



**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua  
Centro de investigación y Estudios de la Salud**



**MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA  
2006-2008**

**TESIS  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
MAESTRA EN EPIDEMIOLOGÍA**

**UTILIDAD DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA  
POLIMERASA MÚLTIPLE ANIDADA (NM-PCR) PARA  
DETECTAR LA INFECCIÓN POR *PLASMODIUM VIVAX* Y  
*PLASMODIUM FALCIPARUM* EN RESIDENTES DE LOS  
MUNICIPIOS DE CHINANDEGA, EL VIEJO, EL REALEJO Y  
CHICHIGALPA, DURANTE EL PERIODO DE JULIO A  
NOVIEMBRE DE 2008**

**AUTORA:  
BETZABE MARA RODRIGUEZ MERCADO  
LICENCIADA EN BIOLOGIA**

**TUTORA:  
MARTHA AZUCENA GONZALEZ MONCADA  
MD. MSc. PhD.**

**MANAGUA, NICARAGUA  
ABRIL 2009**

# INDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PAGINA</b>
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN.....	iii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
III. JUSTIFICACIÓN.....	8
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
V. OBJETIVOS.....	11
VI. MARCO TEÓRICO.....	12
VII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	26
VIII. RESULTADOS.....	42
IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	50
X. CONCLUSIONES.....	55
XI. RECOMENDACIONES.....	56
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	58
ANEXOS	

## DEDICATORIA

A Dios, por darme fuerzas, guiarme y aliviar mi carga, para terminar mis estudios ante todos los contratiempos, porque muchos me dijeron que era difícil, pero gracias a DIOS no fue imposible.

A la memoria de Rafael Rodríguez y Rosa Mercado, mis padres, porque aun que no estén físicamente su gran amor me acompaña, porque su confianza en que podía lograrlo aun la siento, como cuando estaban conmigo, porque sus consejos y guías hoy son ejemplo de mi vida, por enseñarme que la humildad es el más alto tributo del hombre.

A mis hijos Charlie, Ernesto y Rafaelito, para quien todo mi esfuerzo esta orientado, por ser la inspiración y empuje en mi formación y poder convertirme así en su guía y ejemplo.

A Marvin Hidalgo, por apoyarme en los momentos de más dificultad como mi gran amigo, esposo, compañero y asesor personal, por su paciencia, consejos, mi soporte ante los tropiezos, su comprensión, explicaciones y amor.

A Yoquebeth mi hermana menor y su hija Cinthia porque su orgullo y confianza en mi, alentó mi esfuerzo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Con Estas líneas expreso mi total gratitud a tantas personas que me han ayudado a superar los obstáculos y llegar a la meta.

A mi tutora, la Doctora Martha Azucena González Moncada, con su apoyo y guía indiscutible he logrado completar este documento que hoy me sirve para alcanzar mi grado de Maestra en Epidemiología.

A la Doctora Eva Harris, amiga de todos los tiempos, gracias por creer en mí y ayudarme a consolidar una de mis metas.

Al Doctor Miguel Orozco que con franqueza me ha demostrado su gran valor humano y amistad, siendo un gran apoyo e inspiración en el diseño de mis nuevas metas.

A Ernie Ludy, gracias por su gran corazón y por haber confiado en mí, brindándome el apoyo económico que necesitaba para realizar esta maestría.

A los Doctores: Alcides González, Liliam González, Juan Jose Amador, Francisco Acevedo, Agustín Benito y José Miguel Rubio, por apoyarme para concluir este estudio.

Al Doctor Octavio Chávez, al equipo del SILAIS de Chinandega, así como al equipo administrativo del CIES, mis compañeros del CNDR, por apoyarme con el muestreo de los pacientes.

A todos los profesores del CIES, por darme sus valiosos conocimientos y experiencia, especialmente a las MSc. Alma Lila Pastora y Alice Pineda Withaker.

## RESUMEN

La existencia de Malaria subclínica es ahora un desafío para el control de la Malaria y más aun su detección, la falta de técnicas diagnósticas más sensibles dificultan la evaluación de zonas con marcada reducción de casos positivos, con este estudio nos propusimos valorar la utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR), para detectar la infección por *P. vivax* y *P. falciparum* en residentes de los municipios de Chinandega, El Viejo, El Realejo y Chichigalpa.

127 personas integraron el estudio que se normó bajo los preceptos éticos para las investigaciones biomédicas en sujetos humanos, durante el periodo de Julio a Noviembre de 2008, procedentes de 15 localidades endémicas de Malaria. Cuatro diferentes tipos de técnicas diagnósticas fueron evaluadas: la Gota Gruesa, Prueba Rápida para Malaria **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®**, NM-PCR en (Papel Filtro y Sangre Total) y consintió en tres Tamizaje de muestras sanguíneas con una diferencia de 7 días entre Tamizaje.

Se caracterizó a las personas del estudio como una población susceptible para la aparición de casos de Malaria subclínica o de baja parasitemia porque han estado expuestos a factores de riesgos que favorecen la aparición de estos casos. Se estandarizó un NM-PCR, previo a la toma de muestra de pacientes, con un Panel de Controles (Positivos y Negativos), procedentes del Centro Regional de Investigaciones de Salud Pública (ISP) Tapachula, México, coincidiendo en su totalidad con los resultados del ISP. Al valorar la calidad diagnóstica del NM-PCR frente a las otras técnicas, resultó ser un método muy útil para diagnóstico de infecciones con baja parasitemia y asintomáticas, ya que fue 100% Sensible y Especifico, con Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo del 100%, comparado a la Gota Gruesa analizada en el CNDR y el SILAIS, así como la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®**.

## I. INTRODUCCIÓN

La Malaria continúa siendo uno de los problemas de Salud Pública de mayor peso en la actualidad, el impacto que ocasiona la Malaria en la salud y en el desarrollo económico de los países, es mayor en los trópicos y subtropicales, el costo económico a causa de la Malaria asciende a \$ 1.8 millones por año <sup>36, 41,42</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año ocurren entre 300 y 500 millones de nuevos casos clínicos, siendo la edad pediátrica la más afectada, particularmente los menores de cinco años y ocurren de 1.5 a 2,7 millones de muertes anuales, la que es causada por el parásito protozoario *Plasmodium* y que es transmitido por mosquitos *Anopheles*, que pican a las personas entre el anochecer y el amanecer<sup>36,41,42</sup>.

Aunque la mayoría de las muertes ocurre en el África al sur del Sahara, la Malaria ocasiona considerable morbilidad en las Américas, principalmente en la Cuenca Amazónica<sup>21, 43</sup>. De los 293 millones de habitantes en riesgo, el 69.28% se encuentran en 21 países con riesgo de transmisión. En el continente Americano, el 35% de la población vive en áreas con algún riesgo para la transmisión de la Malaria y 90 millones de personas viven en lugares donde históricamente se reporta transmisión<sup>24, 42</sup>.

En el año 2003 el Fondo Mundial decide apoyar a países Centroamericanos en el control de enfermedades como VIH/SIDA, Tuberculosis y Malaria, Nicaragua fue uno de los países beneficiados y uno de los componentes de este plan es fortalecer la Vigilancia Epidemiológica y Entomológica de 36 municipios y zonas fronterizas e identificar mediante investigaciones operativas, nuevas estrategias de control para el país <sup>13</sup>.

En Nicaragua se han realizado muchos estudios para la evaluación de Pruebas para Diagnóstico Rápido de la Malaria (OptiMal, ICT, SmartTest) para

brindar métodos diagnósticos más sencillos, rápidos y sensibles que el método con que tradicionalmente cuenta el País <sup>13</sup>.

En los últimos años en Nicaragua la Malaria ha tenido una tendencia a la reducción, desde el 2005 hasta el 2008 se ha registrado una reducción del 75%, correspondiendo el 9.7% a *P. falciparum*<sup>18</sup>.

Controlar la infección por Malaria en regiones endémicas ha sido una de las metas importante de la OMS, desde que fue fundada en 1948, la confianza en lograr esta meta floreció en el año de 1950, cuando la chloroquina y el DDT mostraban promesas de erradicar la malaria, eliminando el *Plasmodium* y al Anophelino respectivamente, sin embargo la amplia distribución de la resistencia tanto del parásito como del vector han complicado el control de la Malaria <sup>9</sup>.

Una de las grandes desventajas en este control además, han sido los métodos diagnósticos, desde que en 1880 Alphonse Laveran publicó la primera descripción de los parásitos del Paludismo, la observación al microscopio de estos invadiendo los glóbulos rojos mediante colorante que tiñe el ADN, ha sido designada como la prueba de oro (Gold Standard), es barata, rápida y sencilla, además se puede identificar la especie de *Plasmodium* y el nivel de parasitemia que el paciente tiene al momento del análisis de la lámina, su desventaja radica en la captación de bajas parasitemias, ya sea por error humano, equipos, reactivos o por los aspectos inmunológicos propios del paciente <sup>2,4</sup>.

El desarrollo de técnicas moleculares, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), ofrecen una alternativa en la identificación de casos de malaria sub-clínica o de baja parasitemia, mostrando tener más sensibilidad y especificidad que la “Gold Standard”. Su ventaja radica en la capacidad para detectar parasitemias en pacientes de 5 parásitos/μl de sangre, así como

estadios del parásito (formas sexuadas) que hacen que el paciente no presente los síntomas propios de la enfermedad, incorporando, además, la simplicidad de la toma de muestra <sup>20, 25,36, 37</sup>.

El PCR es un sistema de diagnóstico muy útil en la detección de infecciones ocasionadas por más de una especie de *Plasmodium*<sup>15, 29</sup>, lo que es importante para el tratamiento de la Malaria, ya que éste depende de la(s) especie(s) parasitaria(s)<sup>24</sup>, además es muy valioso en los estudios sobre diversidad genética del *Plasmodium*, identificación de genes de resistencia y actualización de la epidemiología de la enfermedad<sup>26</sup>.

Con el presente estudio se estandarizó la técnica Molecular para la detección de ADN de *Plasmodium*, una PCR Múltiple Anidado (NM-PCR, siglas en Ingles) para el diagnóstico de Malaria, detección de bajas parasitemias y casos asintomáticos que pueden apoyar la vigilancia y control de esta enfermedad.

Además se utilizó esta técnica para evaluar personas que residen en tres municipios de Chinandega, marcados como los más endémicos de este Departamento y que después de intervenciones hecha por el MINSA, ha mostrado una reducción significativa de la malaria, la que ha sido confirmada solamente utilizando la microscopia de la gota gruesa para el diagnóstico de la Malaria.

Este método puede ser de utilidad para comprobar si la reducción es debida a la efectiva acción de las intervenciones del programa de control de la Malaria y no por el enmascaramiento que los parásitos logran cuando hay condiciones inmunológicas en las personas que permiten la presencia de individuos asintomático o bajas parasitemias, brindando una herramienta más sensible en la detección de esta enfermedad.



## II. ANTECEDENTES

La presencia de casos subclínicos de Malaria o de baja parasitemia ha derivado en la necesidad de estandarizar técnicas más sensibles y específicas orientadas para la detección de estos <sup>11,21</sup>.

En un estudio realizado en Tailandia, donde se comparó la microscopía (Gota Gruesa), de campo y de centros de referencia, como herramienta para la detección de casos asintomáticos de *P. falciparum* y *P. vivax* demostró que los bajos niveles de parasitemia e infecciones mixtas, afectan el diagnóstico de la Malaria <sup>32,34</sup>.

Los resultados eran ambiguos, ya que el conteo parasitario y el procedimiento de la preparación de la lámina era inconsistente a la hora del control de calidad, por eso ellos concluyen que para estos casos la Gota Gruesa no puede ser considerada "Gold Standard" <sup>32,34</sup>.

El Estatus Inmune que muchas personas pueden desarrollar es otro de los problemas que los países endémicos de Malaria enfrentan en cuanto al sistema de vigilancia y control de la malaria, ya que los parásitos en estas personas son mantenidos por el organismo a niveles tan bajos que en la mayoría de ellos no logran generar los síntomas característicos de la Malaria <sup>39</sup>.

En un estudio realizado en Niakhar, Senegal a 362 niños asintomáticos, entre dos y diez años, donde se utilizaron técnicas moleculares y serológicas para evaluar la correspondencia entre la Multiplicidad de la Infección (Multiplicity of Infection MOI) y la presencia de casos asintomáticos, encontraron una fuerte correspondencia entre los casos positivos y el hecho que estos niños hayan tenido múltiples infecciones 64% antes de la transmisión y 85% después de la transmisión <sup>39</sup>.

Estudios hechos en el campo de la Epidemiología Molecular realizados en Papua, Nueva Guinea, Senegal, Tanzania, Sudan, y la Guinea Ecuatorial han demostrado que el MOI es edad dependiente, interpretando esto como una reflexión de la inmunidad específica anti-parásito<sup>39</sup>.

La transmisión de la Malaria en una zona endémica no es homogénea y depende de dos factores: los sitios de alimentación del mosquito y las agrupaciones de personas que sirven como reservorio del parásito, la inmunidad clínica de una población ocurre con la presencia de una respuesta inmune que produce el control pero no la eliminación completa de la parasitemia, inhibiendo solo las secuelas patológicas<sup>16, 40</sup>

Desde que en 1999 España incorporó el Nested-Multiplex PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada) a su sistema de vigilancia ha podido incrementar la detección de los casos confirmados de malaria en un 12.4% más que con la microscopía y 13% de infecciones mixtas que la microscopía no fue capaz de detectar<sup>30,31</sup>.

En un estudio comparativo realizado a 120 voluntarios de un Centro de Salud de Malaria del Distrito de Chahbahar del Sur-Este de Irán donde se colectaron muestras para ser procesados por Gota Gruesa y PCR, resultó que el PCR detectó 31 veces más casos positivos que la microscopía, confirmando la alta sensibilidad que otros estudios describen del PCR<sup>37</sup>.

En un estudio Longitudinal (Abril 2001 -Marzo 2004), realizado en los bosques del Atlántico del Estado de Espíritu Santo, Brasil, se tamizaron 65 pacientes y 1,777 residentes a través de Gota gruesa, Múltiple PCR, InmunoFluorescencia Indirecta (IFI), y ELISA para detectar *Plasmodium*, se encontró la presencia de *Plasmodium Ssp* en 2.8 % (50 residentes) por Serología (ELISA/IFI), por PCR 2.6%(47) resultaron positivos para *P. vivax*,

uno para *P. malariae* y dos resultaron verdaderos negativos, todas las gotas gruesas resultaron negativas, verificando la alta sensibilidad del PCR ante pruebas serológicas que pueden detectar títulos inmunológicos que pueden permanecer por mucho tiempo resultando en falsos positivos <sup>7,15</sup>

Muchos estudios han demostrado la gran utilidad de la Sangre en papel filtro tanto para la toma de muestra, manejo, transporte y purificación del ADN para el diagnóstico por PCR, manteniendo una sensibilidad aun en niveles de baja parasitemia, la facilidad de este proceso ha llevado al incremento en la captación de casos positivos <sup>8, 28,39</sup>.

Estudios para determinar la presencia de casos asintomáticos han sido un punto de inquietud para muchos países.

En Colombia durante el 2004 se realizó una evaluación a 255 estudiantes de Quibdó, de la provincia de Chocó, para verificar la presencia de casos asintomáticos, ya que estos podrían constituir una reservorio importante capaz de mantener la transmisión local, en el estudio se utilizó, IFI y la Gota Gruesa como técnicas de laboratorio para analizar las muestras de los estudiantes, ambas técnicas dieron negativos para todas las muestras pero aun que, no encontraron ningún caso asintomático, ellos aclaran el limitado alcance de las técnicas seleccionadas para este estudio <sup>23</sup>.

En Honduras se realizó un estudio en 146 escolares en el Centro de Salud de Palacios en la Mosquitia, para la búsqueda activa de *Plasmodium Ssp* durante 17 semanas continuas utilizando la Gota Gruesa como única técnica diagnóstica. Los niños involucrados en el estudio no habían referido historial de fiebre en los últimos meses previo al estudio y se encontraban afebriles al momento de la toma de muestra <sup>3</sup>.

En la evaluación ellos encontraron, esplenomegalia leve en un 14.4%(21) y dos Gotas Gruesas positivas con una Prevalencia de 1.4%, IC 95%, estos resultados indican que en esta región del país con alta transmisión de Malaria existían los casos subclínicas y debido a que las actividades de control y prevención están dirigidas a casos sintomáticos, las infecciones sub-clínicas contribuyen a mantener la transmisión activa de la Malaria<sup>3</sup>.

En Nicaragua se han llevado a cabo estudios para evaluar diferentes pruebas rápidas para la detección de Malaria o Pruebas Inmunocromatográficas, con el objetivo de valorar la Sensibilidad y Especificidad de estas pruebas comparada con la Gota Gruesa y poder simplificar el tiempo del resultado de laboratorio, muchas de ellas han demostrado su gran utilidad sobre todo en lugares donde no hay laboratorios, porque tienen una Sensibilidad muy alta (98%), sobre todo en parasitemias de más de 100 parásitos/! I <sup>13,37,38</sup>.

Muchos países han realizado evaluaciones de técnicas moleculares, microscópicas e Inmunocromatográficas y han visto que la alta Sensibilidad del PCR (100%) en parasitemias de mas de 5 parásitos/ !I, la hace una herramienta muy útil para la detección de casos asintomáticos y de bajas parasitemias <sup>38</sup>.

En Nicaragua no se han realizado estudios de tipo Molecular para el diagnóstico de la Malaria. Actualmente hay una creciente necesidad por parte de las autoridades de Salud en realizar este tipo de estudios, debido a que las técnicas moleculares son más Sensibles y no tienen reacciones cruzadas como ocurren en algunos caso con las Pruebas Rápidas o Pruebas Inmunocromatográficas y poder evaluar con mayor certeza los programas de intervención y control de la Malaria <sup>35, 36,38</sup>.

### III. JUSTIFICACIÓN

Chinandega fue un departamento donde la Malaria presentó grandes registros en años anteriores, su clima, topografía y precipitación por año propiciaban en gran parte esta situación, en la actualidad se ha observado una reducción de los casos en este SILAIS.

Las autoridades en salud han llegado a la conclusión que esta reducción ha sido un importante logro en el control de la enfermedad, pero también han llegado a la conclusión de no podrán eliminarla completamente y una de la causas es el comportamiento de esta enfermedad y la carencia de técnicas más sensibles y específicas que nos ayuden a realizar otra evaluación de la situación de la malaria en este departamento.

Saber si la reducción en el número de casos es porque las intervenciones del MINSA están causando un efecto positivo y no porque tengamos la presencia de casos asintomáticos o personas con bajas parasitemias, que no estaríamos detectándola con los métodos tradicionales, es uno de los nuevos retos del sistema de vigilancia en las zonas endémicas para el MINSA.

La Malaria asintomática afecta tanto al individuo portador de parásitos como a la comunidad en la que vive el individuo infectado. En individuos crónicamente infectados con *Plasmodium*, se puede observar esplenomegalia, anemia y síndrome nefrótico, en embarazadas, la Malaria asintomática puede causar anemia e infección de la placenta, lo cual puede conducir a parto prematuro y bajo peso al nacer<sup>18</sup>.

Para la comunidad, la consecuencia más evidente de la Malaria asintomática es que los individuos infectados no reciben tratamiento,

los parásitos (incluso, gametocitos) permanecen en la circulación periférica y, por ende, se convierten en un reservorio de la infección para los mosquitos<sup>18</sup>.

La falta de evidencia de personas con Malaria asintomática o casos con parasitemia baja no detectable por los métodos tradicionales, hace que la estandarización de esta técnica abra una puerta para el conocimiento de la mecánica de la Malaria en Nicaragua, ayudaría actualizar las estadísticas de esta enfermedad así como posibles estudios de evaluación de tratamientos.

La mayor ventaja de las técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa, es su capacidad para detectar infecciones hasta con 5 parásitos/! l de sangre, con una especificidad del 100%. Sumado a esto la simplicidad de la toma de muestra (papel filtro) y los procesos rápidos, de bajo costo y simples que los Kit de purificación que ofrecen para estos diagnóstico <sup>14, 22, 25, 26, 30, 33, 37</sup>.

Otra ventaja es que el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) cuenta con instalaciones equipadas para el Diagnóstico Molecular y con especialistas en esta área, una de las funciones que esta institución tiene es el mejoramiento de la calidad diagnóstica de las enfermedades de interés para la Salud Pública y esto logra llevando investigaciones con ONG quienes subvencionan muchos de los gastos de reactivos y equipos, llegando este diagnóstico a la población de forma gratuita.

Debido al costo del PCR estos pueden ser orientados para evaluar intervenciones, búsqueda activa de casos subclínicos o de baja parasitemia y tratamiento, como parte de las actividades de vigilancia que el programa realiza. Una vez estandarizados el PCR para el diagnóstico de Malaria formaran parte de las herramientas que brindan el Ministerio a los especialistas de Salud para la vigilancia epidemiológica de esta.

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Problema principal del estudio fue:

¿Es la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada una herramienta diagnóstica útil para detectar casos de Malaria Subclínica y/o baja parasitemia, capaz de apoyar el sistema de vigilancia de la Malaria en zonas de Chinandega que fueron endémicas?

Problemas específicos para el desarrollo del estudio fueron:

- ② ¿Son las características sociales, de salud y los niveles de conocimientos sobre Malaria de las personas estudiadas las que crean las condiciones para la existencia de casos sub-clínicos de malaria y/o baja parasitemia?
  
- ② ¿Es posible estandarizar la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada para el diagnóstico de Malaria en Nicaragua con panel de controles de referencia procedente del Centro de Referencia de Malaria de Tapachula, México?
  
- ② ¿Tiene la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada mejor calidad diagnóstica que la Gota Gruesa y la Prueba Rápida **SD BIOLINE Malaria Antigen P.f/Pan POCT®** para la detección de pacientes con Malaria asintomática y/o de baja parasitemia?

## V. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

### Objetivo general

Valorar la utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada NM-PCR, para detectar la infección por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en residentes de los Municipios de Chinandega, El Viejo, El Realejo y Chichigalpa, durante el periodo de Julio a Noviembre de 2008.

### Objetivos específicos

1. Identificar las características Sociales, de Salud y Nivel de Conocimiento sobre Malaria, como factores de riesgo en la existencia de casos de Malaria Subclínica y/o de baja parasitemia en las personas seleccionadas para el estudio.
2. Estandarizar la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada NM-PCR para la detección de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* en el diagnóstico de Malaria con panel de control de referencia procedente del Centro de Referencia de Malaria de Tapachula, México.
3. Valorar la calidad de la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada NM-PCR, para la detección de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* en comparación con el examen microscópico de Gota Gruesa y la Prueba Rápida inmuno-cromatográfica **SD BIOLINE Malaria Antigen P.f/Pan POCT®** .



