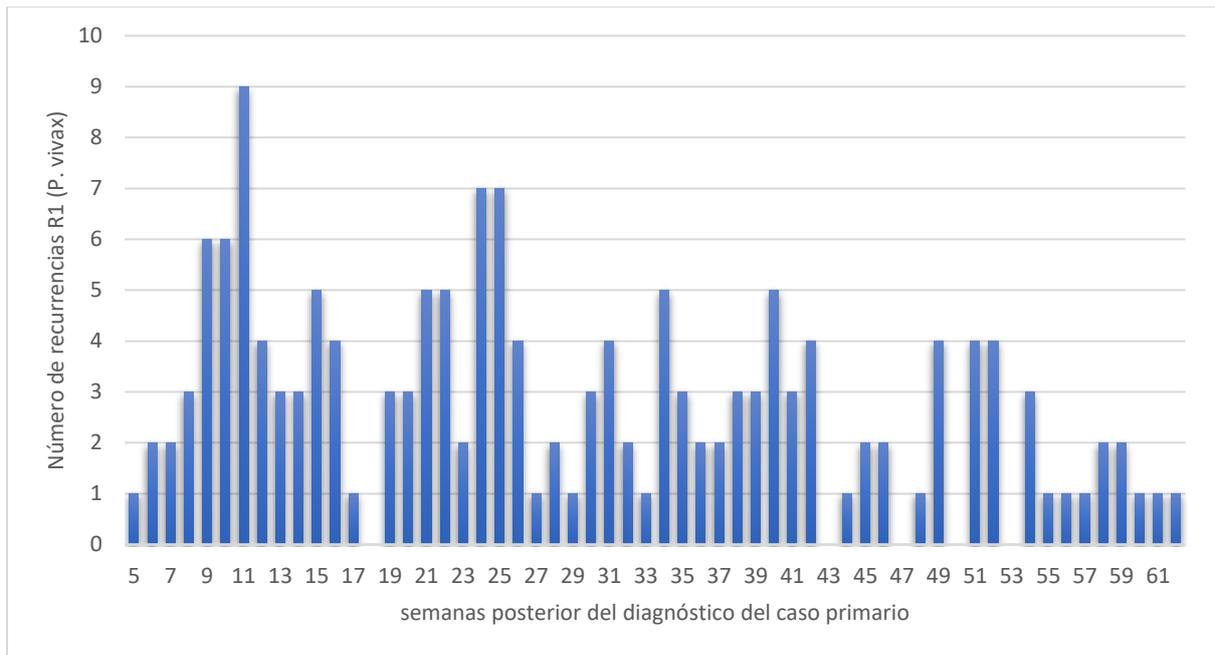
- Taylor, W. R., Hoglund, R. M., Peerawaranun, P., Nguyen, T. N., Hien, T. T., Tarantola, A., . . . Mukaka, M. (2021). Development of weight and age-based dosing of daily primaquine for radical cure of vivax malaria. *Malar J*, *20*(1), 366. doi: 10.1186/s12936-021-03886-w
- Trujillo, S. B., & Giraldo, C. (1991). Reinfección endógena por Plasmodium vivax. *Iatreia*, *4*(1), 17-21.
- Vanden Eng, J. L., Mathanga, D. P., Landman, K., Mwandama, D., Minta, A. A., Shah, M., . . . Steinhart, L. (2017). Assessing bed net damage: comparisons of three measurement methods for estimating the size, shape, and distribution of holes on bed nets. [Comparative Study]. *Malar J*, *16*(1), 405. doi: 10.1186/s12936-017-2049-8
- Vasquez-Vivar, J., & Augusto, O. (1992). Hydroxylated metabolites of the antimalarial drug primaquine. Oxidation and redox cycling. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J Biol Chem*, *267*(10), 6848-6854.
- Watson, J., Taylor, W. R., Menard, D., Kheng, S., & White, N. J. (2017). Modelling primaquine-induced haemolysis in G6PD deficiency. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Elife*, *6*. doi: 10.7554/eLife.23061
- White, N. J. (2004). Antimalarial drug resistance. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *J Clin Invest*, *113*(8), 1084-1092. doi: 10.1172/JCI21682
- White, N. J. (2014). *Manson's Tropical Diseases*: Elsevier Health Sciences.
- WHO. (2005). Guidelines for the laboratory and field testing of long-lasting insecticidal mosquito nets. Retrieved August 16, 2023, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69007>
- WHO. (2011a). Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions. Retrieved August 16, 2023, from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44610/9789241501705_eng.pdf;jsessionid=E17EF80BA51A741B0DB2CAEDEF9BE3D?sequence=1
- WHO. (2011b). Universal access to malaria diagnostic testing: an operational manual Retrieved August 10, 2023, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44657>
- WHO. (2013a). Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal nets. Retrieved August 18, 2023, from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80270/9789241505277_eng.pdf;jsessionid=9E38893F53AEFA947F6C8DBE4CF83001?ua=1?sequence=1
- WHO. (2013b). Vector control technical expert group report to MPAC. Retrieved August 18, 2023, from https://files.givewell.org/files/DWDA%202009/Interventions/Nets/LLIN_Equivalent_Coverage_Years/WHO_Vector_Control_Technical_Expert_Group_Report_to_MPAC_2013.pdf
- WHO. (2015a). Global technical strategy for malaria 2016–2030 Retrieved January 26, 2023, from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240031357>
- WHO. (2015b). Guidelines for the treatment of malaria 2015. Third Edition. Retrieved February 24, 2022, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294440/>
- WHO. (2019a). New opportunities to prevent Plasmodium vivax malaria relapse Retrieved February 24, 2022, from <https://www.who.int/news/item/25-02-2019-new-opportunities-to-prevent-p-vivax-malaria-relapse#:~:text=For%20the%20treatment%20of%20P,a%20full%20%2Dweek%20period>