## VI. MARCO TEORICO

La Malaria o el Paludismo es una infección causada por parásitos del género *Plasmodium*, que se trasmite de manera natural a través de la picadura del mosquito hembra del genero *Anopheles*.(Bruce-Chwatt, 1986).

El medio de transmisión de la Malaria en un 90% es a través de la picadura de un mosquito *Anopheles* hembra infestada, quien al ingerir sangre para la incubación de sus huevecillos, inocula a través de la saliva las formas esporozoíticas del *Plasmodium*, otras vías de transmisión son la congénita y la transfusional<sup>21</sup>.

El Hombre es el único reservorio importante de la malaria humana aunque los monos de especies superiores pueden albergar el *P. malaria*, especie que no existe en Nicaragua<sup>21</sup>.

### 6.1 Ciclo de la Malaria

El ciclo de la Maria esta dividido en dos fases, en el vector o Fase Sexual conocido como esporogonia y en el Humano la Fase Asexual que es conocido como esquizogonia<sup>11</sup>.

Fase sexual o esporogonia:

El ciclo vital del *Plasmodium* comienza con un cigoto (ooquinetos) en el estómago del *Anopheles* hembra, resultado de la fertilización o fase sexual. El cigoto atraviesa las paredes del estómago y forma un quiste llamado oocisto, este se divide en muchos núcleos y se transforma en células largas, separadas llamados esporozoitos.

En consecuencia el oocisto se agranda mucho y finalmente estalla, liberando la masa de esporozoitos, estos invaden el cuerpo del mosquito y

viajan a las glándulas salivales, listos para ser inyectados en la próxima ingesta de sangre, El desarrollo de los esporozoitos se conoce con el nombre de esporogonia. En esta etapa la sangre no es infecciosa durante las primeras etapas. Los esporozoitos marcan el final del ciclo sexual<sup>11</sup>.

#### Fase asexuada o esquizogonia

Cuando los esporozoitos entran al hombre en este tienen dos fases: la fase Exoeritrocítica y una Fase Eritrocítica<sup>11</sup>.

En la fase Exoeritrocítica los merozoitos rápidamente penetran en diversas células de los tejidos, tales como las del parénquima del hígado y los macrófagos fijos. Dentro de estas células, el parásito es al principio conocido con el nombre de criptozoito porque no se pueden detectar en los frotis de sangre y así estaba oculto a la vista.

Su cuerpo aumenta de tamaño y su núcleo se divide varias veces. La segmentación del núcleo es la base para el otro término, el esquizonte, que se refiere a la forma asexual con división múltiple del núcleo pero sin segmentación de la célula parásita,

La división de los núcleos del esquizonte es la esquizogonia. Finalmente, la célula parásita se divide en tantas unidades hasta que la célula huésped se rompe liberando los nuevos parásitos, llamados merozoitos, que penetran en otras células de los tejidos y repiten el ciclo equizogónico.

Los metacriptozoitos o merozoitos hepáticos llegan a la corriente sanguínea y penetran en los eritrocitos y comienza la fase eritrocítica del ciclo vital. En los hematíes o eritrocitos de la sangre es que el parásito de Plasmodium comienza a crecer, En este periodo el plasmodio puede ser activo

y se denomina un trofozoito. Estos parásitos intracelulares engloban porciones del citoplasma del huésped<sup>11</sup>.

Nuevamente tiene lugar la esquizogonia, el plasmodio se divide en merozoitos, que son comparables a los metacriptozoitos de la primera esquizogonia, los merozoitos salen de los hematíes y cada uno de ellos puede penetrar a otro eritrocito o incluso el parénquima del hígado y repetir el proceso de la esquizogonia.

Finalmente algunos de los merozoitos en los hematíes se transforman en formas sexuales que comienzan con cuerpos sólidos pequeños y se desarrollan hasta formar elementos masculinos microgametocitos o femeninos macrogametocito.

Cuando un mosquito pica al hombre e ingiere estas dos formas del parásito, el micro y el macro gametocito (masculino y femenino respectivamente), penetran en el estómago del insecto donde maduran y ocurre una transformación de los gametos<sup>11</sup>.

El microgameto se flagela y el microgameto se agranda. El micro-flagelo del micro-gametocito se desprende y se comportan como los espermatozoides en los animales superiores. Tiene lugar ahora la fertilización originando el cigoto, iniciando el ciclo vital nuevamente<sup>11</sup>.

El periodo de incubación es el tiempo que toma el parásito para adaptarse, dividirse y completar el ciclo biológico, esto puede variar de acuerdo a la especie, la carga parasitaria que es inoculada por el vector y la inmunología del huésped<sup>27</sup>.

El periodo de incubación mejor estudiado ha sido en las especies de *Plasmodium falciparum* y de *Plasmodium vivax*, esto por el grado de afectación que estos producen en el humano<sup>11</sup>:

*Plasmodium falciparum*:  
12 días (9 a 15 días).

*Plasmodium vivax*:  
14 días (10 a 20 días).  
8 a 13 meses (Recaída).

## 6.2 Aspectos clínicos de la malaria sintomática

La forma sintomática

. La enfermedad causada por este parásito se caracteriza comúnmente por paroxismos febriles intermitentes, anemia y crecimiento del bazo o esplenomegalia. Las especies causantes de la enfermedad son *Plasmodium malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum* y *P. vivax*; estas dos últimas especies son las de mayor distribución en el mundo (Bruce-Chwatt, 1986).

La presencia de síntomas típicos de Malaria, como fiebre, escalofríos, sudoración y otros (cefalea, náuseas y malestar general) normalmente depende de la presencia de formas asexuales de *Plasmodium* en la sangre de los individuos infectados<sup>21</sup>.

## 6.3 Malaria atípica

El curso atípico de la malaria se da en situaciones en las cuales la presencia de formas asexuales del parásito no se asocia con malaria clínica<sup>21</sup>.

Por ejemplo:

- ☞ Cuando el nivel de parasitemia está por debajo del umbral en el cual un individuo desarrolla síntomas (umbral pirogénico) .

- ✍ Cuando el sistema inmune mantiene los niveles de parasitemia bajos durante periodos largos y por ende al individuo libre de síntomas o Asintomático.
- ✍ Además, la Malaria asintomática se puede observar como resultado de la administración intermitente de niveles sub-terapéuticos de anti-maláricos.
- ✍ Cuando en el paciente únicamente se encuentren formas sexuadas del parásito, el que por sus características no produce las fiebres terciarias.

La Malaria asintomática es considerada común en zonas de alta transmisión en África y prácticamente ausente en zonas de baja transmisión en Latinoamérica. Sin embargo, algunos reportes sugieren que el hallazgo de casos asintomáticos en zonas de alta y moderada transmisión en Latinoamérica es relativamente frecuente<sup>12,19,21</sup>

### **6.3.1 Factores de riesgo de la malaria asintomática**

Los factores de riesgo van a estar en dependencia de la susceptibilidad de las personas y estos varían según el estado inmunológico, los factores genéticos, la edad, el abuso de ciertos medicamentos y de las características de endemecidad de las zonas y de la cercanía o el contacto con los parásitos causantes de la malaria<sup>17</sup>.

La Malaria asintomática tiene consecuencias graves no sólo para el individuo portador de parásitos, sino también para la comunidad donde vive. Los individuos crónicamente infectados se constituyen en un reservorio de la enfermedad que es difícil de identificar por medio de la vigilancia rutinaria de los programas de control<sup>17</sup>.

Varios experimentos han mostrado que los mosquitos vectores de malaria pueden adquirir parásitos de individuos infectados tanto sintomáticos como asintomáticos. Los individuos con gametocitos observables por microscopía son los más infecciosos, aunque aquéllos con gametocitos por debajo del nivel de detección por microscopía de luz, también producen infecciones en los mosquitos. Esta observación es importante, puesto que los individuos asintomáticos pueden tener parásitos en densidades muy bajas (detectables por PCR) durante varios meses<sup>23</sup>.

### 🕒 **Endemecidad:**

En 1957 McDonald caracterizó la endemecidad de la Malaria de acuerdo a su estabilidad y clasificó las áreas en estables y inestables pero lo más importante en el elemento de estabilización es el desarrollo de la inmunidad, este autor mostró que la intensidad, la regularidad que un área de transmisión de malaria tiene influencia con el grado de inmunidad adquirida en las áreas estables la población desarrollaba niveles altos de inmunidad y en las inestables la inmunidad era menos intensa y esto lo explicaba la exposición a piquetes del vector a que la persona se exponía en el año<sup>1,23</sup>.

### 🕒 **Inmunidad del huésped:**

La personas más susceptibles a la infección de Malaria son los niños, embarazadas y personas no inmune<sup>11,19</sup>.

Habitantes de zonas endémicas adquieren inmunidad cepa-específica y estadio-específica, que aumenta con la exposición a picaduras de mosquitos infectados y se pierde al irse de la zona endémica. Esta inmunidad adquirida no previene la enfermedad, pero si las complicaciones<sup>12,15,39</sup>.

La Inmunidad a la Malaria esta Determinada por:

- ✍ Edad
- ✍ Exposición a los agentes transmisores de la enfermedad
- ✍ Vivir en zonas endémicas
- ✍ Terapias (abusos, subterapias)
- ✍ Resistencia propia del *Plasmodium* a las drogas

Aunque los mecanismos que explican esta 'inmunidad clínica' no están totalmente esclarecidos, en recién nacidos, la ausencia de síntomas en presencia de infección malárica se ha asociado con la transferencia de anticuerpos maternos, baja ingestión de ácido p-aminobenzoico (PABA) durante la lactancia y presencia de hemoglobina fetal (Hb F) (4)<sup>15, 23</sup>.

En adolescentes y adultos, la ausencia de síntomas se ha asociado con respuesta de anticuerpos contra moléculas expresadas en la superficie y fuera de ella de los estadios asexuales del parásito<sup>15,23</sup>.

En África es común observar recién nacidos y adultos que no desarrollan síntomas en el curso de una infección malárica. De hecho, a pesar de que la mayoría de la población sea portadora del parásito, las manifestaciones clínicas de la enfermedad y sus complicaciones se presentan principalmente en los niños<sup>23,32</sup>.

La Prevalencia de Malaria asintomática, así como la edad a la cual se desarrolla algún grado de protección contra los síntomas de la enfermedad, varía con la intensidad de la transmisión de Malaria. En áreas donde la transmisión es alta (la población está expuesta a varias infecciones por año), los síntomas y las complicaciones de la infección malárica son más frecuentes en niños menores de 5 años que en adolescentes y adultos<sup>15, 23,33</sup>.

Con la disminución del nivel de transmisión, la edad a la cual se adquiere protección contra la infección malárica se va retardando hasta que, en zonas de muy baja intensidad, prácticamente todos (niños y adultos) tienen un riesgo similar de enfermarse<sup>15, 23</sup>.

Los factores mencionados anteriormente confieren cierto grado de protección a los recién nacidos, la relación entre edad, morbilidad e intensidad de la transmisión, es el resultado de la inmunidad adquirida a través de la exposición a un número acumulado de infecciones en el tiempo<sup>23, 29, 36</sup>.

Esta “Inmunidad clínica” se ha observado que es específica de especie, estadio del parásito y cepa, lo cual sugiere, en vista de la alta diversidad antigénica de los *Plasmodium*, que para adquirir cierto grado de protección contra las manifestaciones clínicas de la malaria se requeriría experimentar infecciones con una amplia gama de *Plasmodium*.<sup>12,23</sup>

En zonas de baja transmisión, donde un individuo presenta 1 o menos episodios de malaria por año, la Malaria asintomática parece ser poco común. Sin embargo, Gupta et al 1999, usando modelos matemáticos, sugieren que la protección contra las formas graves no cerebrales de la enfermedad se alcanza después de pocas infecciones<sup>12,23</sup>.

A pesar de esto, el grado de exposición a Malaria que se requiere para ganar cierto grado de inmunidad contra la forma no complicada de la infección es aún controvertido<sup>23</sup>.



## 6.4 Diagnóstico de la Malaria

### 🕒 Examen Clínico

La Malaria presenta un cuadro febril agudo no-específico que no puede ser distinguido en forma confiable mediante la clínica de muchas otras causas de fiebre<sup>26</sup>.

Los médicos pueden identificar la Malaria por los síntomas típicos que incluyen:

- |                   |               |
|-------------------|---------------|
| ✍ Fiebre          | ✍ Escalofríos |
| ✍ Dolor de cabeza | ✍ Rigores     |
| ✍ Mialgias        | ✍ Sudoración  |

### 🕒 Examen de Laboratorio

✍ Microscópicos o directos (Gota Gruesa, Extendido de sangre periférica).

A pesar que la gota gruesa y el extendido, son estándar de oro para el diagnóstico de la malaria, nuevas pruebas de diagnóstico rápido pueden ser útiles como complemento al esfuerzo del diagnóstico microscópico. En situaciones donde se retarde el estudio por un microscopista o sea difícil tomar decisiones médicas, el manejo de casos de malaria puede beneficiarse grandemente con el uso de estas técnicas. (Pérez, Bracho & De la Rosa, 2007)<sup>6</sup>.

## Criterios para la toma de muestra para el Diagnóstico de Malaria

### Gota Gruesa:

La toma de muestra de la Gota Gruesa se guía por las normas establecida por OPS y avaladas por el MINSA, esta se puede tomar del costado del dedo índice, limpiando con una mota de algodón empapada con alcohol 70% el sitio para la punción y luego se seca con otra mota de algodón seca. Se sujeta el dedo con la mano del tomador de muestra y se realiza un

pinchazo firme y seguro, con una lanceta estéril en el área del dedo, la primera gota de sangre será descartada y con la segunda se realiza la Gota Gruesa.

Esta también puede ser tomada a partir de sangre venosa la que tiene que ser colectada por un especialista, la que es obtenida a través de la punción venosa en la parte media o unión del brazo y ante brazo, donde se colecta de 1 a 3ml de sangre venosa del paciente en tubos vacutainer con anticoagulante, se limpia el sitio de la venopunción con alcohol 70% y con cada paciente se usa una aguja estéril y un tubo nuevo al vacío con anticoagulante, finalizada la toma de muestra se supervisa que esta no emane más sangre después de finalizada la toma de muestra y después se coloca una curita en el sitio de la punción para evitar hemorragias o infecciones.

La Gota Gruesa debe presentar los elementos de sangre distribuidos de manera uniforme, permitiendo no sólo calcular el número de parásitos, sino también hacer un diagnóstico rápido y eficaz de la especie de parásito por el personal del laboratorio.

A través de la Gota Gruesa se pueden visualizar los parásitos de manera que es posible caracterizar (identificar especie), contar, evaluar los estadios y su formas sexuadas. Si no se puede hallar parásitos de Malaria en 100 campos microscópicos, ello no significa necesariamente que no estén presentes en la circulación en el momento que se tomó la muestra.

### **Diagnóstico Microscópico de la gota gruesa:**

El procedimiento de toma de gota gruesa incluye una serie de pasos: tales como el Registro de datos del paciente, la limpieza de porta-objetos, la limpieza aséptica del dedo índice de la mano izquierda del paciente, punción con lanceta estéril, recolección de una gota de sangre sobre el portaobjetos (gota gruesa), secado, registro seriado sobre el frotis y envoltura.

Las gotas gruesas, teñidas con Giemsa fueron examinadas en una magnificación de 1000x para identificar las especies de parásito y determinar el nivel de parasitemia. La densidad parasitaria fue calculada contando el número de parásitos asexuados (usando un contador manual) contra 500 leucocitos en la gota gruesa, basándose en una media de 6000 glóbulos blancos por  $\mu\text{l}$  de sangre en la población de estudio. La densidad parasitaria por micro litro se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad parasitaria } /\mu\text{l} = \frac{\text{Número de parásitos contados} \times 6000}{\text{Número de leucocitos contados}}$$

Si se han contado >500 parásitos sin haber llegado a los 500 leucocitos, el conteo se detendrá después de terminar la lectura del último campo y se calculó la parasitemia según la fórmula anterior.

Si el conteo de parásitos es menor a 10 parásitos por 500 leucocitos se continuó el conteo hasta llegar a los 600 leucocitos. Se examinaron al menos 300 campos más, antes de considerar que una gota gruesa es negativa.

#### **Toma de muestra seriada o por ciclo:**

La finalidad de coleccionar muestras seriada o en ciclo de siete días del mismo paciente, es que dar seguimiento al patrón del ciclo biológico del parásito (estadios de incubación de la enfermedad), la Malaria tiene fases dentro del ciclo en el humano donde entra a células como las del hígado (Hepatocitos) y no pueden ser detectadas por la Gota Gruesa, además los esquizontes y principalmente los gametocitos tienen una fase casi asintomática.

En algunos casos de baja parasitemia estas formas del Plasmodium no pueden ser detectados por microscopia, además si no hay suficiente memoria inmunológica del paciente las pruebas inmuno-cromatográficas no las pueden detectar.

#### Técnicas Inmunocromatográficas (Pruebas de Diagnóstico Rápido).

Existen muchos tipos de pruebas rápidas para el diagnóstico rápido de la Malaria, diseñadas para emplearse en el campo y para detectar la Proteína Rica en Histidina II (HRP-II) que es específica del *Plasmodium vivax* y la Lactato Deshidrogenasa (LDH) que es una enzima metabólica de los parásitos de Plasmodium <sup>2,12,13</sup>.

El principio de esta técnica es que la sangre entra en contacto con los anticuerpos mono o poli-clonales fijados a una membrana donde son capturados, de estar la sangre contaminada con Plasmodium, por el conjugado estas enzimas metabólicas como una reacción indirecta de la presencia de los parásitos de Plasmodium, generando una reacción visual con la revelación de una banda de color<sup>2</sup>.

La calidad de las pruebas rápidas de diagnóstico para Malaria, y en general para cualquier prueba rápida que detecta antígenos, está en tener:

- ② Anticuerpos de captura de alta afinidad, especificidad, avidéz y pureza.
- ② Membrana de nitrocelulosa de alta calidad y pureza.
- ② Estabilidad de los conjugados marcados con oro coloidal.

Con una sensibilidad del 100% y una especificidad que va desde el 98 al 96% dependiendo de la enzima a capturar<sup>2</sup>.

Es útil en comunidades rurales donde no se cuenta de microscopio óptico. Puede ser usado como prueba confirmatoria de la Gota Gruesa en caso de duda por falta de entrenamiento del microscopista. Puede detectar

la infección, aún cuando los parásitos se encuentren secuestrados en los vasos como en el caso de los *Plasmodium falciparum* porque busca las enzimas metabólicas de estos parásitos<sup>2, 12,13</sup>.

Presenta algunas limitaciones que son muy comunes en la mayoría de las pruebas de diagnóstico rápido para Malaria "OptiMal" (PDRM), es que no permite cuantificar los parásitos, detecta solo parasitemias por encima de 100 parásitos/ $\mu$ l de sangre, puede causar reacción cruzada con Leishmania en el caso del LDH, su costa esta entre 1.5 y 3.0 y en algunos casos no detecta infecciones mixtas<sup>2, 12,13</sup>.

### **Prueba de Diagnóstico Rápido SD BIOLINE Malaria Antigen *P.f* /Pan POCT®**

Esta prueba emplea un tiempo promedio de 20 a 30 minutos (sólo para reacción) adicionados a los de la toma de la muestra y procedimientos de registros, su sensibilidad es del 97% en parasitemias mayores a 100 parásitos/ $\mu$ l de sangre.

Un resultado es válido cuando la banda control está claramente visible en la ventana en la línea marcada como "C" y el campo de reacción está limpio de sangre, la banda del procedimiento control siempre estará presente para validar un resultado, en la caso de la ausencia de la banda control, se repitió el test.

Los resultados son positivos cuando además de aparecer en la ventana la banda de control limpia aparezca también la banda que detecta el *Pf.* en la línea rotulada como "1" o el que detecta las otras especies de Plasmodium línea marcada como "2".

Un resultado de infección mixta se reflejará en la visualización de tres líneas bien marcadas y limpias en la ventana del Kit de prueba rápida

No son válidos los resultados cuando:

- ✍ La banda no fue suficientemente limpiada (campo de reacción hay remanentes rojos).
- ✍ Cuando la banda de control no está presente o no es visible aun cuando una o dos bandas de diagnóstico están presentes.
- ✍ Cuando no aparece ninguna banda en la ventana del Kit.
- ✍ Cuando solo aparece una de las bandas en cualquiera de las líneas pero la línea del control no aparece.

### **La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR):**

La Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR por su siglas en Ingles, es una poderosa técnica Molecular para la amplificación exponencial del ADN de un organismo en millones de copias “in Vitro”, de manera que puedan hacerlo “visible” en una banda especifica para ese organismo<sup>2</sup>.

La región blanco o Target del PCR es diseñada previamente de acuerdo al genotipo del organismo de interés, por lo cual sólo es capaz de reconocer la secuencia que transcribe una región especifica, en este caso del *Plasmodium* a partir del Ácido Desoxirribonucleico Ribosómico<sup>2,30,31</sup>

Es posible diseñar una secuencia específica para cada especie del *Plasmodium* en el caso que se haga necesario la caracterización de las especies, este proceso es realizado en tres fases.

Desnaturalización: Ocurre en temperaturas entre 94-96 °C, el ADN por la temperatura rompe los puentes que unen las bases nitrogenadas y las dos hebras del ADN se abren.

Hibridación o annealing: Una vez abierta la cadena de ADN los “Primers” o cebadores (secuencia Especifica) se alinean o pegan a su secuencia complementaria que es la de interés clínico o de investigación.

Extensión: Una vez alineados los primers comienza la transcripción del ADN blanco o target que es la secuencia del organismo que estamos investigando, ayudado por la Polimerasa y los deoxinucleotidos Trifosfatos.

### **Sensibilidad y Especificidad de la técnica:**

La Reacción en Cadena de la Polimerasa trabaja con un área específica y conservada de un organismo tiene una Sensibilidad y una Especificidad que va desde el 96% al 99.9% y por esta selección del área conservada, la Reacción en Cadena de la Polimerasa sólo amplificará los organismos que poseen esta región que se ha diseñado para que se replique y por esta razón es altamente específica<sup>2</sup>.

### **Tipos de PCR**

Hay diverso tipo de PCR estos va a depender de quien partimos como precursor de la reacción ARN o ADN (nuclear, ribosomal, genómico) denominados por la actividad como:

#### **☞ Reversa Transcriptasa-PCR:**

Hace que el ARN, que es el precursor de la reacción, por la acción reversa de la enzima reversa Transcriptasa se convierta en ADN y luego pueda ser amplificado como un PCR de ADN normal<sup>2</sup>

#### **☞ Reacción en Cadena de la Polimerasa Anidada (Nested PCR):**

Este mejora la especificidad y la eficiencia de la reacción o el segmento genómico, usa dos amplificaciones, la primera selecciona una secuencia de toda la hebra de ADN y la copia, la segunda amplificación, utiliza ahora este primer producto como real secuencia blanco y sobre esta trabaja otro o el mismo juego de primers, generando millones de copias solo del producto que se selecciono de la primera amplificación<sup>2</sup>.

Estas amplificaciones pueden estar juntas en una misma reacción y en un mismo tubo o realizar PCR separados lo que caracteriza al Semi Nested PCR

✍ Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple (Multiplex PCR)

Este amplifica más de un segmento genómico en una misma reacción, dentro de un mismo tubo, es decir que cada primer específico a usar esta dentro de esta reacción<sup>2</sup>.

✍ Nested Múltiple PCR, basado en la amplificación de la 18 Sub unidad pequeña ribosomal del RNA<sup>30,31</sup>.

La ventaja de su uso es que se pueden simplificar algunos experimentos como la investigación de paternidad donde varios marcadores genómicos deben ser analizados<sup>2</sup>.

La Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada del ADN (Nested Multiplex PCR). Es un método es muy sensible que amplifica con primers o cebadores específicos orientados para el gen de la sub-unidad ribosomal 18S (18ssrRNA) de *Plasmodium Ssp*, detectando las cuatro especies a la vez o las especies que el investigador determine, de gran utilidad para el diagnóstico de Malaria, detección de parasitemias mixtas, casos sub-clínicos o de baja parasitemia y puede detectar hasta 5 parásito/! l de sangre (Rougemont et al. 2004, Snounou et al. 1993, Rubio *et al.* 1999 y Rubio *et al.* 2000)

Como control, se determina la calidad del DNA mediante el análisis del DNA humano (Rubio *et al.* 1999,). Usa varios juegos de primer para la localización del blanco a amplificar y trabaja con ADN genómico. La extracción del DNA genómico se puede obtener por varios métodos bioquímicos de purificación, pero el más utilizado son las columnas



de purificación de ADN del Kit que distribuye la Quiagen Qiagen Quiamp blood Minikit, el que puede aislar el ADN genómico a partir de 200 ! l de sangre total o 50 ! l de sangre preservada en el círculo de papel filtro.

### **Limitantes de la técnica.**

Como es una técnica altamente sensible y específica, la contaminación con amplicones (pequeños trozos de productos de ADN) pueden contaminar y dar como resultado falsos positivos, por eso la recomendación es trabajarla en ambientes separados<sup>2</sup>.

### **Toma de muestra:**

La necesidad de evaluar dos tipos de muestra para ser procesada por PCR es que muchos estudios demuestran que la frecuencia de resultados positivos por PCR entre individuos asintomáticos tiene un rango del 20.4 al 49.5% en sangre directa y en papel filtro va del 4.2 al 38.5% y de encontrar esta condición en los pacientes es posible que el papel filtro resulte negativo en un caso con baja parasitemia.

El blanco de trabajo o muestra del PCR es cosmopolita, es decir puede usar sangre total, suero plasma y dependiendo de lo que se está buscando puede usar tejidos, órganos, cabello u otro material donde pueda colectarse y aislarse el ADN.

### **Papel Filtro:**

Consiste en poner de una a dos gotas (50! l) de sangre Venosa o Capilar en papel filtro después de la toma de la Gota Gruesa, de la siguiente forma Una gota de sangre consistente será dejada caer en cada círculo de la lamina de papel filtro "Watman # 2" y serán codificados inmediatamente con los siguientes datos: código del paciente, fecha de la toma de muestra, código del día de toma de muestra (D0, D7, D14).

### **Sangre venosa:**

Consiste en la toma de 1 a tres ml de Sangre venosa en un tubo con anticoagulante, el que será invertido suavemente para su homogenización, y no debe por ningún motivo destapado para evitar la contaminación de la muestra y serán codificados inmediatamente de igual forma que las muestras anteriores.

### **6.5 Tratamiento de la Malaria**

- ② Existe un tratamiento común a todas especies de *Plasmodium*<sup>27,44</sup>.

Cloroquina:

↪Día 1	600 mg (10 mg/Kg)
↪Día 2	600 mg (10 mg/Kg)
↪Día 3	300 mg (5 mg/Kg)

- ② Tratamiento adicional por especies.

*Plasmodium falciparum:*

Primaquina: (Gametocida)  
45 mg (0,75 mg/Kg)/día.

*Plasmodium vivax:*

Primaquina:(hipnozoítos y gametocitos)  
15 mg (0,25 mg/Kg)/día x 14 días.

- ② Tratamiento adicional de *Plasmodium falciparum*

Artesunato: (4 mg/kg)  
250 mg /d x 3 días.

Mefloquina: (12,5 mg/Kg)  
750 mg/d los 2 últimos días

### **6.6 Medidas de control**

El MINSA garantiza a través del programa de control de la malaria acciones de intervención para disminuir la incidencia de esta enfermedad apoyándose con fondos financieros de ONG como el fondo Mundial para llevar a cabo medidas de control vectorial (Químico y Biológico) y del reservorio a través de las fumigaciones peri e intradomiciliar (Insecticida residual en

paredes) distribución de mosquiteros impregnados con insecticida distribuidos gratuitamente a los pobladores de zonas endémicas de Malaria<sup>18</sup>.

Otro aspecto abordado es la Educación Sanitaria a la población para eliminación de focos o criaderos del vector y para el reconocimiento de los síntomas de la malaria y como proceder<sup>18</sup>.

El fortalecimiento de la Red de Malaria para el diagnóstico y la prevención son los aspectos en los que en los últimos cinco años se está trabajando con resultados alentadores porque en muchas zonas endémicas la Malaria ha reducido el número de casos<sup>18</sup>.

Los métodos de diagnósticos inmuno-cromatográfico (ParaShight F®, ICT Malaria Pf® y Test OptiMal®) y microscópico son más utilizados en el campo, En casos cuando los parásitos se presentan en una baja densidad, resulta más difícil detectarlos por microscopía o pruebas rápidas, es necesario el uso de pruebas moleculares que por su alto grado de sensibilidad y especificada han demostrado ser muy útiles en la detección de casos con baja parasitemia o en la identificación de casos asintomático<sup>7,10</sup>.

## **VII. DISEÑO METODOLÓGICO:**

### **a) Tipo de estudio**

Es un estudio Analítico experimental, (ensayo de campo).

### **b) Área de estudio**

El estudio se realizó en tres Municipios de Chinandega; El viejo, El realejo y Chichigalpa. Cuatro localidades de El Viejo, Ocho localidades de El Realejo y tres localidades de Chichigalpa, para un total de 15 localidades.

Estas localidades fueron seleccionadas bajo los criterios de haber reflejado alta endemicidad por cinco años y que en la actualidad tienen una marcada reducción en los casos.

### **c) Universo**

El universo considerado para este estudio fue 153, 479 que es el total de habitantes de las tres comunidades (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) de Chinandega reportados por el SILAIS.

### **d) Muestra**

Consistió en 127 personas, calculándose con el sistema StatCalc de EpiInfo 3.3.2 versión 2005 y con una sobre estimación ajustada por pérdidas y por tiempo según versión Whitehead 1996, que resultaron de una selección aleatoria simple por conglomerados, partiendo de un caso índice, (persona que hubiera tenido episodios repetidos de malaria durante el año o antes). Se seleccionó esta persona y con su consentimiento o el de los familiares se le entrevistó, también los familiares o habitantes de la casa de habitación de este caso índice y luego se entrevistaron las casas vecinas más cercanas según coordenadas, además se tomaron en consideración los siguientes criterios de inclusión:

**e) Criterios de inclusión:**

- ✍ Personas que estén de acuerdo que ellos o sus hijos participen voluntariamente en el estudio y que hayan firmado la hoja de consentimiento.
- ✍ Personas que residen en la zona de estudio de manera permanente por al menos tres años.
- ✍ Todos los seleccionados aleatoriamente con fiebre o sin fiebre.
- ✍ Para las personas sin fiebre que no hayan presentado este síntoma por al menos dos meses y que al momento del estudio no estén febriles.
- ✍ Para las personas con fiebre que al momento del estudio tenga fiebre de 38 a mas confirmada contra termómetro

**f) Criterios de exclusión:**

- ✍ Personas que residan en la zona pero que por las características de su trabajo estén en constante movimiento en otras áreas o fuera del país (Honduras y Costa Rica).
- ✍ Que no quiera ser parte del estudio.

**g) Enlistamiento de Variables:**

**Variables del Objetivo específico # 1**

- ✍ Edad
- ✍ Sexo
- ✍ Tiempo de vivir en el lugar
- ✍ Geo referenciación ubicación de la vivienda

**Nivel de Conocimiento**

- ✍ Conocimiento de la enfermedad
- ✍ Conocimiento sobre la transmisión de la enfermedad
- ✍ Conocimiento sobre la prevención de la enfermedad.

**Acciones de prevención ejecutada**

- ✍ Tiempo de fumigación

- ✍ Criaderos del mosquito
- ✍ Barreras de protección personal o familiar

#### Factores de Riesgos inmunológicos adquiridos

- ✍ Haber tenido malaria
- ✍ Periodo que la presentó
- ✍ Veces que la presentó
- ✍ Malaria en la familia
- ✍ Haber tomado tratamiento preventivo para la Malaria
- ✍ Haber tomado tratamiento curativo para la Malaria
- ✍ Veces que tomó tratamiento curativo
- ✍ Última vez con fiebre
- ✍ Temperatura al momento del estudio
- ✍ Padecimientos previos

#### **Variables del Objetivo Específico #2**

##### Resultados de NMPCR

- ✍ Amplificación de productos para la captación de *P. vivax* y *P. falciparum*.
- ✍ Limite de detección (parásitos / ! l de Sangre)
- ✍ Eficacia papel filtro Vs sangre total

#### **Variables del Objetivo Específico # 3**

##### Valorar resultados de laboratorio

- ✍ Resultado Gota Gruesa
- ✍ Resultado PCR (filtro y sangre)
- ✍ Resultado Prueba Rápida SD BIOLINE Malaria Antigen *P.f*/Pan POCT
- ✍ Sensibilidad
- ✍ Especificidad
- ✍ Valor Predictivo Positivo
- ✍ Valor Predictivo Negativo.

#### **h) Unidad de Análisis**

- ✍ Las personas que resultaron de la selección aleatoria simple y familias donde hay casos confirmados durante el estudio.
- ✍ Las personas que viven en domicilios vecinos a los casos índices.

#### **i) Estrategia muestral**

Las viviendas de las personas denominadas como caso índice y las viviendas cercanas a la del caso índice, ubicadas dentro de las 15 localidades endémicas de los tres municipios (El Realejo El viejo y Chichigalpa).

#### **j) Fases del estudio:**

Este estudio se realizó en tres fases:

##### **Fase I (Fase exploratoria):**

Se realizó búsqueda de información por Internet en las hojas estadísticas del MINSA y la pagina de ENDESA; además se concertó una cita con el responsable de Epidemiología del SILAIS Chinandega, la Dirección de Epidemiología Aplicada del Nivel Central para obtener información sobre la situación epidemiológica de la Malaria en la región del estudio.

Se realizó una coordinación pre-muestreo para ubicar la zona de la comunidad endémica a trabajar y número de habitantes, reconocimiento del área geográfica, actualización del número de viviendas y ubicación de estas.

Además en esta fase se diseñaron los instrumentos, para encuestar a los pobladores de los tres Municipios endémicos, para ello se elaboró una guía para entrevistar, la que fue validada por expertos del Ministerio de Salud con experiencia en encuestas y Malaria. Luego de las sugerencias aportadas por los expertos se procedió a retomarlas para mejorar el instrumento.

Luego se probó el instrumento con personas del cuerpo de vigilancia, conserjería y recepción del CNDR-MINSA con estudios primarios y técnicos, las dudas y sugerencia hechas por este grupo también fueron retomadas para componer el instrumento a usar en la entrevista con los pobladores de Chinandega.

## **Fase II (Fase de Estandarización de técnica molecular Nested Múltiplex PCR para vigilancia)**

Se estandarizó un protocolo de Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiplex Anidado (Nested Multiplex PCR) que amplifica los genes de la 18 pequeña sub unidad ribosomal del RNA (18 Small sub unit ribosomal RNA (Ssr RNA) gene), con “primers” o cebadores específicos para dos especies de *Plasmodium* (*P.vivax* y *P. falciparum*). Para esto se contó con un Panel de Controles Hemáticas Positivos (*P.vivax* y *P. falciparum*) y Negativos de Malaria (muestras hemáticas fijadas en papel filtro y sangre total purificada) procedentes del Centro Regional de Investigaciones de Salud Pública (INSP) Tapachula, Chiapas, México.

Además se recibió apoyo técnico en la selección de las secuencias primers de la Unidad de Investigación en Medicina Tropical y Salud Internacional, Laboratorio de Referencia de Paludismo, Servicio de Parasitología del Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III Majada honda-Pozuelo Madrid, España.

## **Fase III (Fase de ejecución)**

### **Coordinaciones y Capacitación**

Se realizó una coordinación previa para organizar los equipo de trabajo que fue conformado, por dos Especialistas del área de Parasitología, uno de Bacteriología, el Responsable de Epidemiología del SILAIS Chinandega, equipos de ETV y los microscopistas de el SILAIS Chinandega y El Viejo.



En esta reunión se acordaron la metodología a emplear en el muestreo a pacientes, número de pacientes a coleccionar, días para el muestreo, localidades de interés, entendimiento de la hoja de consentimiento informado el que tenía que ser firmado por pacientes, entendimiento sobre el llenado del cuestionario.

### **Trabajo de campo**

#### **Visitas para el muestreo**

Se realizaron tres visitas con un intervalo de 7 días entre cada visita, las que fueron denominadas D0 la primera toma de muestra (primera visita), D7 segunda muestra tomada después de los siete días de la primera toma (segunda Visita) y finalmente D14, tercera muestra tomada a los catorce días después de la primera toma (Las D significan Día y el número la serie).

#### **Primera visita se denominó Día “D0” o el día primero del Tamizaje.**

En la primera visita se realizó una valuación de los pacientes para seleccionar únicamente aquellos pacientes que cumplieran los requisitos de inclusión y conseguir la firma del consentimiento informado, dejando claro que ellos estaban en la libertad de abandonar el estudio cuando ellos lo quisieran, así como aclarar los objetivos del estudio y además se tomaron las muestras concerniente a este día.

#### **Día Siete y Catorce del Tamizaje “D7” y “D14”**

Las visitas del día Siete o “D7” y día Catorce “D14” se recogieron las muestras de los pacientes que querían continuar con el estudio y las muestras de algunos pacientes que querían ingresar al estudio.

#### **Encuesta y Muestreo:**

La evaluación total de los 127 pacientes se realizó en dos meses e involucró a las tres comunidades de estudio.

Se les explicó a los pacientes preseleccionados el objetivo del estudio con la finalidad de conseguir carta de consentimiento firmado por ellos para realizarles la toma de muestra, dejando claro que se trata de un estudio completamente voluntario y sin remuneración.

Se les llenó un cuestionario para obtener datos clínicos y epidemiológicos, dentro de los procedimientos para llenado de datos clínicos se registró la temperatura axilar del entrevistado, utilizando un termómetro calibrado y se anotó la temperatura obtenida después de este procedimiento.

Luego se procedió a tomar la muestra de sangre venosa o capilar según fuera la elección de la persona, siguiendo los procedimientos de toma de muestra (ver en toma de muestra venos o capilar en Anexos) a los pacientes seleccionados y con estos se realizó una prueba rápida SD BIOLINE Malaria Antigen *P.f* /Pan POCT, para el diagnóstico de la Malaria, proceso que el entrevistado observó en el momento de la realización, visualizando el resultado, para procesar esta prueba se utilizaron 5  $\mu$ l de sangre y se procesó paso a paso según la guía o prospecto que está inserto en el Kit.

Se tomó una lámina de papel filtro y se esperó hasta que se secase totalmente, una vez tomada la muestra se rotuló debidamente y luego fue colocada en una bolsita Ziploc pequeña con un desecante (Sílica Gel) dentro para que la mantenga lo más seca posible durante el tiempo que sea transportada hasta el proceso de purificación de la misma.

Se tomó una lámina para Gota Gruesa la que fue observadas como un primer diagnóstico por los expertos en microscopía del SILAIS de Chinandega y en el C/S de El Viejo (2 analistas), como primer diagnóstico y luego fueron enviadas al laboratorio de Malaria del CNDR-MINSA para ser analizada como Control de Calidad.

El papel filtro y la sangre total con anticoagulante fueron rotulados debidamente y puestos en gradillas con refrigerantes para su transporte, al Laboratorio Biología Molecular del CNDR-MINSA donde se procedió a la purificación del ADN para ser procesadas luego por el NM PCR.

Se registraron con un GPS por los trabajadores de ETV y el Epidemiólogo del SILAIS los puntos de referencia para establecer una Georeferenciación del estudio

#### **Diagnósticos de laboratorio:**

Se realizaron tres tipos de análisis en el laboratorio, el Diagnóstico Microscópico o Gota Gruesa (primer diagnóstico en SILAIS y control de calidad en CNDR), el Diagnóstico inmunocromatográfico y Diagnóstico Molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (MN-PCR) para papel filtro y sangre total

#### **Diagnóstico Molecular “Reacción en Cadena de la Polimerasa” (PCR):**

El análisis molecular se realizó en el área molecular de la Dirección de Parasitología Médica del CNDR MINSA.

Dos gotas de sangre fueron recogidas en un papel filtro Whatman # 2 (González-Cerón *et al.*, 2005): del encuestado, las que fueron depositadas cada una en un círculo dibujado en el rectángulo de papel, de forma que esta gota de sangre cubra completamente el círculo en el papel filtro, se rotuló con el código previamente establecido anteponiendo siempre el día del tamizaje de la siguiente forma: el día del Tamizaje (D0), los días 7 y 14 (D7 y D14 respectivamente).

Las muestras se procesaron por el método de Nested Multiplex PCR una Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada del ADN. Este método es muy sensible y puede detectar hasta 5 parásito/ ! l de sangre (Rougemont et al. 2004). La extracción del DNA genómico se hizo a partir de 200 ! l de sangre total o 50 ! l de sangre preservada en el círculo de papel filtro y utilizando un kit comercial Qiagen Quiamp blood Minikit (Qiagen) y siguiendo las instrucciones del fabricante (ver purificación de ADN en Sangre total en anexo).

El mismo procedimiento fue realizado con las muestras de sangre (3ml) y purificado bajo el mismo Kit comercial QIAamp blood Minikit (Quiagen)

Para determinar la existencia de parasitemia, las muestras de los días D0, D7 y D14 de cada paciente, se analizaron por la amplificación por PCR con primers específicos del gen de la sub-unidad ribosomal 18S (18ssrRNA) de *P. vivax* (Snounou et al. 1993) (Rubio *et al.* 1999) (Rubio *et al.* 2000)

Como control, se determinó la calidad del DNA mediante el análisis del DNA humano (Rubio *et al.* 1999,). Los productos o amplicones fueron migrados al mismo tiempo con un patrón (marcador) que consiste en una escalera de 100 pb en cámaras electroforéticas con una solución tamponada a 70V por una hora.

Los resultados de los PCRs fueron analizados en Geles de 1.6% de Agarosa teñidos con Bromuro de Etidio y se tomaron fotos de estos resultado para incorporarlos a los resultados del estudio.

### **Entrega de resultados a los pacientes:**

Los resultados de los pacientes les fueron entregados a partir de la segunda visita, en formatos oficiales de Resultados Emitido por el CNDR-MINSA.

Se les realizó de cortesía análisis de Toxoplasmosis y Chagas a todos los pacientes sin exclusión y los mismos resultados fueron entregados al SILAIS, Los pacientes que obtuvieron resultados positivos se les remitió al Centro de Salud para que reciban el tratamiento e ingresen al programa y una vez finalizado el tratamiento se les hizo un control con las dos técnicas antes expuestas para garantizar la eficacia del tratamiento.

### **Análisis Estadístico.**

Los datos de los pacientes o fichas epidemiológicas fueron almacenadas en una base de datos Epi info 3.3.2 versión 2005. Además, se empleo el programa Excel para el almacenamiento y análisis de datos.

Los datos fueron analizados usando encuestas validadas para la obtención de datos epidemiológicos del paciente, en la que fueron incluidos todos los pacientes enrolados en el estudio, así como tablas comparativas de resultados de PCR y el del Gold Standard “Gota Gruesa” Control de Calidad CNDR-MINSA.

Se evaluaron los posibles factores de riesgo (edad, sexo, tiempo de vida en el lugar endémico, uso de anti-maláricos), se realizó un mapa con los puntos de Geo-referenciación de las casa donde el estudio se efecto y se puntuaron las casas donde se encontraron los positivos.

Se midió la validez y la Seguridad de las pruebas Diagnósticas, a través de la Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN), el que fue calculado utilizando las siguientes fórmulas

$$S = \frac{\text{Positivos verdaderos}}{\text{Pos verdaderos} + \text{Neg Falsos}} \quad E = \frac{\text{Negativos verdaderos}}{\text{Neg. Verdaderos} + \text{Pos Falsos}}$$

$$VPP = \frac{\text{Positivos verdaderos}}{\text{Post. verdaderos} + \text{Post. Falsos}} \quad VPN = \frac{\text{Negativos verdaderos}}{\text{Neg. Verdaderos} + \text{Neg. Falsos}}$$

**k) Aspectos Bioéticos del Estudio.**

El estudio se normó por los preceptos éticos contenidos en la declaración de Helsinki, para las investigaciones biomédicas en sujetos humanos y fue presentado para su valoración y aprobación ante el Comité Institucional del CIES (Ver hoja de consentimiento en anexos).

**l) Consentimiento informado**

Se explicó con claridad y detalle a cada persona seleccionada para el estudio, los objetivos y procedimientos del estudio, así como su derecho voluntario para participar en el mismo. (Ver anexo hoja de Consentimiento informado)

Se les pidió a los voluntarios que firmaran la hoja de consentimiento si estaban de acuerdo en formar parte de este grupo de estudio voluntariamente.