- WHO. (2019b). World Malaria report 2019 Retrieved February 24, 2022, from <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565721>
- WHO. (2020). World Malaria Report 2020 Retrieved August 9, 2023, from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>
- WHO. (2021a). Guidelines for malaria Retrieved February 24, 2022, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/343751>
- WHO. (2021b). World Malaria Report 2021 Retrieved June 6, 2022, from <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2021>
- WHO. (2022). World Malaria Report 2022 Retrieved January 26, 2023, from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240064898>

- WHO. (2021). WHO Global Programme (GMP) Vector Control, from <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/prevention/vector-control>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2 Elegant Graphics for Data Analysis*.
- Wills, A. B., Smith, S. C., Anshebo, G. Y., Graves, P. M., Endeshaw, T., Shargie, E. B., . . . Emerson, P. M. (2013). Physical durability of PermaNet 2.0 long-lasting insecticidal nets over three to 32 months of use in Ethiopia. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Malar J*, *12*, 242. doi: 10.1186/1475-2875-12-242
- Zimmerman, R. H. (1992). Ecology of malaria vectors in the Americas and future direction. [Comparative Study Review]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, *87 Suppl 3*, 371-383. doi: 10.1590/s0074-02761992000700064

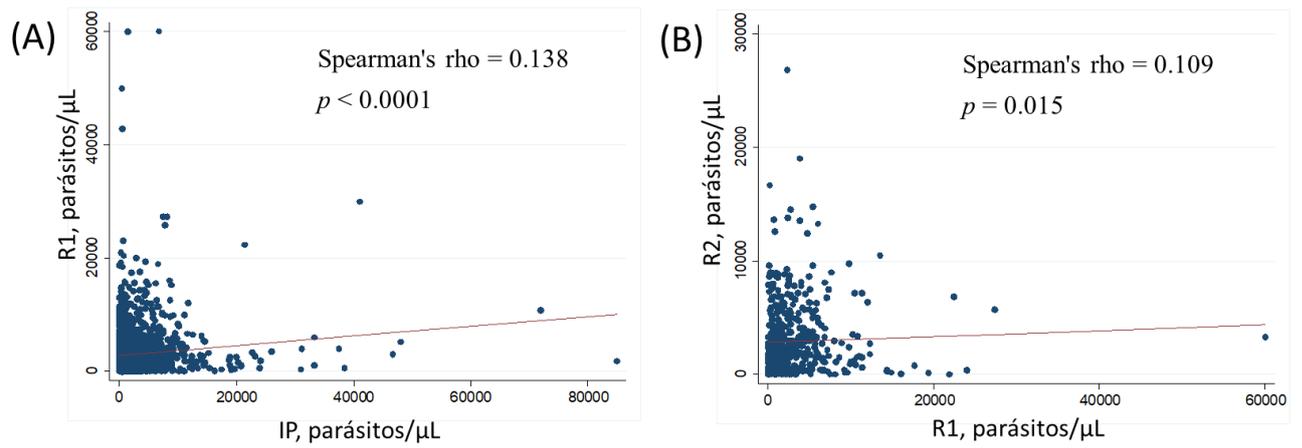
ANEXOS



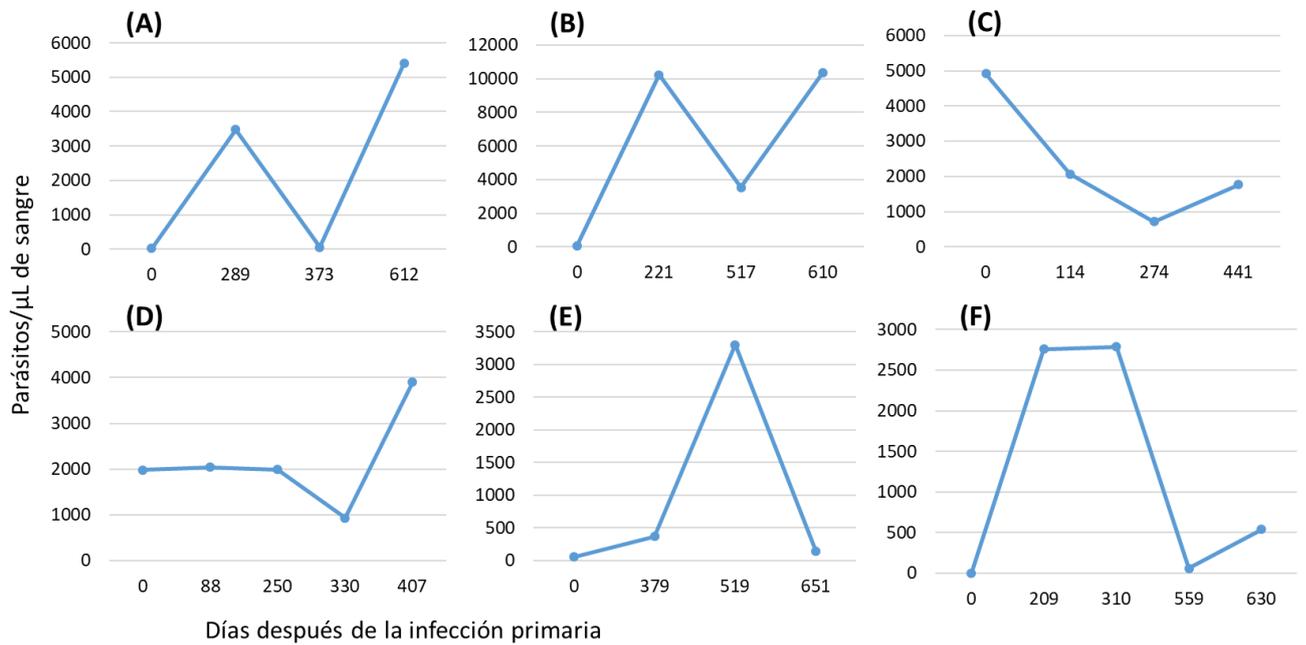
Anexo 1. Edad y sexo de pacientes con infección recurrente (R1) de corto intervalo de tiempo. Para infecciones con *P. vivax* 7–24 días; n = 87, mediana = 4/RIC 2-10 (Mann-Whitney: z = -0.462, p = 0.643) o con *P. falciparum* 7–60 días; n = 24, mediana = 5/RIC 2.5-12.5 (z = -0.307, p = 0.758).