En el caso de los niños o menores de edad, se les explicó el propósito y el procedimiento del estudio a los padres/tutores y se les pidió el permiso para incluir a su hijo en el estudio. Si estaban de acuerdo, se les pidió que firmaran el Formato de Consentimiento.

Se explicó los detalles del estudio, los beneficios y los posibles riesgos, toda la información del sujeto es confidencial, en la medida de lo legalmente posible. Sólo los identificadores numéricos de cada persona fue usado en el análisis de los datos.

En el caso de las personas analfabetas, el personal del estudio les leyó de forma clara y pausada la hoja de consentimiento y si aceptaba participar se les pidió imprimir su huella digital en el formato.

## VIII. RESULTADOS

Para evaluar la utilidad del NM-PCR en la detección de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax*, fueron entrevistadas 127 personas procedentes de tres municipios endémicos del SILAIS Chinandega distribuidos de la siguiente forma: el 46.5% (59) de los entrevistados pertenecían a El Viejo, el 43.3% (55) a El Realejo y el 10.2 % (13) a Chichigalpa (Ver en anexo Tabla 1, Grafico No 1).

Un total de 15 localidades fueron involucradas en este estudio; Entimo Andino, Julia de Pomares, Miguel Jarquín y Río Chiquito del Viejo. Alemania Federal, Realejo Norte, Reparto Carolina, Terencio Murguía, Ramón López, La Báscula Santa Clara del Este y Oeste del Realejo y Nuevo Amanecer, Virgen de Candelaria y la Cuitanca Norte de Chichigalpa.

### Caracterización de la población de estudio

La distribución total por sexo de la población estudiada fue el 62.2% (79) del sexo femenino y 37.8% (48) del sexo masculino (Ver en anexos, Tabla 1 y grafico No 2), por Municipio esta distribución fue: El Viejo 72%(43) al femenino, 27% (16) al masculino; El Realejo 60% (33) al femenino, 40% (22) al masculino y Chichigalpa 23% (3) al femenino, 76.9%(10) al masculino (Ver en anexos, Tabla 1).

La distribución total por edad fue del 35.4% (45) a menores de 15 años, 59.1% (75) de 15 a 59 años y 5.5% (7) a mayores de 60 años(Ver en anexos, grafico No 3). Por municipio fue: El Viejo, el 33.8% (20) menores de 15 años, 59.3% (35) de 15 a 59 años y 6.7% (4) mayores de 60 años; El Realejo, el 30.9% (17) menores de 15 años, 63.6% (35) de 15 a 59 años y 5.5% (3) mayores de 60 años; Chichigalpa el 61.5% (8) menores de 15 años, 38.5% (5) de 15 a 59 años y no hubo ninguna persona en el rango de mayores de 60 años, el 26.8%(34) menos de 5 años de vivir en lugar de residencia y el 73.2%(93) más de seis años de vivir en el lugar (Ver en anexos, Tabla 1 y gráfico 4).



Dentro de las ocupaciones más encontradas, El 37% (47) de la población entrevistada eran estudiantes activos, 27.5%.(35) eran Amas de casas, 19.7%(25) tenían ocupaciones diversas, 7.8% (10) eran desempleados y 7.5%(10) eran niños sin edad de estudiar, (Ver en anexo, Tabla 1 y gráfico 5).

Caracterización de la Población (nivel de conocimiento sobre Malaria):

El 90.5%(101) Sí habían oído hablar de la Malaria, 12.2% (14) No habían oído hablar de la Malaria y 8.6%(11) eran menores que no contestaron; el 41.7% (53) Sí conocen los síntomas de la Malaria, 37.8% (48) Conocen Poco de los síntomas, 11.8% (15) No Conocen los síntomas; el 1.6% (2) Sí Conocen como se transmite la Malaria, el 67.7% (86) Conoce poco como se trasmite y 22.0% (28) No Conoce como se transmite, El 63.0%(80) Conoce y Usa los mosquiteros como barrera de protección para evitar que le piquen los mosquitos,16.5%(21) Conoce y Usa los Espirales, 7.8%(10) Conoce y Usa los abanicos, 3.9%(5) Conoce y usa Repelentes y otros actividades como barrera de protección y 11.0%(14) no Conoce ni usa nada (Ver en anexos Tabla 2.0 y gráfico 6).

El 29.9% (38) Sí conoce el mosquito que transmite la Malaria, 61.4%(78) no lo conoce, El 47.2% (60) Saben que los Charcos y Manglares son los criaderos del Mosquito transmisor de la Malaria, el 23.6% (30) Saben que el agua mal almacenada y las llantas sirven de criadero y 17.3% (22) No Saben que puede servir de criadero, el 69.3% (80) reconocen que Eliminar Charcos y la Limpieza General son actividades para proteger a la comunidad de la Malaria, el 13.4% (17) reconoce que Abatizar, Fumigar y dar Charlas sobre Salud son actividades que pueden proteger a la comunidad de la Malaria y 17.3% (22) No Sabe que actividades pueden proteger a la comunidad, el 13.4% (17) recuerdan haber fumigado su casa en memos de un mes, 61.4% (78) en más de un mes y 11.0%(14) dice nunca haber fumigado y 7.1% (9) no recuerda cuando la fumigaron (Ver en anexos Tabla 2.1 y gráfico 7).

Características de salud de la población entrevistada (antecedentes de Malaria en la población)

El 64.6% (82) dijo No haber tenido Malaria alguna vez en la vida y 35.4%(45) Si habían tenido, el periodo de tiempo que predominó en haber tenido Malaria fue de 1 a 5 años con el 13.4%(17), menos de un año con el 3.9%(9) y más de seis años con 3.9%(9), el 62.2% (79) respondió no haber padecido Malaria ninguna vez, 33.1% (42) respondió haberla tenido de 1 a 2 veces, 1.6%(2) respondió de 2 a 4 veces y 3.1% (4) no recordaba cuando fue la última vez, el 59.8% (76) dijo haber tenido un familiar con malaria y 40.2% (51) No ha tenido familiar con Malaria. (Ver en anexos Tabla 3 y gráfico 8).

Caracterización de Salud (tratamiento de la Malaria):

El 89% (113) dijo No haber tomado tratamiento preventivo para la Malaria, el 11%(14) Sí había tomado tratamiento preventivo, el 71.7%(91) Sí había tomado tratamiento curativo para la Malaria y el 28.3% (36) No había tomado, el 64.4%(82) dijo No haber tomado tratamiento curativo para la Malaria, 26%(33) dijo haber tomado Una vez el tratamiento curativo, 8.7% (11) dijo haberlo tomado varias veces. (Ver en anexos Tabla 3 y gráfico 9).

Caracterización de Salud (datos clínicos):

72.4% (92) refirió no haber tenido fiebres o calenturas en los últimos dos meses, el 27.5% (35) si había tenido, 58.3%(74) dijo haber tenido fiebres hace más de tres meses, 24.2%(31) No recuerda cuando fue la última vez, 10.2%(13) de uno a tres semanas y 7.1%(9) de uno a dos meses (Ver en anexos Tabla 4 y gráfico 10).

El 77.2% (98) de la población entrevistada no padecía de ningún tipo de enfermedad y el 22.8% (29) dijo Si padecer de alguna enfermedad (Ver en anexos Tabla 4 y gráfico 10).

Temperatura medida a los entrevistados.

Primer día del muestreo "D0" se les tomo la temperatura al 92.9% (118) de las personas entrevistadas, al 7.1% no se les pudo tomar la temperatura por termómetro quebrado, 81.9%(104) tenían un rango de temperatura de (36 a 37.9)°C, 11%(14) tenían un rango de temperatura de (34-35.9)°C, 7.1%(9) No se tomaron la temperatura (Ver en anexos Tabla 4 y gráfico 10).

Segundo día del Muestreo "D7" se les tomó la temperatura al 72.4%(92) de las personas entrevistadas, al 27.5%(35) no se les tomo la temperatura por abandono u otras causas, el 59.8%(76) estaban en el rango de (36-37.9) °C, 11.0%(14) estaban en el rango (34-35.9) °C y 1.6%(2) estaban en el rango de 38 °C a más (Ver en anexos Tabla 4 y gráfico 10).

Tercer día de muestreo "D14" Sí se les tomó la temperatura al 51.2%(65) y 48.8%(62), No se les tomó la temperatura, porque abandonaron el estudio o quebraron termómetro, el 47.2%(60) estaban en el rango de temperatura de (36-37.9)°C, 3.2%(4) estaban en los rangos de (34-35.9)°C y sólo el 0.8%(1) estaba en el rango de más de 38°C (Ver en anexos Tabla 4 y gráfico 10).

### **Estandarización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR) para la amplificación de la 18 sub unidad pequeña ribosomal del RNA del Plasmodium.**

Se procesaron 36 muestras hemáticas procedentes del Centro Regional de Investigaciones de Salud Pública (INSP) Tapachula, Chiapas, México de las cuales, 80.6%(29) eran controles positivos que tenían parasitemias desde 24,000 hasta 160 Parásitos/μl de Sangre, el 19.4%(7) correspondió a controles Negativos o sueros con diagnóstico negativo para Malaria y otras enfermedades febriles con cuadro clínico compatible con Malaria, el 91.7%(33) de los Positivos pertenecían a *Plasmodium vivax* y 8.3% (3) pertenecían a *Plasmodium falciparum*, los controles positivos estaban dispuestos en dos bloques, donde el 52.8%(19) correspondió a Sangre Total Positiva Purificada y 27.7%(10) correspondió a Sangre Positiva Papel Filtro, los resultados del NM-PCR del CNDR-MINSA Nicaragua;

amplificación de productos de ADN de 398-400 pb para la captación de *P. vivax* y 480-500pb para la captación de *P. falciparum* coincidieron en un 100% con los resultados del NM-PCR enviados por el INSP de México (Ver en anexos Tablas 5.0; 5.1 y figura No 1)

Limite de detección del NM-PCR

Diluciones seriada del ADN matriz de muestras controles para obtener (5, 10 y 100) parásitos /! l de sangre (Ver en anexos Figura No 2)

Eficacia del papel filtro Vs sangre total

Amplificación de Gen Humano en papel filtro "D0" y "D7" (Ver en anexos Figura No 2).

"D0" Amplificación en papel filtro de producto para *P. vivax* de 398-400 pb, que tenia una parasitemia de 8 Parásitos /! l de Sangre, "D7" amplificación en papel filtro de producto para *P. vivax* de 398-400 pb con parasitemia de 240 Parásitos /! l de Sangre (Ver en anexos Figura No 3)

### **Resultados de Técnicas de laboratorio de los residentes de los tres Municipios de Chinandega**

Al 100%(127) de los pobladores de las zonas de estudio se les realizaron los exámenes de laboratorio Gotas Gruesas, Pruebas Rápidas **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®** y PCR en Papel Filtro, al 92.9%(118) pobladores se les realizó el examen de PCR en Sangre Total. Por visita esto se distribuyo de la siguiente forma para Gota Gruesa, Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®** y PCR en Papel Filtro, el 85.0%(108) fueron tomadas el "Do", 13.4%(17) en el día Siete o "D7" y 1.6%(2) en el día Catorce o "D14", en le caso de PCR Sangre Total, el 77.7%(99) del "DO", 13.4%(17) el "D7" y 1.6%(2) el "D14" (Ver en anexos Tabla 6).

Resultados de Laboratorio Primer día (D0):

Gota Gruesa, el 100% (127) de las Gotas gruesas leídas en el SILAIS Chinandega dieron negativas, Gota Gruesa en control de calidad efectuado en el

CNDR-MINSA se encontró 0.8%(1) positivo a *P.vivax* y 99.2%(126) fueron negativas; Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**®. Detectó 7.1% (9) positivos entre ellos 5.5% (7) fueron positivas a *P.falciparum* y 1.6% (2) asociado y 92.9 (118) fueron negativas; el PCR de Papel Filtro detectó 0.8%(1) positivo a *P.vivax*, 99.2% (126) fueron negativas; el PCR en Sangre Total detectó 0.8%(1) positivo a *P.vivax*, 91.3% (116) fueron negativas, 7.9%(10) no se les tomó muestra para esta prueba por ser menores de cinco años (Ver en Anexos Tabla 7).

Resultado de Laboratorio Día siete (D7):

Gota Gruesa, 72.4% (92) leídas en el SILAIS Chinandega fueron negativas, 08%(1) Positiva a *P.vivax* y 26.8%(34) no se les tomó la prueba por abandono de estudio u otra causa, Gota Gruesa en control de calidad CNDR-MINSA el 72.4% (92) fueron negativas, 08%(1) Positiva a *P.vivax* y 26.8%(34) no se les tomó la prueba por abandono de estudio u otra causa; la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**®. fue tamizado únicamente en positivos del DO y a 1 paciente con 38 de temperatura encontrado el D7: 7.9% (10) positivos, entre ellos 5.5% (7) fueron positivas a *P.falciparum*, 1.6% (2) Positivos asociados y 0.8%(1) a *P.vivax*; el PCR de Papel Filtro detectó 0.8%(1) positivo a *P.vivax*, 72.4%(92) negativos y 26.8%(34) no se tomó muestra; el PCR en Sangre Total detectó 0.8%(1) positivo a *P.vivax*, 61.4%(78) negativos y 37.8 % (48) no se tomaron la muestra (Ver en anexos Tabla 8).

Resultado de Laboratorio Día Catorce (D14):

Gota Gruesa analizadas en el SILAIS Chinandega, 59.8% (76) fueron negativas y 40.2%(51) no se les tomó la Muestra (por abandono de estudio u otra causa), Gota Gruesa en control de calidad CNDR-MINSA se encontró que el 59.8% (76) fueron negativas y 40.2%(51) no se les tomó la Muestra y no se encontró ningún positivo; Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**®. Sólo se tamizó a los positivos del DO y el paciente ingresado como positivo el D7, Detectó 7.1% (10) positivos entre ellos 5.5% (7) fueron positivas a *P.falciparum*, 1.6% (2) asociado y 0.8%(1) a *P.vivax*; PCR de Papel Filtro detectó 59.8%(76) Negativas y 40.2% (51) No se les tomó la Muestra y no se detectó ningún positivo;

PCR en Sangre Total detectó 59.8%(76) Negativos y 40.2%(51) no se les tomó la muestra y no se detectó ningún positivo (Ver en anexos Tabla 9).

#### Grupos Etéreos evaluados

35.4%(45) eran menores de 15 años, el 59.1%(75) estaban comprendidos en las edades entre 15 y 59 años y 5.5%(7) eran mayores de 60 años (Ver en anexos tabla 10).

#### Resultado por grupos etéreos Primer día (D0)

La Gota Gruesa del SILAIS resultó negativa en todas las edades, para la Gota Gruesa Control de calidad CNDR-MINSA, resultó 0.8%(1) positivo para *P.vivax*, 34.6%(44) Negativa en menores de 15 años, y salieron todas negativas en los grupos de 15 a 59 años y los mayores de 60 años, la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**®, el 31.5%(40) salieron negativos, 2.4%(3) salieron positivos para *P.falciparum*, 1.6%(2) resultaron asociados en los menores de 15 años, 55.9%(71) fueron Negativas y 3.1%(4) resultaron positivas para *P. falciparum* en los grupos de 15 a 59 años, en los mayores de 60 años todos salieron negativos, en el NM-PCR para papel filtro 0.8%(1) resultó positivo para *P.vivax* y 34.6%(44) fueron negativas en los menores de 15 años, en los grupos de 15 a 59 años y mayores de 60 todos resultaron negativos, en el NM-PCR para sangre total 0.8%(1) resultó positivo para *P.vivax*, 28.3%(36) resultaron negativos y 6.3%(8) no se les tomó la muestra en los menores de 15 años, en los grupos de 15 a 59 años y mayores de 60 todas resultaron negativas y sólo a 1 paciente no se le tomó la muestra en el grupo de 15 a 59 años (Ver en anexos Tabla 10).

#### Resultado por grupos etéreos día siete (D7)

En menores de 15 años todas las pruebas detectaron 0.8%(1) positivo por *P.vivax*, las Gotas Gruesas realizadas en el SILAIS y el CNDR 26.8%(36) resultaron negativas, con un 7.8%(10) de pruebas no tomadas por retiro del estudio u otra causa, en la prueba rápida el 31.5%(40) resultaron negativas, 3.4%(3) resultaron positiva para *P. falciparum* y .6%(2) resultaron asociadas, en el NM-PCR 26.8%(34) resultaron negativos y a 7.9%(10) no se les tomó la muestra,

en el NM-PCR para sangre total 16.5%(21) resultaron negativas y 18.1%(23) no se les tomó la muestra, en los grupos de 15 a 59 años en la Gota Gruesa del SILAIS y el CNDR 41.7%(53) resultaron negativos y 17.3 %(22) no se les tomó la muestra, en la prueba Rápida 55.9%(71) resultaron negativos y 3.1%(4) resultado positivo para *P. falciparum*, para el NM-PCR de papel filtro y sangre total el 41.7%(53) y 40.2%(51) resultaron negativas respectivamente y no se les tomo al 17.3%(22) y al 18.9%(24) respectivamente y en los mayores de 60 años el 3.9%(5) resultaron negativos para la Gota Gruesa del SILAIS y el CNDR, en la prueba rápida todas resultaron negativas y 3.9%(5) resultaron negativos en el NM-PCR de Papel Filtro y Sangre Total, el 1.6%(2) se retiro en todas las pruebas excepto en la Prueba rápida (Ver en anexos Tabla 11).

#### Resultado por grupos etáreos día catorce (D14)

En menores de 15 años el 24.4%(31) fueron negativos para la Gota Gruesa del SILAIS, la del CNDR y para el NM-PCR papel filtro, a el 11.0%(14) no se les tomó la muestra y no hubo positivos para ninguna prueba, el 7.9%(10) fue negativo para el NM-PCR sangre total, y 27.6%(35) no se les tomó la muestra, en los grupos de 15 a 59 años 34.6%(44) resultaron negativos, el 24.4%(31) no se tomaron la muestra para la Gota Gruesa (SILAIS y CNDR) y NM-PCR papel filtro, para el NM-PCR sangre total 20.5%(26) resultaron negativos y 38.6%(49) no se tomaron la muestra, para los mayores de 60 años el 2.4%(3) resultaron negativos, el 3.1%(4) no se tomaron la muestra para la Gota Gruesa (SILAIS y CNDR) y NM-PCR papel filtro, para el NM-PCR sangre total 1.6%(2) resultaron negativos y 3.9%(5) no se tomaron la muestra (Ver en anexos Tabla 12)

#### **En cuanto a la validez y seguridad del NM-PCR frente a la Gota Gruesa y la Prueba Rápida SD Bioline Antigen *P.f./Plan POCT*®.:**

Se consideró como “Gold Standard” a la Gota Gruesa realizada como Control de Calidad en el CNDR, para evaluar la Validez y la Seguridad de las pruebas (Gota Gruesa SILAIS, NM-PCR Papel Filtro y Sangre Total), la Gold Standard detectó en el D0 0.8% (1) verdadero positivo (*P.vivax*) con una parasitemia de 8 parásitos/! l y 99.2%(126) verdaderos negativos, en el D7 se

obtuvo el mismo positivo con una parasitemia de 2400 parásitos/! l, el D14 no se obtuvo ningún Positivo, en el "D0" la Sensibilidad de la Gota Gruesa del SILAIS y la Prueba Rápida fue de 0.0%, la Especificidad fue del 100% para la Gota gruesa del SILAIS y del 92.8% para la Prueba Rápida, para el NM-PCR papel filtro y Sangre total la Sensibilidad y la Especificidad fue del 100%, los VPP de la Gota Gruesa del SILAIS y la Prueba Rápida fueron del 0.0% y los VPN fue del 100% para la Gota Gruesa del SILAIS y del 92.8% para la Prueba Rápida, para el NM-PCR los VPP y VPN fueron del 100% (Ver en anexos Tabla 13 y Figura No 4).

En el "D7" todas las pruebas diagnosticas obtuvieron una Sensibilidad del 100% y una Especificidad del 100%, sólo la Prueba Rápida obtuvo una Especificidad del 92.8%, los VPP y VPN en todas las pruebas fue del 100% (Ver en anexos Tabla 14 y Figura No 4).



## IX. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Los desafíos del control de la malaria se incrementa en regiones con condiciones ambientales difíciles de modificar y de pobre cultura en salud, lo cual ha sido identificado como factores de riesgos en estudios ambientales y sociales de zonas endémicas de Malaria como los de Baragatti *et al* 2009 en Burkina Faso, África<sup>4</sup>.

En este estudio se examinaron 127 personas procedentes de localidades endémicas de tres municipio de Chinandega, presentando básicamente una población femenina, comportamiento que fue similar en los tres municipios de estudio, ello es explicado por el horario de toma de muestra, con un intervalo de edad que fue de 15-59 años, manteniéndose este intervalo de edad por municipio como el más entrevistado, la mayoría de los entrevistados tenían más de seis años de vivir en la zona de estudio y la ocupación que más se encontró fue la de estudiante seguida por las amas de casas.

Al medir el nivel de conocimiento que los entrevistados tenían sobre diversos tópicos de la Malaria, la gran mayoría de los entrevistados si habían oído hablar y conocían los síntomas de la Malaria, pero que este era sólo por las veces que ellos o un familiar habían tenido Malaria, esto fue identificable porque al medir el nivel de conocimiento sobre la transmisión de la malaria se observó que casi toda la población entrevistada conocía poco o nada sobre este tema y esto fue similar aun por Municipio, estudios realizados por Baragatti *et al* 2009 en Burkina Faso<sup>4</sup>, África, coinciden con el hallazgo de que las zonas endémicas tiene conocimiento de la Malaria por experiencia y no por educación volviéndolo esto uno de los factores de riesgo.

Al evaluar el uso de barreras de protección para evitar las picaduras de mosquitos, en las tres comunidades, los mosquiteros y el uso de espirales fue el más usado, los que casi siempre es usado de noche cuando van a dormir, estudios entomológicos recopilados en el libro de Francisco López “La Malaria y su sombra”<sup>11</sup> han planteado que la conducta alimentaria del vector esta en dos

periodos uno al atardecer aproximadamente de las 6:00 pm a las 12:00 pm y otro de las 9:00 pm a las 5:00 am, debido a esto y al horario que ellos usan el mosquitero y los espirales, es que puede dejar un lapso de horas en el que pueden ser blanco para los piquetes del mosquito, un número mucho menor usa repelentes y esto es debido al costo ya que estas comunidades son pobres este sistema de protección resulta muy difícil sostenerlo, hay un porcentaje (6.3%) a tener en consideración ya que ellos no usan nada como medida de protección siendo ellos los más vulnerables al ataque de mosquitos y con más probabilidades de padecer la enfermedad.