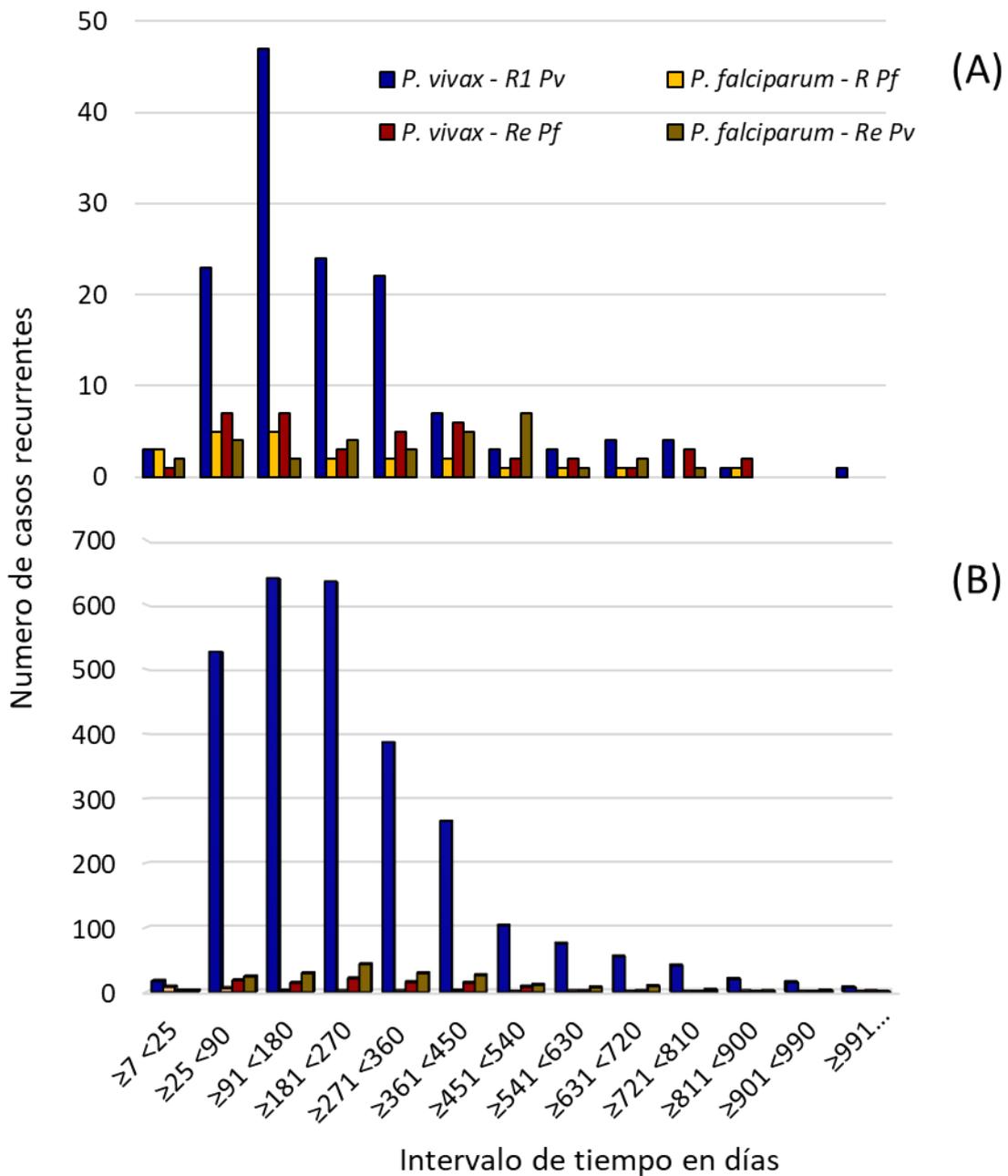
Anexo 2. Distribucion de casos recurrentes R1 de *P. vivax* observados semanas después (5-62 semanas después del caso primario o primero registrado en la base de datos) en el municipio de Rosita, 2013-2018.