Los estudios orientados al aspecto ambiental y social en otros países han demostrado que una parte importante para el control de la Malaria es la educación en salud que las personas puedan tener de parte de las autoridades sanitarias, las orientaciones de la prevención comunitaria hace que las comunidades se involucren en la limpieza obteniendo mayores beneficios con estas actividades y a más bajo costo que los controles vectoriales<sup>2, 4, 7, 16, 21,27</sup>

En cuanto a los antecedentes de Malaria de los entrevistados

Más de la mitad de la población entrevistada dijo no haber tenido Malaria, pero un importante número (45) Sí la habían tenido, en un lapso de tiempo menor a seis años y con una frecuencia de dos veces al año, más de la mitad de la población entrevistada dijo haber tenido un familiar con Malaria, muy pocos han tomado tratamiento preventivo de la Malaria, pero si un importante número ha tomado tratamiento curativo de la Malaria y con una frecuencia de dos veces, todos estos factores son importantes medirlos porque estudios han demostrado que uno de los factores para el desarrollo de la inmunidad en habitantes de zonas endémicas es el abuso de las terapias o las sub-terapias.

Los estudios orientados al aspecto de la evaluación inmunológica (J. Rodríguez *et al* 2006<sup>15</sup>, J. Vinetz *et al* 2002<sup>16</sup> Margi *et al* 2009<sup>39</sup>) en países como Senegal, África, Brasil han podido demostrar que el desarrollo de esta inmunidad si bien no es permanente, es edad dependiente siendo los menores de 15 años

vulnerables a esta condición y algunos de los factores que acelera esta condición es la múltiple infección y las subterapias porque estas últimas no eliminan completamente el parásito de la circulación creando condiciones para que la persona desarrollen capacidad de control interno de los síntomas, aun que sin la eliminación del parásito.

En cuanto a las características de salud de los entrevistados

Básicamente la población que se estudio era una población sana sin otras afecciones, al momento de la entrevista, la gran mayoría no presentó fiebres en los últimos dos meses, pero si un considerable número había presentado fiebre tres meses antes del estudio, al constatar la temperatura el primer día de la entrevista o "D0" la gran mayoría estaba en los rangos de temperatura de 36-37.9 °C y ninguno presentó temperaturas en el rango de más de 38 °C, en los días "D7" y "D14" la gran mayoría presentó el mismo comportamiento sólo que en estos días si se detectaron tres casos con más de 38°C y solo uno de estos coincidió con un caso positivo de Malaria causada por *P.vivax*, los otros eran producto de otras infecciones, estudio reportado en Honduras(Aguilar C.J. *et al* 2002<sup>3</sup>) señala que la ausencia de temperaturas altas o fiebres es común en personas procedentes de zonas endémicas y este puede ser un parámetro para clasificar como asintomático a una persona con la demostración de parásitos en circulación.

En cuanto a la estandarización del NM-PCR.

El panel compuesto por 36 muestras hemáticas enviadas por el IPS de México fue con el que se decidió iniciar la estandarización y adaptación de protocolos para la amplificación de los protocolos desarrollados por Rubio J.M. *et al* 1999<sup>30,31</sup> Ruper C. *et al* 1996<sup>32</sup>, Russell E. *et al* 2002 y 2006<sup>34,35</sup> Rougemont *et al.* 2004<sup>29</sup>, Snounou G. *et al* 1993<sup>36</sup>, que amplifican la región del gen de la sub-unidad ribosomal 18 (18ssrRNA) de *Plasmodium Ssp*, detectando las dos especies (*Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*) que más circulan en Nicaragua, los que coincidieron en un 100% con el diagnóstico que remitieron los laboratorio del IPS de México.

Se evaluó el límite de detección que el NM-PCR desarrollado en los laboratorios de Nicaragua del CNDR y estos correspondieron con los publicados en estudios realizados por Snounou G. *et al* 1993, P. Boonma *et al* 2007<sup>25</sup> donde reportan el nivel de detección del NM-PCR de hasta en 5 parásitos/! l

Se evaluó, además la eficacia del papel filtro y la sangre venosa

La amplificación del gen Humano es un control de calidad de que el NM-PCR esta funcionando en buenas condiciones y la amplificación de los productos para la detección de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* aseveran que la muestra carezca de inhibiciones, así que la toma de papel filtro sangre total del panel control no tuvieron diferencia significativa en cuanto al rendimiento del ADN purificado resultando en la amplificación del gen humano y las especies de *Plasmodium Ssp*, estudios presentados por Rubio J.M. *et al* 1999<sup>30,31</sup> Ruper C. *et al* 1996<sup>32</sup>, Russell E. *et al* 2002 y 2006<sup>34,35</sup> Rougemont *et al.* 2004<sup>29</sup>, Snounou G. *et al* 1993<sup>36</sup> coinciden con los resultados obtenidos en este estudio.

Se realizó esta evaluación de ambas pruebas porque muchos estudios plantean que la Sensibilidad en papel filtro puede bajar hasta en un 40%, y que puede ser debido tanto a la cantidad de muestra recolectada en el papel como a las parasitemias por debajo de 5 parásitos/! l de sangre en este estudio ambas dieron resultados eficientes por que la parasitemia era de 8 parásitos/! l de sangre Benito J. *et al* 2002<sup>2</sup>, P. Boonma *et al* 2007<sup>25</sup>, Prensa Universidad de Oriente UDO, Venezuela 2004<sup>26</sup>, Mini Handbook QIAamp® DNA 2007<sup>29</sup>, Rubio J. M *et al* 1999<sup>30,31</sup>, E R McCabe. *et al* 1991<sup>8</sup>,

Evaluación de Técnicas de laboratorio de los residentes de los tres Municipios de Chinandega

Se evaluaron tres sistemas de diagnósticos para Malaria, Gota Gruesa analizada en el SILAIS y control de calidad realizado en el CNDR, la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®** que detecta las cuatro especies de *Plasmodium* pero sólo identifica separadamente al *P. falciparum* y una Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR) en Papel filtro y Sangre

total, la que fue diseñada para detectar sólo las especies que circulan en Nicaragua muchos estudios plantean siempre la necesidad de evaluar más de una técnica para buscar casos asintomáticos o de baja parasitemias Marangi M. *et al* 2009<sup>20</sup>, P. Boonma *et al* 2007<sup>25</sup>, Russell E. *et al* 2002 y 2006<sup>34,35</sup>, Tham J. M. *et al* 1999<sup>38</sup>.

En el día “D0” la Gota Gruesa del CNDR y el NM-PCR tanto de papel filtro como de sangre total coincidieron en la detección de un sólo caso de Malaria causado por *P.vivax*, y la cuantificación por Gota Gruesa del parásito fue de 8 parásito/! l de sangre, la prueba rápida detectó nueve falsos positivos porque ninguno pudo ser confirmado en control de calidad por Gota Gruesa que para este estudio se definió como la “Gold Standard”.

La detección de bajas parasitemias por el NM-PCR ha sido reportada por muchos estudios y su nivel de detección baja hasta 5 parásitos/! l de sangre, Snounou *et al* 1993<sup>36</sup>. En este estudio los resultados obtenidos en el Primer día “D0” por el NM-PCR fueron superiores a los resultados obtenidos por la Gota Gruesa realizada en el SILAIS y equivalentes a los resultados de la gota de gruesa realizada en control de calidad en el CNDR.

Estudios refieren que la desventaja de la Gota Gruesa es no poder captar casos de bajas parasitemias y/o presencia de formas asexuadas y por lo tanto perder casos positivos, sobre todo porque la persona no desarrolla síntomas clínicos típicos de esta patología o por el hecho de que en los niños con múltiples infecciones desarrollen una inmunidad que le permite no desarrollar los síntomas, pasando desapercibido, pero con el riesgo potencial de transmisión ya que el parásito esta presente en la persona J. Rodrigues Coura *et al* 2006<sup>15</sup>, J. M. Vinetz *et al* 2002<sup>16</sup>, Rubio J. M *et al* 1999<sup>30</sup>, Roper C *et al* 1996<sup>32</sup>, Vafa M. *et al* 2008<sup>39</sup>.

La Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**® en el “D0” detectó nueve positivos a los que la Gota Gruesa “Gold Standard” confirmó como Negativos, Estudios (Benito J. *et al* 2002<sup>2</sup>, González-Ceron L. *et al* 2005<sup>12</sup>, González M. 2004<sup>13</sup>, Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>) han demostrado la reacción cruzada que puede presentar las pruebas rápidas preparadas con anticuerpo monoclonal

para la detección de LDH que es una proteína de excreción del Plasmodium, con parásitos de Leishmania causante de Leishmania Visceral (LV) que también excretan esta proteína, la zona de estudio además esta tipificada por el MINSA como una zona endémica de Leishmaniasis Cutánea Atípica (LCA), Estudios de caracterización molecular realizados en esa zona demostraron que el parásito causante de la LCA es molecularmente idéntico al que causa la LV, Harris E. *et al* 1999<sup>14</sup>

En el “D7” la Gota Gruesa “Gold Standard” y el NM-PCR tanto de papel filtro como de sangre siguieron detectando sólo un Positivo causado por *P. vivax*, la Gota Gruesa cuantificó en esta toma de muestra una parasitemia de 2400 parásitos/! l de sangre en Gota Gruesa, esta vez la Gota Gruesa del SILAIS fue capaz de detectarlo y la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**® detectó este caso y además siempre marco positivo los nueve anteriores.

Al evaluar las técnicas microscópicas Gota Gruesa “Gold Standard” analizada en el laboratorio de referencia del CNDR, con la analizada en el SILAIS vemos una gran coincidencia con los estudios realizados en otros países y claramente muestra que la gran limitante es la baja parasitemia y la dificultad del personal de campo en captar estos casos A Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Russell E. *et al* 2002 y 2006<sup>34,35</sup>

La Prueba Rápida para la detección de Malaria **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**® pese a ver detectado dos caso de *Plasmodium vivax* como asociados, no fue capaz de detectar el caso verdadero de *Plasmodium vivax* por la baja parasitemia que el paciente tenía al momento de la toma de muestra (8 parásitos/! l), estudios de evaluación de la prueba rápida, han sugerido que su sensibilidad baja drásticamente cuando las parasitemias en las personas están por debajo de 100 parásitos/! l, sin embargo en el día D7 de toma de muestra se logro captar al verdadero Positivo, en este día la parasitemia del paciente subió a 2400 parásitos/! l, además ya estaban presente los síntomas en el paciente, Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, González-Ceron L. *et al* 2005<sup>12</sup>, González M. 2004<sup>13</sup>, Snounou *et al* 1993<sup>36</sup>.

Para comprobar si estos positivos *P. falciparum* detectados por la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**® no se debía a una reacción cruzada con parásitos de *Leishmania*, se decidió probar con dos técnicas que están estandarizadas en el CNDR para el diagnóstico de *Leishmania visceral* (LV); PCR y la IFI, resultando ambas negativas y no encontrándose parásitos en las muestras del “D7” de la Gota Gruesa “Gold Standard” analizada como control de calidad en el CNDR.

El plantear muestras seriadas por seguir el ciclo del parásito dentro del humano hizo posible obtener el positivo por las pruebas Inmunocromatográficas y la Gota Gruesa del SILAIS, confirmando la necesidad del uso de pruebas diagnósticas más sensible y que detecten en menor tiempo y/o bajas concentraciones de parásitos como lo plantean los estudios moleculares que muchos países han realizado Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Rubio J. M *et al* 1999<sup>30, 31</sup>, Ruper C. *et al* 1996<sup>32</sup>, Russell E. *et al* 2006<sup>35</sup>, Snounou *et al* 1993<sup>36</sup>.

En el “D14” la Gota Gruesa “Gold Standard” no detectó ningún caso positivo, el paciente que había sido detectado el D7 había tomado tratamiento completo para Malaria y había negativizado, el NM-PCR también dio negativo para este paciente y la Gota Gruesa del SILAIS también resultó negativa, sólo la Prueba Rápida reflejó los 10 positivos que había captado del “D0” y “D14”.

Un inconveniente que fue detectado en esta prueba coincide con el que muchos estudios han comprobado y es que no se negativiza cuando el paciente está curado en periodos de menos de 1 mes, porque aun detecta la LDH que está circulando en el cuerpo y aun no ha sido desechado por el organismo de la persona, Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>.

Una de las ventajas que han sido descritas por muchos investigadores en sus publicaciones es la capacidad del NM-PCR de negativizarse una vez que el parásito está muerto, porque amplifica una pequeña región la sub unidad ribosomal del RNA que sólo se replica si el parásito está vivo, a diferencia incluso

de la Gota Gruesa que puede detectar en algunos casos de alta parasitemias, parásitos deformados por la acción del tratamiento y tiene que cuantificar la cantidad de parásitos con periodos de control para declarar criterio de cura, en el NM-PCR una vez el parásito muerto el ARN es degradado y no puede ser amplificado Rubio J. M *et al* 1999<sup>30,31</sup>, Ruper C. *et al* 1996<sup>32</sup>, Russell E. *et al* 2006<sup>35</sup>, Snounou *et al* 1993<sup>36</sup>.

#### Resultado de laboratorio por grupo etáreo

En el "D0" la Gota Gruesa "Gold Standard" y el NM-PCR de Papel Filtro y Sangre Total obtuvieron un positivo en el grupo de etáreo Menores de 15 años y al verificar la edad del paciente este tenía 6 años y dos episodios de Malaria previo al estudio, al momento de la toma de muestra el no presentó temperaturas de más de 38, tampoco ningún síntoma de Malaria, muchos estudios han demostrado que la inmunidad se desarrolla por la múltiple infección, es edad dependiente, desarrollándose mejor esta inmunidad en los menores de 15 años, siendo la inmunidad una condición para la existencia de los casos asintomático o el desarrollo de infecciones con baja parasitemia González-Ceron L. *et al* 2005<sup>12</sup>, Rodrigues Coura *et al* 2006<sup>15</sup>, J. M. Vinetz *et al* 2002<sup>16</sup>, Mangoni E.D. *et al* 2003<sup>19</sup>, Marcio U. *et al* 2001<sup>21</sup>, Osorio L. *et al* 2004<sup>23</sup>, Rougemont M. *et al* 2004<sup>29</sup>,

La necesidad de adaptar los sistemas moleculares para la detección de infecciones por *Plasmodium* es apremiante muchos estudios comparativos han demostrado que la Validez y la Seguridad de la Gota Gruesa y otras pruebas como las Inmunocromatográficas, están limitadas por el número de test que un microscopista puede analizar, al entrenamiento, las bajas parasitemias y existencia de formas sexuadas del parásito que inhiben los síntomas de la persona haciéndolos difícil de detectarlos por clínica, todas estas situaciones pueden explicar la obtención de falsos negativos en resultados de Pruebas Rápidas y Gota Gruesa Alves FP *et al* 2002<sup>1</sup>, Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Russell E. *et al* 2004<sup>34</sup>, Snounou G. *et al* 1993<sup>36</sup>.

En este estudio se evaluó la Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valores Predictivos Positivos(VPP) y los Valores Predictivos Negativos(VPN), (Validez y



Seguridad) de la Gota Gruesa analizada en el SILAIS, el NM-PCR de Papel Filtro y Sangre Total, así como la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT** ®. Frente a la Gota Gruesa “Gold Standard” analizada en el CNDR.

Para el “D0” el NM-PCR tanto de Papel Filtro como de Sangre Total obtuvieron una Sensibilidad y Especificidad del 100% con unos VPP y VPN, del 100%, coincidiendo con los estudios donde han comparado varios métodos diagnósticos y han concluido en que el NM-PCR tiene una alta Validez y Seguridad diagnóstica Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, D. MacNamara *et al* 2007<sup>9</sup>, Fugikaha E. *et al* 2007<sup>10</sup>, Marangi M. *et al* 2009<sup>20</sup>, P. Boonma *et al* 2007<sup>25</sup>, Ruper C. *et al* 1996<sup>32</sup>, Russell E. *et al* 2006<sup>35</sup>, Snounou *et al* 1993<sup>36</sup>, Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>.

La Gota Gruesa del SILAIS obtuvo una mala Sensibilidad y una Especificidad de 100%, muchos estudios plantean que la baja Sensibilidad no la hace útil para sistemas de vigilancia casos asintomático o de baja parasitemias y dentro de las limitaciones propias del Microscopistas se une la calidad de los reactivos y equipos Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Russell E. *et al* 2002 y 2006<sup>34,35</sup>, presentó además un VPN del 92.8%, pero con un nulo VPP para la población de estudio.

La prueba rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT** ® en cuanto al diagnóstico de las muestras del estudio, presentó una pobre Sensibilidad y una Especificidad del 92.8%, aun que el número de falsos positivos no era considerablemente alto, si demostró lo que muchos estudios han planteado en cuanto a las Pruebas Rápidas desarrolladas para la captación de la LDH y su desventaja de presentar reacciones cruzadas con parásitos de Leishmania, volviéndola no útil en esta zona donde la LCA presenta altos registros González-Ceron L. *et al* 2005<sup>12</sup>, González M. 2004<sup>13</sup> Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>.

Para el “D7” es hasta este día que la Gota Gruesa obtuvo una Sensibilidad y Especificidad del 100% con unos VPP y VPN, del 100%, coincidiendo con los estudios donde demuestran que la Gota Gruesa en el campo esta directamente influenciada por los niveles de parasitemia y el grado de experticia del

microscopista Benito, J. *et al* 2002<sup>2</sup>, Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>, la Prueba Rápida **SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT**® presentó una alta Sensibilidad y una Especificidad del 92.8%, sin embargo su VPP fue muy bajo aun que su VPN fue del 100%, correspondiendo esto con lo que los investigadores han publicado en cuanto a su eficacia en parasitemias de más de 100 parásitos/! l y sus reacciones cruzadas, González-Ceron L. *et al* 2005<sup>12</sup>, González M. 2004<sup>13</sup> Tham J. *et al* 1999<sup>38</sup>.

## X. CONCLUSIONES

1. Las 127 Personas involucradas en el estudio de estas tres comunidades endémicas prestan las condiciones para la aparición de Malaria sub-clínica o de casos de baja parasitemia, porque más de la mitad de esta población estudiada era menor de 15 años, tenían más de seis años de vivir en la zona de estudio, un importante número de los entrevistados o sus familiares habían padecido de Malaria y habían tomado tratamiento curativo para esta más de una vez, en la mayoría de los entrevistados se encontró un bajo nivel de conocimiento sobre los aspectos de prevención, transmisión, eliminación de criaderos del Mosquito de la Malaria, así como el uso de barreras de protección personal, de la familia y de la comunidad, condiciones que pueden obstaculizar el control o la erradicación de la Malaria en estas comunidades de Chinandega.
2. Pudo ser estandarizada con éxito La Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidado o el Nested Múltiplex PCR (NM-PCR), descrito por Snounou *et al* 1993, Rubio *et al* 1993, 2004 y Sedigheh Z. *et al* 2002, que usan secuencias que amplifican la región conservada 18 SSr RNA de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, generando productos de 398-400 pb y 480-500pb, respectivamente, logrando reproducir los resultados del panel de control enviados por el Centro de Referencia de Malaria de México, obteniendo un límite de detección de 5 parásitos/  $\mu$ l de sangre, siendo de gran utilidad para la captación de casos de baja parasitemia, pudiendo usar como muestra la sangre en papel filtro por la facilidad de la toma y transporte de la muestra para su análisis molecular, ya que no tubo diferencias significativas con la obtenida en Sangre total durante la comparación.

3. La Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR) tiene mejor calidad diagnóstica que la Gota Gruesa analizada en el SILAIS Chinandega y la Prueba Rápida **SD Biotline Antigen P.f./Plan POCT**®. realizadas en el primer día o “D0”, ya que no se ve afectada por la subjetividad del observador como en la Gota Gruesa, ni por las reacciones cruzada o las bajas parasitemias como en el caso de la Prueba Rápida, la Sensibilidad, Especificidad, VPP y VPN obtenidos fueron más altos que los obtenidos por la Gota Gruesa y la Prueba Rápida, haciendo del NM-PCR una excelente herramienta para la vigilancia de la Malaria, captación de pacientes con Malaria subclínica o con baja parasitemias, pudiendo así actualizar los datos epidemiológicos de la Malaria en estos Municipios y poder tomar decisiones de intervención para ejercer un mayor control en la erradicación de la Malaria en el SILAIS Chinandega.

## **XI. RECOMENDACIONES**

### **Dirigidas a las autoridades del SILAIS Chinandega:**

1. La Gota Gruesa procesada en Chinandega no puede ser el único criterio diagnóstico empleado para la evaluación de intervenciones o la vigilancia activa de la Malaria, este debería de ser acompañado con una toma de muestra de Papel Filtro para ser evaluada por el NM-PCR, que es una eficaz herramienta para la vigilancia activa de la Malaria en la detección de casos asintomáticos, de baja parasitemia y como criterio de cura, además por la simplicidad de la toma de muestra y envío al CNDR, puede ser colectada por cualquier COLBOL que realice Gota Gruesa en esta región.
2. Promocionar más los aspectos de prevención y control personal, familiar y comunitario de la Malaria en coordinación con las autoridades del Ministerio de Educación de Chinandega, para por esta vía educar a la población en estos aspectos de la Malaria.
3. Evaluar otras pruebas de diagnóstico rápido para Malaria que no detecten el LDH para el diagnóstico de *Plasmodium falciparum* o evaluar pruebas rápidas para LV en conjunto a las de Malaria para descartar las reacciones cruzadas.
4. Efectuar estudios orientados a la vigilancia de las migraciones para controlar la Malaria importada, debido a la actividad económica de la zona la que no pudiera estar siendo bien evaluada.

### **Dirigidas al CNDR**

5. Evaluar el coste—efectividad del PCR cuantitativo en tiempo real para los estudios de vigilancia, búsqueda de casos asintomáticos y bajas parasitemias de Malaria.