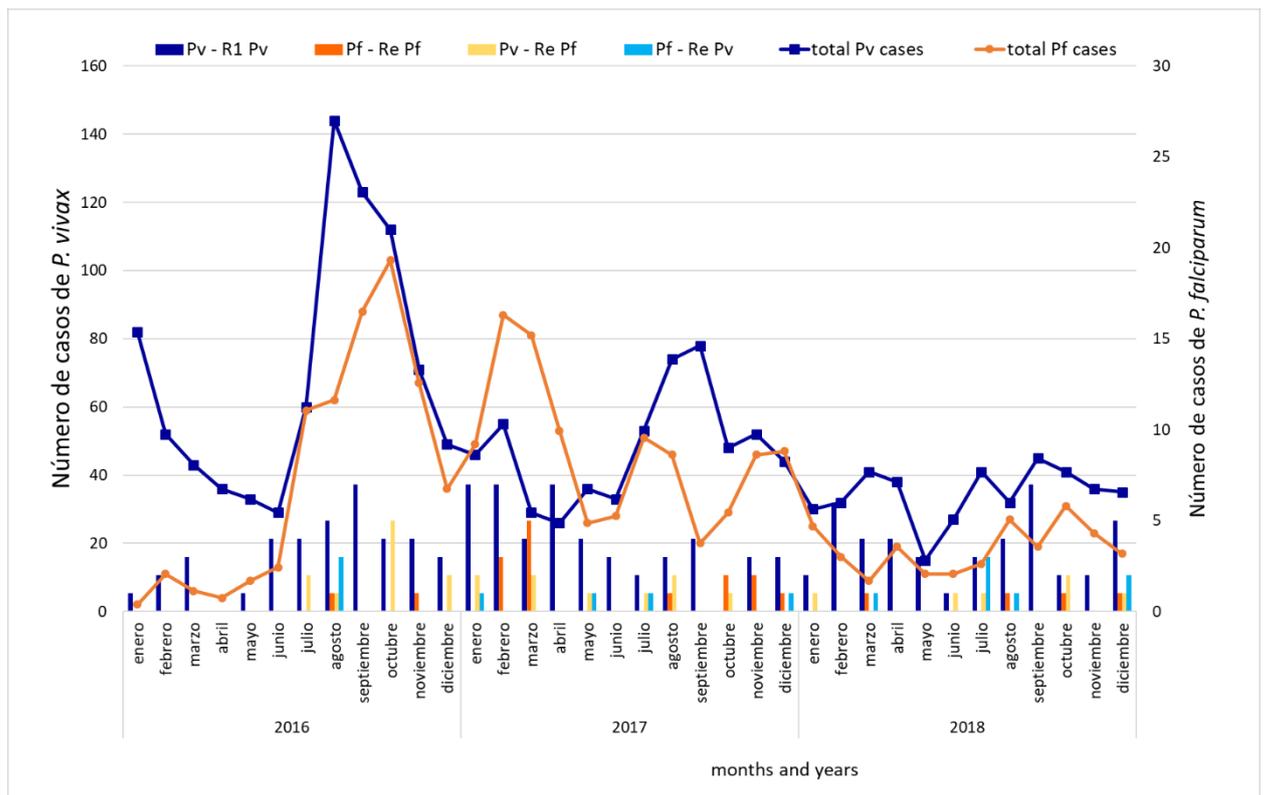
Anexo 3. Correlación entre parasitemias de la infección primaria y recurrente por *P. vivax*. No se observó correlación entre la parasitemia de *P. vivax* reportada para la infección primaria (IP) vs la infección recurrente (R1) ($n = 1,784$), y entre las infecciones recurrentes R1 y R2 ($n = 495$), en el municipio de Puerto Cabezas, Nicaragua, 2017–2018.



Anexo 5. Variación en la densidad parasitaria de *P. vivax* en infecciones primarias y recurrentes a nivel de paciente, Puerto Cabezas, Nicaragua (2017–2018). Se presentan los resultados de parasitemia en 6 pacientes (a-f) con 3-4 episodios recurrentes después de la infección sanguínea primaria (Día 0, primer diagnóstico de infección por *P. vivax*).



Anexo 6. Comparación de infecciones recurrentes y reinfecciones por *P. vivax* y *P. falciparum* en dos municipios del RACCN, Nicaragua, 2013-2018. La frecuencia de infecciones con especie homóloga y heteróloga (recurrencia y reinfección, respectivamente) se categoriza según el intervalo de tiempo entre la infección primaria y la primera infección recurrente (R1) para Rosita (a) y Puerto Cabezas (b). R1 Pv, primera infección recurrente por *P. vivax*; R Pf, infección recurrente por *P. falciparum*; Re, reinfección (dos infecciones consecutivas, primero por una especie y después por otra).



Anexo 7. Comparación de la distribución temporal de casos mensuales por *P. vivax* versus *P. falciparum*, y de los casos recurrentes R1 de ambas especies en el municipio de Rosita, Nicaragua, 2016-2018.