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. Alves FP; Durlacher RR; Menezes MJ; Krieger H; da Silva LH; Camargo EP  
High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Jun; 66 (6):641-648. 2002.
2. A Benito, J. M. Rubio, A de Lucio “Estado actual del diagnóstico del paludismo: experiencia del laboratorio de referencia del centro nacional de microbiología Enfermedades Emergentes, España 2002.
3. Aguilar C.J., Bu Figueroa E., Alger J. “Malaria: Sub clinical infection among school Children in Palacios, Mosquito Coast”. Rev. Med. Honduras; 70:111-115. 2002
4. Baragatti M., Fournet F., Henry M-Claire., Assi S., Ouedraogo H., Rogier C., Salem G., “Social and environmental malaria risk factors in urban areas of Ouagadougou, Burkina Faso” Malaria Journal 2009
5. Belli, A., Rodríguez, B., Aviles, H., and Harris, E. “Simplified Polymerase Chain Reaction Detection of New World Leishmania in Clinical Specimens of Cutaneous Leishmaniasis”. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. pp: 102-109, 1998.
6. Boletín informativos Universidad de Santander España “Determinación de Hemo-parásitos por Gota Gruesa” 2007.
7. Cerutti C Jr., Boulos M., Coutinho AF., Hatab Mdo C., Falqueto A., Rezende HR., Duarte AM., Collins W., Malafronte RS. “Epidemiologic aspects of the malaria transmission cycle in an area for very low incidence in Brazil. Malaria Journal, Mar 19: 6:33, 2007

8. E R McCabe., "Utility of PCR for DNA analysis from dried blood spots on filter paper blotters" Methods Appl. Estados Unidos 1991.
9. D.T. MacNamara, L. J. Kasehagen, B.T. Grimberg, J. Cole-Tobian, W. E. Collins and P.A. Zimmerman. "Diagnosing infection levels of four human malaria parasite species by a polymerase chain reaction/ligase detection reaction fluorescent microsphere-based assay" Malaria Journals 2007
10. Fugikaha E., Fornazari PA., Penhalbel R de S., Lorenzetti A., Moroso RD., Amoras JT., Saraiva AS., Silva RU., Bonini-Domingos CR., Mattos LC., Rossit AR., Cavasini CE., Machado RL., "Molecular Screening of Plasmodium sp. Asymptomatic carriers among transfusion center from Brazilian Amazon region. Rev. Inst Med Trop Sao Paulo Jan-Feb: 49 (1) 1-4, 2007.
11. Francisco J López Antuñano et al "La Malaria y su Sombra" Rev. Fac. Med. UNAM Vol.44 No.3 Mayo-Junio, Colombia 2001
12. Gonzalez-Ceron L., Rodriguez M.H., Betanzos A.F., Abadia A. Efficacy of a rapid test to diagnose *Plasmodium vivax* in symptomatic patients of Chiapas, Mexico Salud Publica Mex. 2005.
13. Gonzalez M. A. "Utilidad de la prueba de diagnóstico rápido para la malaria "OptiMal" (PDRM) en 13 municipios de alta transmisión de *P. falciparum* ubicadas en 6 SILAIS. Informe Final NicaSalud Nicaragua 2004.
14. Harris, E. Kropp, G., Belli, A., Rodriguez, B. and Agabian, N. Single-step Múltiplex PCR assay for characterization of New World Leishmania complexes. J. Clin. Microbiol. 1998
15. J. Rodrigues Coura; M. Suárez-Mutis; S. Ladeia-Andrade A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic *Plasmodium* infection - a review Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.101 no.3 Rio de Janeiro May 2006

16. J. M. Vinetz and R. H. Gilman. "Asymptomatic plasmodium parasitemia and the ecology of Malaria Transmission" *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66(6), 2002,
17. Kirchgatter K., del Portillo H.A. Molecular analysis of *Plasmodium vivax* relapses using the MSP1 molecule as a genetic marker. *J. Infect. Dis.* 1998
18. Ministerio de Salud de Nicaragua Datos Epidemiológicos de la Malaria [www://minsa.gob.org.ni](http://www://minsa.gob.org.ni) 2008.
19. Mangoni E.D., Severini C., Menegon M., Romi R., Ruggiero G., Majori G. Case Report: an unusual late relapse of *Plasmodium vivax* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68: 159–160, 2003
20. Marangi M., Di Tullio R., F Mens P., Martinelli D., Fazio V., Angarano G., DFH Schallig H., Giangaspero A. and Scotto G. "Prevalence of Plasmodium spp. in malaria asymptomatic African migrants assessed by nucleic acid sequence based amplification". *Malaria Journal* 2009.
21. Marcio U., Estrada P., Genco Estrada V., "Las diez grandes enfermedades tropicales. Categorización y énfasis estratégico en su investigación" Universidad Médica de Granma. Cuba 2001.
22. OPS/OMS: Informe de la Situación de los Programas de Malaria en las Américas (basado en datos de 2001). /OPS/HCP/HCT/M/217/, Washington, D.C.2002.
23. Osorio L., Todd J., Bradley D., "Ausencia de malaria asintomática en escolares de Quibdó, Chocó, Colombia". *Revista Biomédica* Vol. 24 n 1 Bogota, Colombia Marzo 2004.



24. Pérez H.A. “El Paludismo por *Plasmodium vivax* y los desafíos del tratamiento adecuado y oportuno”. Boletín de Malariología y Salud Ambiental. Argentina 54:1-8 (2004).
25. P. Boonma, P. R. Christensen., R. Suwanarusk., R. N. Price., B. Russell and U. Lek-Uthai, “Comparison of three molecular methods for the detection and speciation of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*” Malaria Journal 2007
26. Prensa Universidad de Oriente UDO, Venezuela /Teresa Rodríguez de Tononi “La malaria se diagnóstica más fácil con métodos moleculares” (Infecciones asintomáticas y mixtas) 2004.
27. Pocaterra L., Noya O., “Epidemiología de la Malaria en Venezuela”, Boletín del Ministerio de Salud, Dirección general de Salud Ambiental, Venezuela 2007.
28. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook Second Edition November California, Estados Unidos 2007.
29. Rougemont M., Van Saanen M., Sahli R., Hinrikson H.P., Bille J., Jaton K. Detection of four *Plasmodium* species in blood from humans by 18S rRNA gene subunit-based and species-specific real-time PCR assays. J. Clin. Microbiol. 42: 5636-43, 2004.
30. Rubio J. M., Benito A., Berzosa P.J., Roche J., Puente S., Subirats M., Lopez-Velez R., Garcia L., Alvar J. Usefulness of Seminested Multiplex PCR in Surveillance of Imported Malaria in Spain. J. Clin. Microbiol. 37: 3260–3264, 2004.

31. Rubio J. M., Benito A., Roche J., Berzosa P. J., Garcia M. Mico L., M. , Edu M., AND Alvar J. "Semi-Nested, Multiplex Polymerase Chain Reaction for detection of human malaria parasites and evidence of plasmodium vivax infection in equatorial guinea" Am. J. Trop. Med. Hyg., 60(2), 1999,
32. Roper C., Elhassan IM., Hviid L., Giha H., Richardson W., Babiker H., Satti GM., Theander TG., Arnot DE., "Detection of very low level Plasmodium falciparum infections using the Nested Polymerase Chain Reaction and a reassessment of the epidemiology of unstable malaria in Sudan". Am. J. Trop. Med. Hyg. 54 :325-31 1996.
33. Ridberth Ramírez Verastegui "El comportamiento de la malaria en Perú" Revista Peruana de Parasitología 2004
34. Russell E. Coleman, Nongnuj M., Nattawan R., Chalermopol K., Scott R., Virat S., Krongthong T, and Sattabongkot J. "Comparison of field and expert laboratory microscopy for active surveillance for asymptomatic *plasmodium falciparum* and *plasmodium vivax* in western Thailand" Am. J. Trop. Med. Hyg., 67(2), pp. 141–144, 2002.
35. Russell E Coleman, Jetsumon S., Sommai P., Nongnuj M., Bousaraporn T., Ampornpan K., Nattawan R., Gabriela Z., Robert S. M., Jefferson A. V., Krongtong T. and Benjawan K. "Comparison of PCR and microscopy for the detection of asymptomatic malaria in a Plasmodium falciparum/vivax endemic area in Thailand" Malaria Journal 2006.
36. Snounou G., Viriyakosol S., Zhu X.P., Jarra W., Pinheiro L., do Rosario V.E., Thaithong S., Brown K.N. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. Mol. Biochem. Parasitol. 61:315-20. 1993

37. Sedigheh Z., Sohaila T. N., Ahmad Z. and Navid D. D. "Detection of malaria parasites by nested PCR in south-eastern, Iran: Evidence of highly mixed infections in Chahbahar District" *Malaria Journal* 2002.
38. Tham J. M., Lee S. H., Tan T. M. C., Ting R. C. Y., AND Kara U. A. K. "Detection and Species Determination of Malaria Parasites by PCR: Comparison with Microscopy and with ParaSight-F and ICT Malaria Pf Tests in a Clinical Environment" *Journal of Clinical Microbiology*, May 1999
39. Vafa M., Troye-Blomberg M., Anchang J., Garcia A., Migot-Nabias F., "Multiplicity of *Plasmodium falciparum* infection in asymptomatic children in Senegal: relation to transmission, age and erythrocyte variants" *Malaria Journal* 2008.
40. Villegas L., Sandoval M., Carvajal A., Hernández N., Orihuela R., Rivera M., Torres J., "Consenso Malaria para la sociedad Venezolana", Puerto Ordaz, Octubre 2006.
41. World Health Organization. New perspectives: Malaria diagnosis. Report of a joint WHO/USAD consultation, 25-27 October 1999. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2000
42. World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Malaria, Twentieth Report. WHO Technical Report Series No. 892. Geneva Switzerland: WHO. 2000
43. WHO, UNICEF. World Malaria Report: Roll Back Malaria, WHO/HTM/MAL/2005. [http://rbm.who.int/wmr2005/pdf/intro\\_section.pdf](http://rbm.who.int/wmr2005/pdf/intro_section.pdf). 2005.
44. World Health Organization (WHO) Guidelines for the treatment of malaria. WHO/HTM/MAL/2006.1108. Geneva, Switzerland WHO. 2006.

# ANEXOS

### a) OPERICIONALIZACION DE LAS VARIABLES

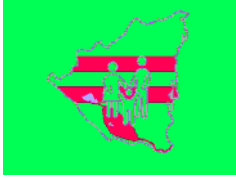
Variable	Definición de Variable	Indicadores	Escala	Unidad de Medida	Instrumento
Edad	Tiempo transcurrido desde el día de nacimiento hasta el momento de estudio	Edad en años	Menores de 15 años De 15 a 59 años De 60 años a más	Años	Entrevista
Sexo	Condición biológica que distingue al hombre de la mujer	Sexo	M F	-	Entrevista
Tiempo de vivir en la Residencia	Periodo de tiempo que la persona tiene de vivir en ese lugar.	Meses o años	Años de vivir en el lugar	Meses o Años	Entrevista
Geo-referenciación	Puntos geográficos para reconocer la ubicación de interés	-	Altitud Latitud Longitud	Metros	GPS
Nivel de conocimiento de la Malaria y sus síntomas	Cantidad de elementos que el entrevistado de para definir a la Malaria y sus síntomas	Fiebres o calenturas Dolor de cabeza Escalofríos Dolor en el cuerpo	Conoce Conoce Poco No conoce	4 aciertos 2 aciertos 1 acierto	Entrevista
Transmisión de la enfermedad	Cantidad de elementos que describan el proceso de transmisión de la Malaria al hombre	Picadura de zancudo, zancudo-persona enferma-persona sana, zancudo infectado	Conoce Conoce Poco No conoce	3 aciertos 2 aciertos 1 acierto	Entrevista
Uso de barreras de protección para evitar que le pique zancudos	Uso de medios físicos, químicos o biológicos para evitar que los zancudos le piquen	-	Usa, ¿Qué? No usa	-	Entrevista
Conocer el mosquito de la malaria	Descripción de las características del mosquito <i>Anopheles</i>	-	Si No	-	Entrevista
Criaderos del mosquito de la Malaria	Lugares naturales o artificiales que sirven para la reproducción del <i>Anopheles</i>	-	Libre	Charcos y Manglares Agua mal almacenada Llantas No Sabe	Entrevista
Actividades para proteger a la comunidad	Acciones tomadas por la comunidad en conjunto con las autoridades de salud de Chinandega	-	Libre	Eliminarcharcos Limpieza Abatizar Fumigar Charlas/salud No sabe	Entrevista

## b) OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

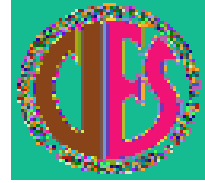
Variable	Definición de Variable	Indicador	Escala	Unidad de Medida	Instrumento
Tiempo de fumigación	Último periodo que las autoridades de salud o ellos fumigaron la casa de habitación del entrevistado	-	Menos de un mes Más de un mes No recuerda Nunca	-	Entrevista
Haber tenido Malaria	Presentar la enfermedad confirmada por el MINSA	-	Si No	-	Entrevista
Cuando padeció de Malaria	Ultima vez en que tuvo Malaria	-	Menos de un año De 1 a 5 años Mas de 6 años	-	Entrevista
Veces que padeció de Malaria	Repetición de la enfermedad confirmada por el MINSA	-	De 1 a 2 De 3 a 4 Ninguna No recuerda	-	Entrevista
Familiares con Malaria	Familiar que presentó la enfermedad confirmada por el MINSA	-	Si No	-	Entrevista
Haber tomado Tx preventivo	Haber tomado pastillas de Chloroquina dadas por el MINSA o compradas	-	Si No	-	Entrevista
Haber tomado Tx curativo	Haber tomado 10 o 14 pastillas administradas por el MINSA	-	Si No	-	Entrevista
Veces que tomó el Tx Curativo	Número de las veces que la persona tomo el tratamiento completo de la Malaria	-	Una vez Varias Ninguna No recuerda	Número de veces	Entrevista
Última vez que presento fiebre	Último periodo que presento temperaturas de más de 38 grados centígrados	-	1 día a tres semanas 1 a 2 meses Mas de Tres meses No recuerda	Número de veces	Entrevista
Temperatura	Estado de calor generada por el Cuerpo humano y que puede ser cuantificada.	Temperatura en Grados Centígrados	De 34-35.9 <sup>0</sup> C De 36-37.9 <sup>0</sup> C De 38- a más <sup>0</sup> C	Grados Centígrados	Termómetro
Padece de otras enfermedades	Otros patologías que el entrevistado padezca diferente de la Malaria	-	Si No	-	Entrevista

### c) OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Definición de Variable	Indicadores	Escala	Unidad de Medida	Instrumento
Ampliación de productos de NM-PCR en Malaria	Replicación del ADN de la región específica del Plasmodium	Pares de Base (pb)	Positivos <i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> Negativos	398-400 pb 480-500pb ningún producto	Amplificación del ADN Resultado de laboratorio
Limite de detección del NM-PCR	Menor densidad parasitaria que el NM-PCR es capaz de amplificar	Pares de Base (pb)	Positivos <i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> Negativos	5 parásitos / ! ! 398-400 pb 480-500pb ningún producto	Amplificación del ADN Resultado de laboratorio
Eficacia del Papel Filtro Vs Sangre total en el NM-PCR	Comparación de la capacidad de detectar parasitemias con panel de referencia	Pares de Base (pb)	Positivos <i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> Negativos	5 parásitos / ! ! 398-400 pb 480-500pb ningún producto	Amplificación del ADN Resultado de laboratorio
Gota Gruesa	Examen de laboratorio sangre (fijada y teñida), realizada en los entrevistados los días DO, D7 y D14	Presencia o no del Plasmodium	Positivo (Vivax o Falciparum) Negativo Asociado (Ambos Plasmodium)	Densidad parasitaria Parásitos/ul	Microscopia Resultado de laboratorio
PCR Papel Filtro	Examen de laboratorio de sangre de entrevistados impregnada en papel filtro (seca),	Pares de Base (pb)	Positivos <i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> Negativos	398-400 pb 480-500pb ningún producto	Amplificación del ADN Resultado de laboratorio
PCR Sangre total	Examen de laboratorio de Sangre total, realizada en los entrevistados	Pares de Base (pb)	Positivos <i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> Negativos	398-400 pb 480-500pb ningún producto	Amplificación del ADN Resultado de laboratorio
Sensibilidad	La Probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba de laboratorio un resultado Positivo	Verdaderos positivos	0.0-100	Porcentaje	Resultados del técnicas vs. Gold Standar
Especificidad	La Probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga en la prueba de laboratorio un resultado Negativo	Verdaderos Negativos	0.0-100	Porcentaje	Resultados del técnicas vs. Gold Standar
Valor Predictivo Positivo	Probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en la prueba de laboratorio	Verdaderos Positivos  Falsos Positivos	0.0-100	Porcentaje	Resultados del técnicas vs. Gold Standar
Valor Predictivo Negativo	Probabilidad de que un sujeto con un resultado Negativo en la prueba de laboratorio este realmente sano	Verdaderos Negativos  Falsos Negativos	0.0-100	Porcentaje	Resultados del técnicas vs. Gold Standar



MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
CIES-UNAN



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO  
Utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de de  
infección con *Plasmodium*, en residentes de tres municipios de Chinandega con  
localidades endémicas, durante el período de Agosto a Diciembre de 2008**

El Ministerio de Salud en conjunto con el Centro de Investigaciones y Estudios de la Salud de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (CIES-UNAN) están realizando en Tres Municipios de Chinandega un estudio para la estandarización de una técnica con el objetivo de monitorear la Malaria que en zonas como en Chinandega han bajado su incidencia.

Nosotros estamos invitándole a usted a participar en este estudio. La decisión de participar es completamente suya. Si usted no quiere participar, puede negarse, sin que esto en ningún momento afecte su atención cuando presente alguna fiebre u otro síntoma en el Centro de Salud que lo atiende.

Si usted esta de acuerdo en participar recolectaremos información sobre datos generales que necesitamos de usted, lo que usted sabe, piensa sobre la malaria y sus formas de transmisión.

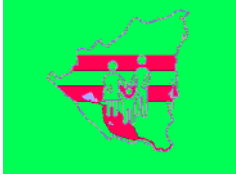
Su participación en este estudio no requiere la toma de más muestras que las que rutinariamente se toma en el centro de salud ante la sospecha de casos de malaria. Sin embargo estaremos realizando este procedimiento tres veces cada siete días y contemplará:

- ② una prueba rápida para el diagnostico de malaria,
- ② una gota gruesa,
- ② una gota de sangre para papel filtro,
- ② una prueba rápida para diagnostico medir hemoglobina,

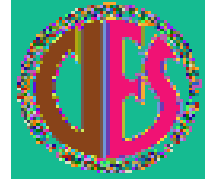
Para tal fin estaremos tomando 4 ml de Sangre, en el caso de personas mayores de 15 años y en el caso de niños menores de 15 años, solo un pinchazo en el dedo, las muestras recogidas en el papel filtro y una muestra de sangre serán analizados en el laboratorio central del Ministerio de Salud (CNDR-MINSA), para saber con otras técnicas si usted tiene parásitos causantes de la malaria.

No hay costo alguno asociado con la participación en este estudio. Hay algunos riesgos y beneficios, los riesgos producto de la toma de sangre son dolor temporal, moretones y muy infrecuentemente una infección, riesgo que estarán minimizado al utilizar material de toma de sangre estéril y personal calificado.





MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
CIES-UNAN



**CONSENTIMIENTO DEL ENTREVISTADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO  
Utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de de  
infección con *Plasmodium*, en residentes de tres municipios de Chinandega con  
localidades endémicas, durante el período de Agosto a Diciembre de 2008**

Los beneficios para usted son: que si a usted se le detecta parásitos de malaria, ingresará al programa de control de la malaria para su tratamiento y seguimiento, los que a como las pruebas de laboratorio son completamente gratuita.

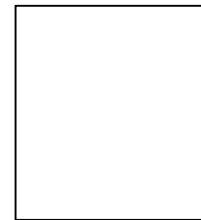
La información recolectada durante este estudio es confidencial. No será utilizada en ningún reporte o publicación. Toda la información será procesada usando códigos y será guardada en una base de datos a la cual únicamente el coordinador de la investigación tendrá acceso.

Se respondieron con satisfacción mis preguntas y reconozco que mi participación es voluntaria y que puedo dejar de participar en este estudio en cualquier momento que lo desee.

Permito que las muestras de sangre tomadas sean utilizadas en el estudio. También autorizo que la información que brinde para el llenado de la ficha sea utilizada por los investigadores del estudio.

\_\_\_\_\_  
Nombre y Apellidos del Entrevistado

\_\_\_\_\_  
Código No



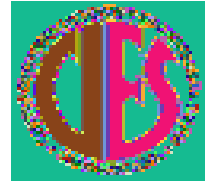
Huella digital

\_\_\_\_\_  
Nombre y apellidos  
Persona que explicó el estudio usando este formulario

Fecha \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Día Mes Año



MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
MINSAL-CIES-UNAN



Utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de *Plasmodium* en residentes de tres municipios de Chinandega de Julio-Noviembre de 2008

**I. DATOS GENERALES**

Código Número: \_\_\_\_\_

1) Nombres: \_\_\_\_\_

2) Primer Apellido: \_\_\_\_\_ 3) Segundo Apellido \_\_\_\_\_

4) Edad: \_\_\_\_\_ 5) Sexo: \_\_\_\_\_ 6) País de origen: \_\_\_\_\_

7) Municipio: \_\_\_\_\_ 8) Localidad: \_\_\_\_\_

11) Dirección de la vivienda: \_\_\_\_\_

9) No de Casa: \_\_\_\_\_ 10) Tiempo de Vivir en ese lugar: \_\_\_\_\_

12) Geo-referenciación (GPS): Altitud: \_\_\_\_\_ Latitud: \_\_\_\_\_ Longitud: \_\_\_\_\_

13) ¿Podría decirme hasta que grado de estudio llego, esta o Terminó?:

- |                       |                          |                                 |                          |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| Ninguno               | <input type="checkbox"/> | Estudios Técnicos Incompletos   | <input type="checkbox"/> |
| Primaria Incompleta   | <input type="checkbox"/> | Estudios Técnicos Completos     | <input type="checkbox"/> |
| Primaria Completa     | <input type="checkbox"/> | Estudios Superiores Incompletos | <input type="checkbox"/> |
| Secundaria Incompleta | <input type="checkbox"/> | Estudios Superiores completos   | <input type="checkbox"/> |
| Secundaria Completa   | <input type="checkbox"/> |                                 |                          |

14) Ocupación u oficio: \_\_\_\_\_

**II. DATOS EPIDEMIOLOGICOS**

15) ¿Ha oído hablar de la Malaria? SI ( ) NO ( )

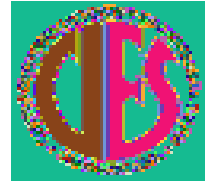
15) ¿Puede decirme cuales son los síntomas de la Malaria?

- |                            |                          |                    |                          |
|----------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|
| Dolor de cabeza            | <input type="checkbox"/> | Escalofríos        | <input type="checkbox"/> |
| Fiebres o calenturas       | <input type="checkbox"/> | Dolor en los ojos  | <input type="checkbox"/> |
| Nauseas o ganas de vomitar | <input type="checkbox"/> | Dolor en el cuerpo | <input type="checkbox"/> |
| Sudoración                 | <input type="checkbox"/> |                    |                          |

Nivel de conocimiento sobre la Malaria: Conoce  Conoce Poco  No Conoce



MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
MINSA-CIES-UNAN



16) ¿Puede decirme cómo se transmite la malaria? \_\_\_\_\_

- 
- Por la picadura de un zancudo
  - Un zancudo pica a una persona enferma y luego a otra sana
  - Por un zancudo infectado
  - En tiempo de lluvia cuando hay muchos zancudos

Nivel de conocimiento: Conoce  Conoce Poco  No Conoce

17) ¿Qué usa para evitar que le piquen los mosquitos o Zancudos?

- Repelentes para mosquitos
- Mosquiteros
- Espirales
- Camisa manga larga
- Nada
- Otros: \_\_\_\_\_

18) ¿Puede decirme cuándo fue la última vez que fumigaron su casa?

- Una semana o menos
- Más de una semana
- Hace un mes
- Más de un mes
- No Recuerda
- Nunca

19) ¿Conoce el mosquito que transmite la Malaria? SI ( ) NO ( )

20) ¿Puede mencionarme algunos lugares que sirven de criadero para el mosquito de la malaria?

---



---



---



---

21) ¿Qué actividades se pueden hacer en su Comunidad para protegerse de la Malaria?

---



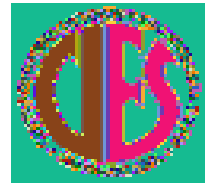
---



---



---



### III. DATOS CLINICOS

22) Ha tenido Malaria alguna vez en su vida?: SI ( ) NO ( )

Si es si, Hace cuantos \_\_\_\_\_ días \_\_\_\_\_ meses \_\_\_\_\_ años y cuantas veces \_\_\_\_\_

23) Alguien de su familia (casa) ha tenido Malaria? SI ( ) NO ( )

24) Esta tomando tratamiento Preventivo para la Malaria: SI ( ) NO ( )

25) Ha tomado alguna vez en su vida tratamiento para evitar la Malaria: SI ( ) NO ( )

¿Cuántas veces? \_\_\_\_\_

26) Ha tomado tratamiento curativo para Malaria: SI ( ) NO ( )

(10 a 14 pastillas Blancas y cafés) ¿Cuantas veces?: \_\_\_\_\_

27) ¿Ha tenido fiebre o calentura en los últimos dos meses? SI ( ) NO ( )

28) ¿Recuerda cuando fue la última vez que presento fiebre?: \_\_\_\_\_

29) ¿Padece de alguna enfermedad? : \_\_\_\_\_ ; NO ( )

### IV. REGISTROS CLINICOS

30) Peso \_\_\_\_\_ Libras \_\_\_\_\_ Kilos 23) Talla (cm) \_\_\_\_\_

31) Temperatura al momento de la visita: \_\_\_\_\_ ( °C grados centígrado)

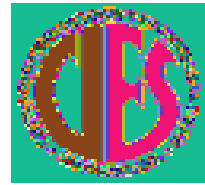
Nombre del Entrevistador: \_\_\_\_\_

Fecha y Hora de Entrevista: \_\_\_\_\_

Firma del Entrevistador: \_\_\_\_\_



MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
MINSA-CIES-UNAN



Utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de *Plasmodium* en residentes de tres municipios de Chinandega de Julio-Noviembre de 2008

**V. REGISTROS DE LABORATORIO**

32) Gota Gruesa

Fecha de Toma: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Resultado de Gota Gruesa

Vivax   
Falciparum

Asociado   
Negativo

33) Toma de Papel filtro

Fecha de Toma: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Resultado PCR papel Filtro

Vivax   
Falciparum

Asociado   
Negativo

34) Proceso de Prueba Rápida **SD BIOLINE Malaria Antigen P.f/Pan POCT**

Fecha de Toma: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Resultado de Prueba Rápida **SD BIOLINE Malaria Antigen P.f/Pan POCT**

*P. vivax*   
*P. falciparum*

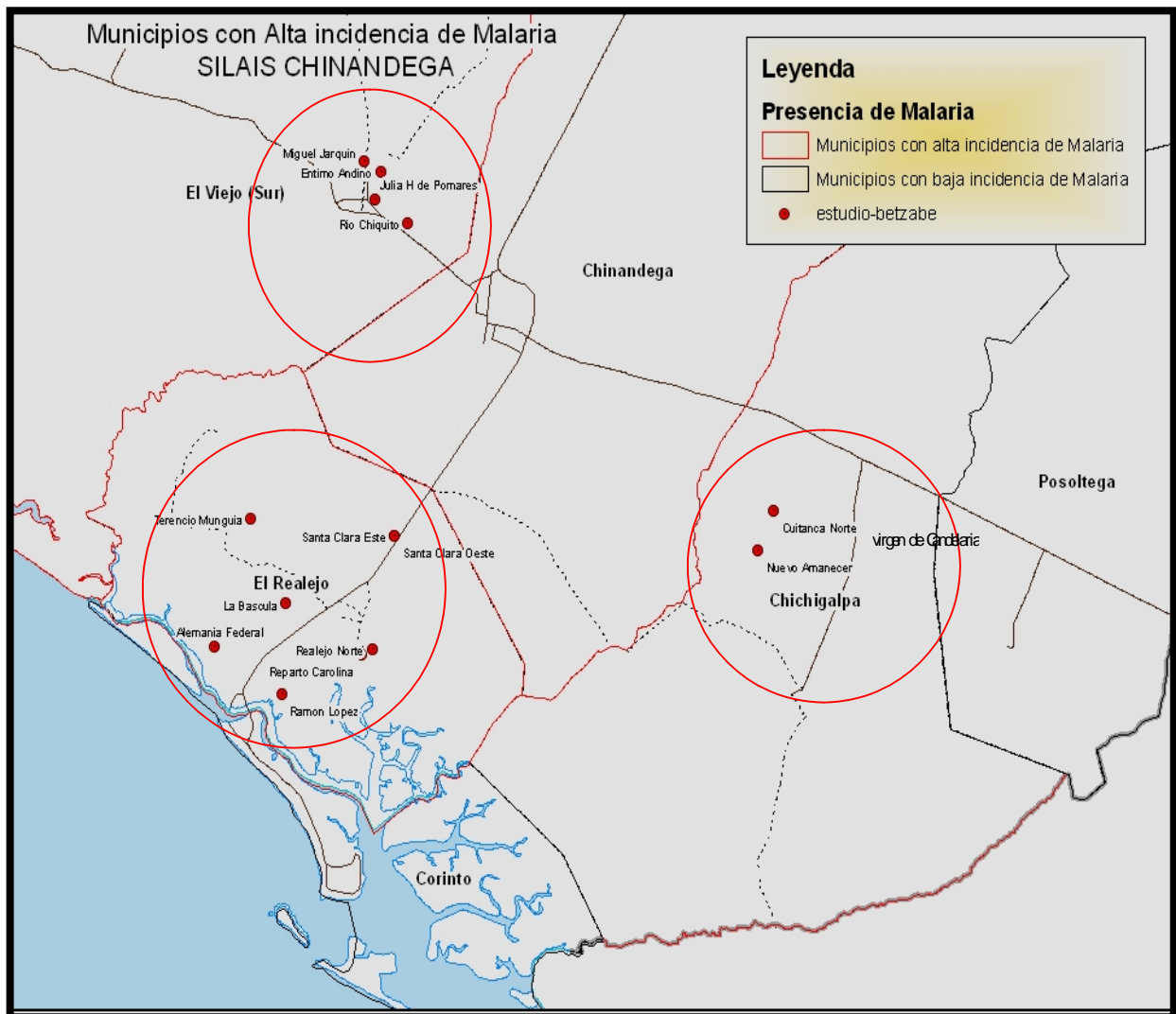
Asociado   
Negativo

35) Proceso de Prueba hemoglobina HEMOCUE Fecha de Toma: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Resultado HEMOCUE: \_\_\_\_\_

Nombre del Analista: \_\_\_\_\_

## Localidades de estudios



### El Viejo:

1. Entimo Andino
2. Julia de Pomares
3. Miguel Jarquín
4. Río Chiquito

### Chichigalpa:

1. Nuevo Amanecer
2. Virgen de Candelaria
3. Cuitanca Norte

### El Realejo:

1. Sta. Clara Este
2. Sta. Clara Oeste
3. Alemania Federal
4. Relejo Norte
5. Reparto Carolina
6. Terencio Murguía
7. Ramón López
8. La Báscula

**Tabla 1 Características Sociales de entrevistados de tres Municipios endémicos de Malaria  
(El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Características Habitantes	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Entrevistados en localidades de estudio</b>	59	46.5	55	43.3	13	10.2	127	100.0
<b>Sexo</b>								
Hombre	16	27.0	22	40.0	10	76.9	48	37.8
Mujer	43	72.0	33	60.0	3	23.0	79	62.2
<b>Grupo de Edad</b>								
Menores de 15 años	20	33.8	17	30.9	8	61.5	45	35.4
De 15 a 59 años	35	59.3	35	63.6	5	38.5	75	59.1
De 60 a más años	4	6.7	3	5.5	0	0.0	7	5.5
<b>Tiempo de vivir en el lugar</b>								
Menos de 5 años	13	22.0	19	40.0	2	15.4	34	26.8
Más de 6 años	46	78.0	36	60.0	11	84.6	93	73.2
<b>Ocupación</b>								
Estudiante	21	35.6	18	32.7	8	61.5	47	37.0
Ama de casa	18	14.1	14	25.5	3	23.6	35	27.5
Ocupaciones diversas	9	12.3	15	27.3	1	7.6	25	19.7
Desempleado	6	10.2	3	5.5	1	0.8	10	7.8
Niño sin edad de estudiar	5	8.5	5	9.1	0	0.0	10	7.8
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>46.5</b>	<b>55</b>	<b>43.3</b>	<b>13</b>	<b>10.2</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Cuestionario/Entrevista

**Tabla 2.0 Nivel de conocimiento sobre la Malaria de entrevistados de tres Municipios endémicos de Malaria  
(El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Conocimientos sobre Malaria (Nivel de Conocimiento)	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Ha oído hablar de la Malaria</b>								
Si	46	77.9	46	83.6	9	69.2	101	79.5
No	7	11.9	3	5.5	4	30.7	14	11.1
Menores no contestaron	6	10.2	5	9.1	0	0.0	11	8.6
<b>Síntomas de la Malaria</b>								
Conoce	22	37.2	29	52.7	2	15.4	53	41.7
Conoce Poco	23	38.9	16	29.0	9	69.2	48	37.8
No Conoce	8	13.6	5	9.1	2	15.4	15	11.8
<b>Cómo se transmite la Malaria</b>								
Conoce	1	1.7	1	1.8	0	0.0	2	1.6
Conoce Poco	39	66.1	41	74.5	6	46.1	86	67.7
No Conoce	18	22.0	8	14.5	7	53.8	28	22.0
<b>Barreras de protección para evitar que le piquen los mosquitos</b>								
Mosquiteros	38	64.4	37	67.3	5	38.5	80	63.0
Espirales	15	25.4	6	10.9	0	0.0	21	16.5
Abanico	3	5.1	4	7.2	3	23.1	10	7.8
Repelentes	1	1.7	2	3.6	2	15.4	5	3.9
Otros actividades	1	1.7	2	3.6	0	0.0	3	2.4
Nada	1	1.7	4	7.2	3	23.1	8	6.3

Fuente: Cuestionario/Entrevista

Tabla 2.1 Nivel de conocimiento sobre la Malaria de entrevistados de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.

Conocimientos sobre malaria	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Conoce al mosquito que Transmite la Malaria</b>								
SI	16	27.1	17	30.9	5	38.4	38	29.9
NO	37	62.7	33	60.0	8	61.5	78	61.4
<b>Criaderos del mosquito de la Malaria</b>								
Charcos y Manglares	20	33.9	32	58.2	8	61.5	60	47.2
Agua mal almacenada	13	22.0	4	7.3	1	7.7	18	14.2
Llantas	9	15.3	1	1.8	2	15.4	12	9.4
No sabe	11	18.6	10	18.2	1	1.7	22	17.3
<b>Actividades para proteger la comunidad de la Malaria</b>								
Eliminar charcos	20	33.9	20	36.4	8	61.5	48	37.8
Limpieza general	21	35.6	17	30.9	2	15.4	40	31.5
Abatizar	4	6.8	4	7.3	0	0.0	8	6.3
Fumigar	2	3.4	0	0.0	1	7.7	3	2.4
Charlas sobre salud	1	1.7	4	7.3	1	7.7	6	4.7
No sabe	11	18.6	10	18.2	1	7.7	22	17.3
<b>Ultima vez que fumigaron su casa</b>								
Menos de un mes	13	22.0	4	7.3	0	0.0	17	13.4
Más de un mes	33	59.9	33	60.0	12	92.3	78	61.4
No recuerda	3	5.1	6	10.9	0	0.0	9	7.1
Nunca	6	10.2	7	12.7	1	7.7	14	11.0

Fuente: Cuestionario/Entrevista

Tabla 3 Características de Salud (antecedentes de Malaria) de entrevistados de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.

Antecedentes de Malaria	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Ha tenido Malaria alguna vez en su vida</b>								
SI	22	37.3	16	29.1	7	53.8	45	35.4
NO	37	62.7	39	70.9	6	46.2	82	64.6
<b>Hace cuanto tiempo tuvo Malaria</b>								
Menos de 1 año	4	6.8	1	1.8	0	0.0	5	3.9
De 1-5 años	7	11.9	7	12.7	3	23.0	17	13.4
Más de 6 años	3	5.1	1	1.8	1	7.7	5	3.9
<b>Veces padeció Malaria</b>								
De 1 a 2	21	35.6	15	27.3	6	46.2	42	33.1
De 3 a 4	1	1.7	0	0.0	1	7.7	2	1.6
Ninguna	37	62.7	36	65.5	6	46.2	79	62.2
No recuerda	0	0.0	4	3.1	0	0.0	4	3.1
<b>Antecedentes Malaria en familia</b>								
SI	37	62.7	30	54.5	9	69.2	76	59.8
NO	22	37.3	25	45.5	4	30.8	51	40.2
<b>Tratamiento preventivo para la Malaria</b>								
SI	4	6.8	7	12.7	3	23.1	14	11.0
NO	55	93.2	48	87.3	10	76.9	113	89.0
<b>Tomó Tx Completo para la Malaria</b>								
SI	31	52.5	50	90.9	10	76.9	91	71.7
NO	28	47.5	5	9.1	3	23.1	36	28.3
<b>No de veces que tomó Tx completo</b>								
Una vez	15	25.4	12	21.8	6	46.2	33	26.0
Varias	7	11.9	3	5.5	1	7.7	11	8.7
Ninguna	37	62.7	39	70.9	6	46.2	82	64.6
No recuerda	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8

Fuente: Cuestionario/Entrevista



**Tabla 4 Características de Salud (datos clínicos actuales) de habitantes de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Datos Clínicos actuales	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Fiebre o calentura en los últimos dos meses</b>								
SI	16	27.1	14	25.5	5	38.5	35	27.5
NO	43	72.9	41	74.5	8	61.5	92	72.4
<b>Fiebre (última vez)</b>								
1 día a tres semanas	8	13.6	5	9.1	0	0.0	13	10.2
1 a 2 meses	5	8.5	3	5.5	1	7.7	9	7.1
Mas de Tres meses	40	67.8	27	49.1	7	53.8	74	58.3
No recuerda	6	10.2	20	33.8	5	38.5	31	24.4
<b>Padece de enfermedad</b>								
SI	17	28.8	10	18.2	2	15.4	29	22.8
No	42	71.2	45	81.2	11	84.6	98	77.2
<b>Temperatura(°C) D0</b>								
De 34-35.9	7	11.9	7	12.7	0	0.0	14	11.0
De 36-37.9	43	72.9	48	87.3	13	100.0	104	81.9
De 38 a mas	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
No se tomo temperatura	9	15.2	0	0.0	0	0.0	9	7.1
<b>Temperatura (°C) D7</b>								
De 34-35.9	10	16.9	2	3.6	2	15.4	14	11.0
De 36-37.9	28	47.5	39	70.9	9	69.2	76	59.8
De 38 a mas	1	1.7	1	1.8	0	0.0	2	1.6
No se tomo temperatura	20	33.9	13	23.6	2	15.4	35	27.6
<b>Temperatura (°C) D14</b>								
De 34-35.9	3	5.1	1	1.8	0	0.0	4	3.2
De 36-37.9	23	38.9	29	52.7	8	61.5	60	47.2
De 38 a mas	1	1.7	0	0.0	0	0.0	1	0.8
No se tomo temperatura	32	54.2	25	45.5	5	38.5	62	48.8

Fuente: Cuestionario/Entrevista

**Tabla 5.0 Estandarización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR) Panel de Referencia Instituto regional de Malaria Tapachula, México**

No	CÓDIGO	CONDICIÓN	ESPECIE	DENSIDAD PARASITARIA p/ul	RESULTADO NM PCR (IPS) 18 SSr DNA	RESULTADO NM PCR (CNDR) 18 SSr DNA
1	SN11	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
2	SN12	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
3	SN13	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
4	SN14	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
5	1N18	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
6	SN19	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
7	SN20	S. N.	-	-	Negativo	Negativo
8	1C+ (289-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	5,200	Positivo	Positivo
9	2C+ (287-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	12,400	Positivo	Positivo
10	3C+ (272-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	12,640	Positivo	Positivo
11	4C+ (249-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	2,880	Positivo	Positivo
12	5C+ (256-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	4,480	Positivo	Positivo
13	6C+ (269-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	19,440	Positivo	Positivo
14	7C+ (320-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	3,440	Positivo	Positivo
15	8C+ (275-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	10,160	Positivo	Positivo
16	9C+ (284-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	3,760	Positivo	Positivo
17	10C+ (253-A)	S. P. P. F.	<i>P. vivax</i>	13,120	Positivo	Positivo
18	307-05	ST PP	<i>P. falciparum</i>	400	Positivo	Positivo
19	305-07	ST PP	<i>P. vivax</i>	-	Positivo	Positivo
20	20 VIC-05	ST PP	<i>P. vivax</i>	13,000	Positivo	Positivo
21	108-07	ST PP	<i>P. vivax</i>	800	Positivo	Positivo
22	263-05	ST PP	<i>P. falciparum</i>	-	Positivo	Positivo
23	156-07 VEN	ST PP	<i>P. vivax</i>	1,050	Positivo	Positivo
24	156-07 CAP	ST PP	<i>P. vivax</i>	1,050	Positivo	Positivo
25	264-05	ST PP	<i>P. falciparum</i>	<b>24,000</b>	Positivo	Positivo
26	11 VIC	ST PP	<i>P. vivax</i>	3,040	Positivo	Positivo

**Tabla 5.1 Estandarización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Anidada (NM-PCR)**

**Panel de Referencia Instituto regional de Malaria Tapachula, México**

No	CÓDIGO	CONDICION	ESPECIE	DENSIDAD PARASITARIA p/ul	RESULTADO PCR (IPS) 18 SSr DNA	RESULTADO PCR (CNDR) 18 SSr DNA
27	7E -WGA	STPP	<i>P. vivax</i>	240	Positivo	Positivo
28	8704 -WGA	STPP	<i>P. vivax</i>	320	Positivo	Positivo
29	236 -WGA	STPP	<i>P. vivax</i>	480	Positivo	Positivo
30	251-06	STPP	<i>P. vivax</i>	960	Positivo	Positivo
31	269-07	STPP	<i>P. vivax</i>	19,440	Positivo	Positivo
32	67-07	STPP	<i>P. vivax</i>	-	Positivo	Positivo
33	13J05	STPP	<i>P. vivax</i>	<b>160</b>	Positivo	Positivo
34	298-07	STPP	<i>P. vivax</i>	-	Positivo	Positivo
35	15C+ (403-A)	STPP	<i>P. vivax</i>	1,200	Positivo	Positivo
36	16C+ (430-A)	STPP	<i>P. vivax</i>	1,200	Positivo	Positivo

**LEYENDAS**

SN	Sangre Negativa	Sangre Negativa	<b>19.4% (7)</b>
SPPF	Sangre Positiva Papel Filtro	Sangre Positiva Papel Filtro	<b>27.7% (10)</b>
STPP	Sangre Total Positiva Purificada	Sangre Total Positiva Purificada	<b>52.8%(19)</b>

**Positivos**

<i>P. vivax</i>	<b>91.7%(33)</b>
<i>P. falciparum</i>	<b>8.3%(3)</b>

**Positivo Amplificación de ADN en pares de bases (pb)**

Positivo <i>P. vivax</i>	<b>398-400 pb</b>
Positivo <i>P. falciparum</i>	<b>480-500pb</b>

**Tabla 6 Número total diagnóstico de laboratorio (D0, D7 y D14), en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

TECNICA DIA DE MUESTREO	Gota Gruesa		Prueba Rápida		PCR Papel Filtro		PCR Sangre Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>DO 06,07 Y 08 Nov/2008</b>	<b>108</b>	<b>85.0</b>	<b>108</b>	<b>85.0</b>	<b>108</b>	<b>85.0</b>	<b>99</b>	<b>77.9</b>
<b>D7 13,14 Y 15 Nov/2008</b>	93	73.2	17	13.4	93	73.2	78	61.4
Nuevas muestras	17	13.4	17	13.4	17	13.4	17	13.4
Muestras del DO	76	59.8	0	0.0	76	59.8	61	48.0
<b>D14 20,21 Y 22 Nov/2008</b>	78	61.4	2	1.5	78	61.4	43	33.9
Nuevas muestras	2	1.6	2	1.5	2	1.6	2	1.6
Muestras del D0 Y D7	76	59.8	0	0.0	76	59.8	41	32.3
<b>Total</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>	<b>118</b>	<b>92.9</b>

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 7 Resultados de Laboratorio toma de muestra (D0), en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Diagnóstico de laboratorio Primer día D0	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS</b>								
<b>Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	59	100.0	55	100.0	13	100.0	127	100.0
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR-MINSA</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Negativos	59	100.0	54	98.2	13	100.0	126	99.2
<b>Prueba Rápida SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Positivos <i>P. falciparum</i>	2	3.6	5	9.1	0	0.0	7	5.5
Positivos asociados	0	0.0	2	3.6	0	0.0	2	1.6
Negativos	57	96.6	48	87.3	13	100.0	118	92.9
<b>PCR Papel Filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Positivos <i>P. falciparum</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Positivos asociados	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	59	100.0	54	98.2	13	100.0	126	99.2
<b>PCR Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Positivos <i>P. falciparum</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Positivos asociados	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	51	86.4	54	98.2	11	84.6	116	91.3
No se tomó	8	13.6	0	0.0	2	15.4	10	7.9
<b>Total Mx realizadas</b>	<b>59</b>	<b>96.4</b>	<b>55</b>	<b>46.5</b>	<b>13</b>	<b>10.2</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 8 Resultado de Laboratorio toma de muestra (D7), en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Diagnóstico de Laboratorio Dia Siete D7	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS</b>								
<b>Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Negativos	41	69.5	42	76.2	9	69.2	92	72.4
No se tomó	18	30.5	12	20.0	4	30.8	34	26.8
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>46.5</b>	<b>55</b>	<b>43.3</b>	<b>13</b>	<b>10.2</b>	<b>127</b>	<b>100.0</b>
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR-MINSA</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Negativos	41	69.5	42	76.4	9	69.2	92	72.4
No se tomó	18	30.5	12	21.8	4	30.8	34	26.8
<b>Prueba Rápida Positivas</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Positivos <i>P. falciparum</i>	2	3.4	5	9.1	0	0.0	7	5.5
Positivos asociados	0	0.0	2	3.6	0	0.0	2	1.6
No se tomó	57	96.6	47	85.5	13	100.0	117	92.1
<b>PCR Papel filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Negativos	41	69.5	42	76.4	9	69.2	92	72.4
No se tomó	18	30.5	12	21.8	4	30.8	34	26.8
<b>PCR Papel Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Negativos	33	55.9	37	67.3	8	61.5	78	61.4
No se tomó	26	44.1	17	30.9	5	38.5	48	37.8

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 9 Resultado de Laboratorio toma de muestra (D14), en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Diagnóstico de laboratorio Día Catorce D14	El Viejo		El Realejo		Chichigalpa		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS</b>								
<b>Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	31	52.5	35	63.6	10	76.9	76	59.8
No se tomó	28	47.5	20	36.3	3	23.1	51	40.2
<b>Total</b>	59	46.5	55	43.3	13	10.2	127	100.0
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR-MINSA</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	31	52.5	35	63.6	10	76.9	76	59.8
No se tomó	28	47.5	20	36.3	3	23.1	51	40.2
<b>Prueba Rápida Positivas</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	1	1.8	0	0.0	1	0.8
Positivos <i>P. falciparum</i>	2	3.6	5	9.1	0	0.0	7	5.5
Positivos asociados	0	0.0	2	3.6	0	0.0	2	1.6
No se tomó	2	3.6	7	12.7	0	0.0	9	7.1
<b>PCR Papel filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	31	52.5	35	63.6	10	76.9	76	59.8
No se tomó	28	47.5	20	36.3	3	23.1	51	40.2
<b>PCR Papel Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	22	37.3	14	25.5	7	53.8	43	33.9
No se tomó	37	67.7	41	74.5	6	46.2	84	66.1

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 10 Resultado de Laboratorio Primer Día (D0), por grupos de edad en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Diagnóstico de laboratorio primer día (D0)	Menores de 15 años		De 15 a 59 años		Mayores de 60 años		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	44	34.6	75	59.1	7	5.5	126	99.2
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>Prueba Rápida SD Bioline Antigen <i>P.f./Plan POCT</i>®</b>								
<i>P. vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
<i>P. falciparum</i>	3	2.4	4	3.1	0	0.0	7	5.5
Asociados	2	1.6	0	0.0	0	0.0	2	1.6
Negativos	40	31.5	71	55.9	7	5.5	118	92.9
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	44	34.6	75	59.1	7	5.5	126	99.2
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. Vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	36	28.3	74	58.3	7	5.5	117	92.1
No se tomó	8	6.3	1	0.8	0	0.0	9	7.1
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 11 Resultado de Laboratorio Día Séptimo (D7), por grupos de edad en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008.**

Diagnóstico de laboratorio Día Séptimo (D7)	Menores de 15 años		De 15 a 59 años		Mayores de 60 años		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	34	26.8	53	41.7	5	3.9	74	58.3
No se tomó	10	7.8	22	17.3	2	1.6	34	26.8
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	34	26.8	53	41.7	5	3.9	92	72.4
No se tomó	10	7.8	22	17.3	2	1.6	34	26.8
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>Prueba Rápida SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®</b>								
<i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
<i>P. falciparum</i>	3	2.4	4	3.1	0	0.0	7	5.5
Asociados	2	1.6	0	0.0	0	0.0	2	1.6
Negativos	40	31.5	71	55.9	7	5.5	118	92.9
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	34	26.8	53	41.7	5	3.9	92	72.4
No se tomó	10	7.8	22	17.3	2	1.6	34	26.8
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. Vivax</i>	1	0.8	0	0.0	0	0.0	1	0.8
Negativos	21	16.5	51	40.2	5	3.9	77	60.6
No se tomó	23	18.1	24	18.9	2	1.6	49	38.6
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0

Fuente: Resultados laboratorio/Cuestionario

**Tabla 12 Resultado de Laboratorio Día catorce (D14), por grupos de edad en pobladores de de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008**

Diagnóstico de laboratorio Día catorce (D14)	Menores de 15 años		De 15 a 59 años		Mayores de 60 años		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>Gota Gruesa SILAIS Chinandega</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>								
Negativos	0	0.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0
No se tomó	31	24.4	44	34.6	3	2.4	78	61.4
<b>Total</b>	14	11.0	31	24.4	4	3.1	49	38.6
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>Gota Gruesa Control de Calidad CNDR</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	31	24.4	44	34.6	3	2.4	78	61.4
No se tomó	14	11.0	31	24.4	4	3.1	49	38.6
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel filtro</b>								
Positivos <i>P. vivax</i>	0	0.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	31	24.4	44	34.6	3	2.4	78	61.4
No se tomó	14	11.0	31	24.4	4	3.1	49	38.6
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0
<b>PCR Papel Sangre Total</b>								
Positivos <i>P. Vivax</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Negativos	10	7.9	26	20.5	2	1.6	38	29.9
No se tomó	35	27.6	49	38.6	5	3.9	89	70.1
<b>Total</b>	45	35.4	75	59.1	7	5.5	127	100.0

Fuente: Resultados Laboratorio/Cuestionario

**Tabla 13** Sensibilidad y Especificidad de cada técnica de Laboratorio (D0) en personas residentes de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008

Prueba Realizada D0	VERDADERO POSITIVO	FALSO POSITIVO	VERDADERO NEGATIVO	FALSO NEGATIVO	TOTAL	STATUS DEL DIAGNOSTICO		STATUS DEL DIAGNOSTICO	
						S %	E %	VPP %	VPN %
Gota Gruesa Control de Calidad CNDR-MINSA "Gold Standard"	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0
Gota Gruesa SILAIS Chinandega	0	0	126	1	127	0.0	100.0	0.0	100.0
Prueba Rápida SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®	0	9	116	1	127	0.0	92.8	0.0	92.8
NM-PCR Papel Filtro	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0
NM-PCR Sangre Total	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0

Fuente: Resultados Laboratorio/Cuestionario

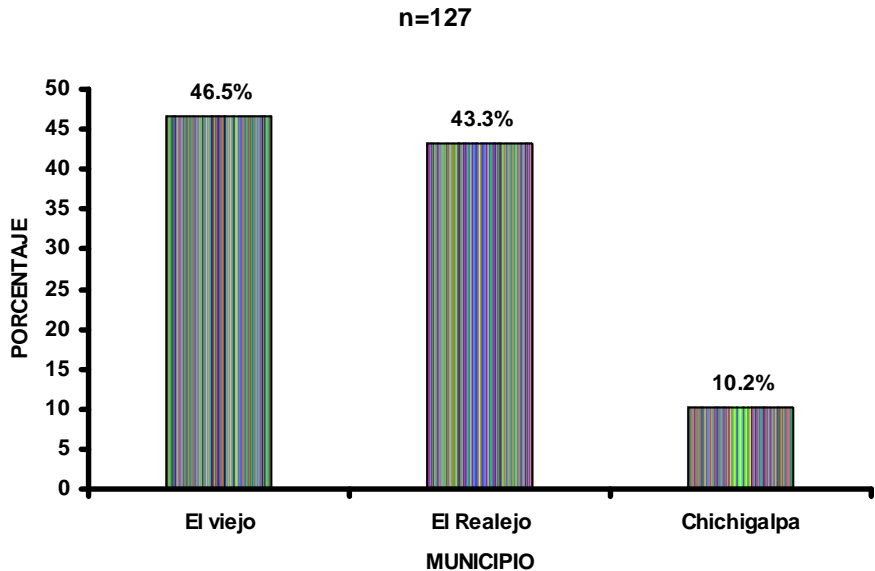
**Tabla 14** Sensibilidad y Especificidad de cada técnica de Laboratorio (D7) en personas residentes de tres Municipios endémicos de Malaria (El Viejo, El Realejo y Chichigalpa) Chinandega, Noviembre de 2008

Prueba Realizada D7	VERDADERO POSITIVO	FALSO POSITIVO	VERDADERO NEGATIVO	FALSO NEGATIVO	TOTAL	STATUS DEL DIAGNOSTICO		STATUS DEL DIAGNOSTICO	
						S %	E %	VPP %	VPN %
Gota Gruesa Control de Calidad CNDR-MINSA "Gold Standard"	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0
Gota Gruesa SILAIS Chinandega	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0
Prueba Rápida SD Bioline Antigen P.f./Plan POCT®	1	9	116	0	127	100.0	92.8	10.0	100.0
NM-PCR Papel Filtro	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0
NM-PCR Sangre Total	1	0	126	0	127	100.0	100.0	100.0	100.0

Fuente: Resultados Laboratorio/Cuestionario

# GRÁFICO No 1

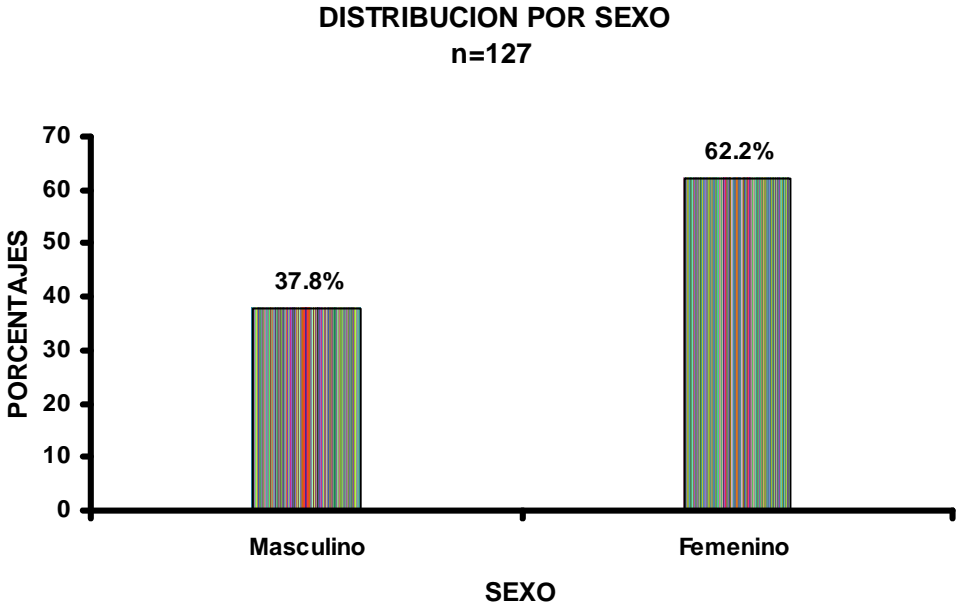
## Distribución de la población de Estudio por Municipio



Fuente: Tabla No 1

# GRÁFICO No 2

## Caracterización de la Población de Estudio

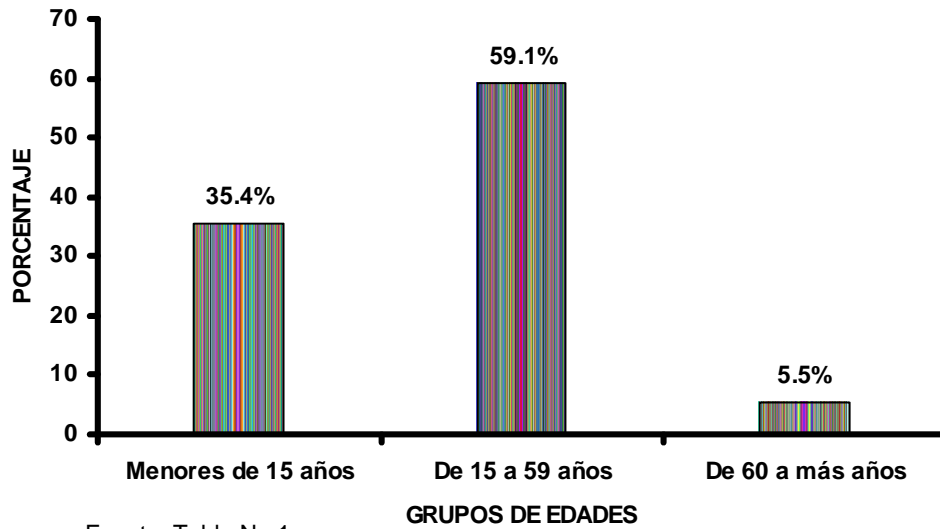


Fuente: Tabla No 1

### GRÁFICO No 3

#### Caracterización de la Población de Estudio

DISTRIBUCIÓN POR EDAD  
n=127

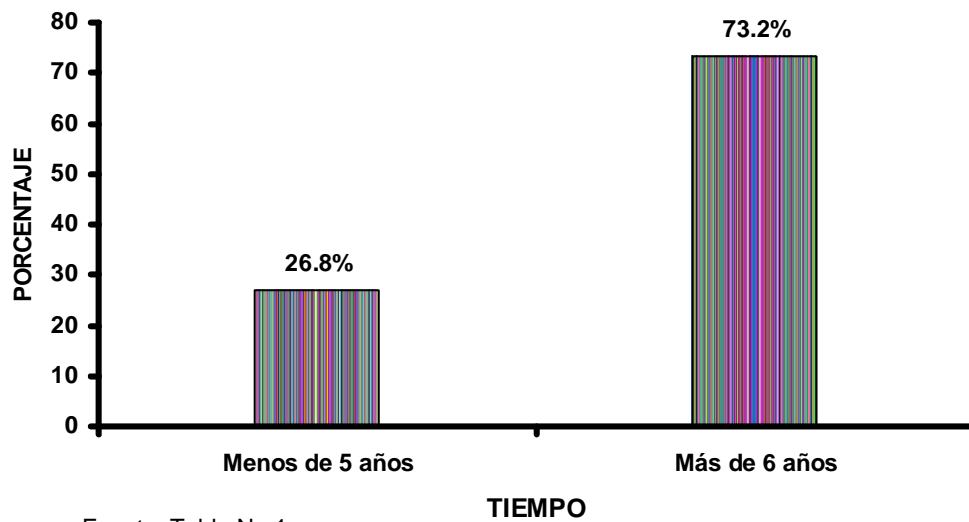


Fuente: Tabla No 1

### GRÁFICO No 4

#### Caracterización de la Población de Estudio

TIEMPO DE VIVIR EN EL LUGAR  
n=127



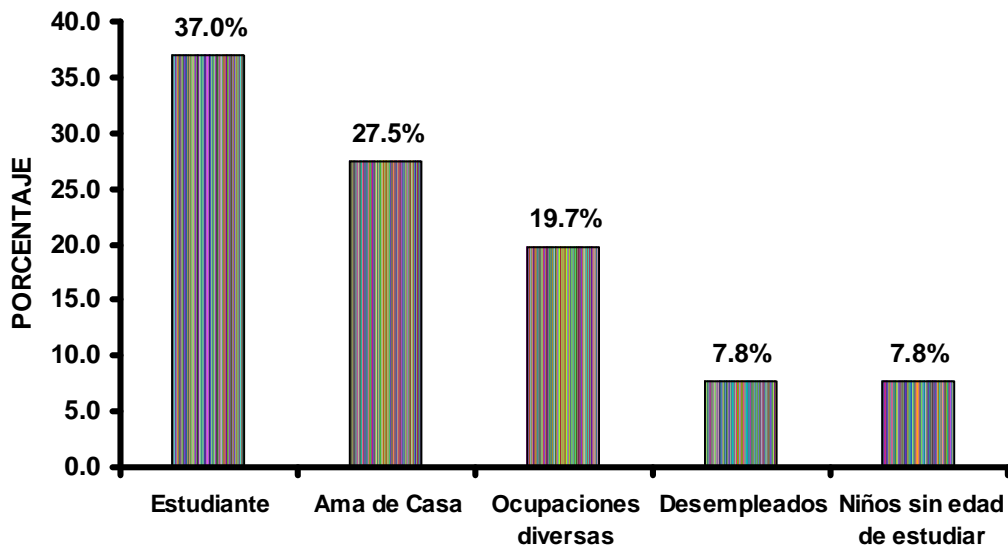
Fuente: Tabla No 1



## GRÁFICO No 5 Caracterización de la Población de Estudio

### OCUPACIONES

n=127

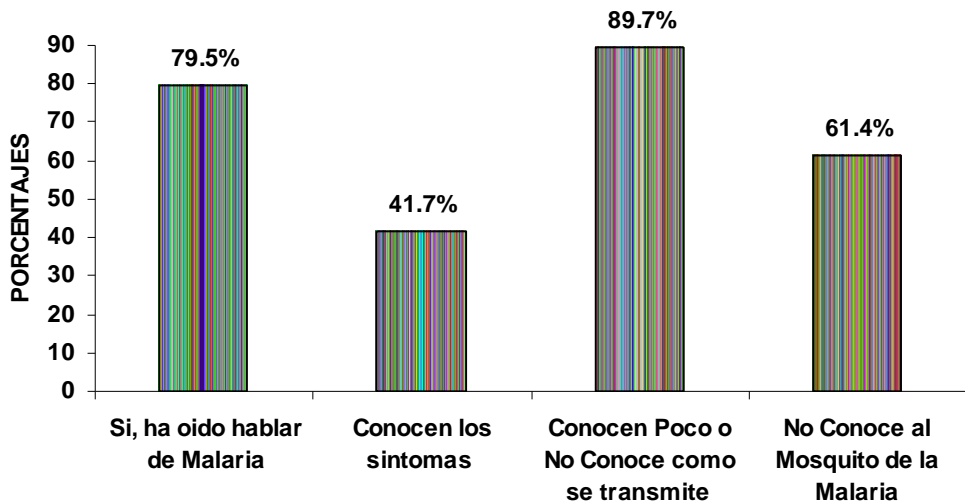


Fuente: Tabla No 1

## GRÁFICO No 6 Caracterización de la Población de Estudio

### NIVEL DE CONOCIMIENTO DE LA MALARIA

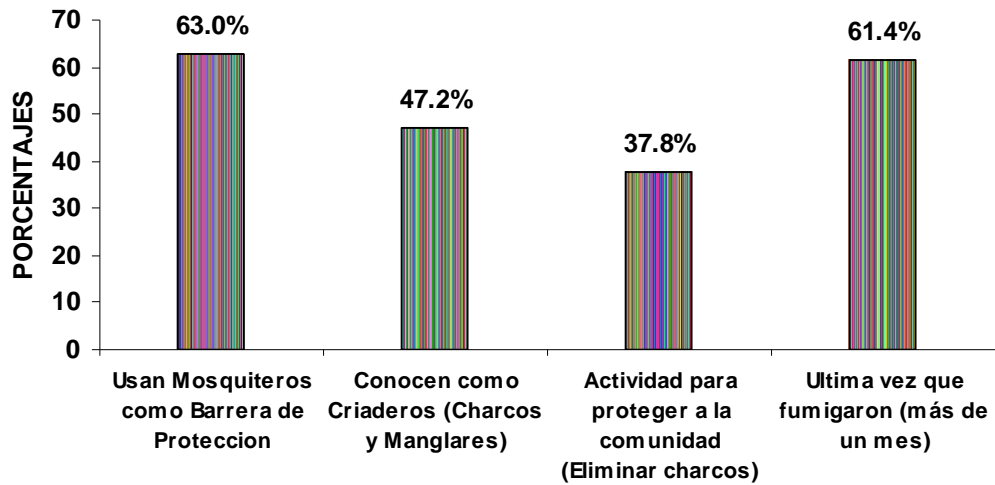
n=127



Fuente: Tabla No 2.0

## GRÁFICO No 7 Caracterización de la Población de Estudio

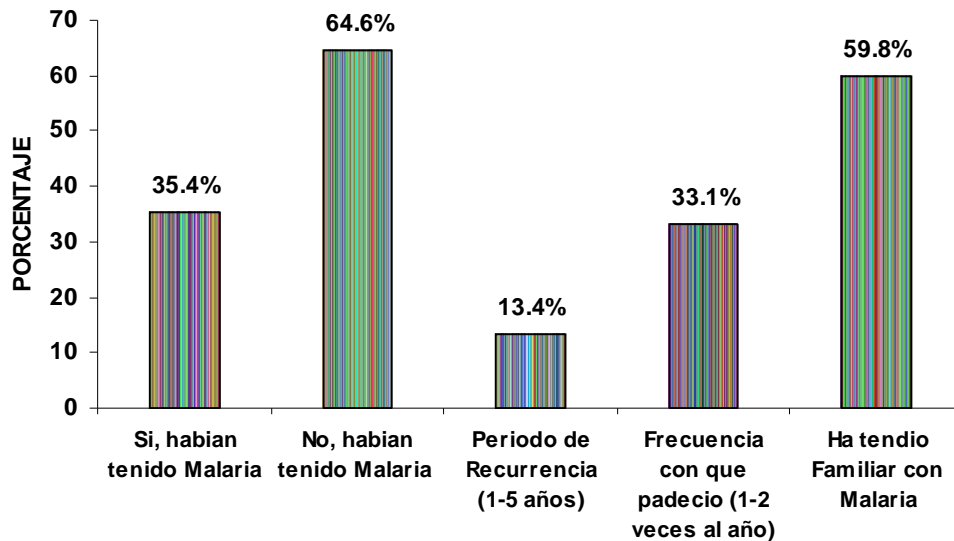
### NIVEL DE CONOCIMIENTO PROTECCION PERSONAL, DE LA FAMILIA Y LA COMUNIDAD n=127



Fuente: Tabla No 2.0 y 2.1

## GRÁFICO No 8 Caracterización de la Población de Estudio

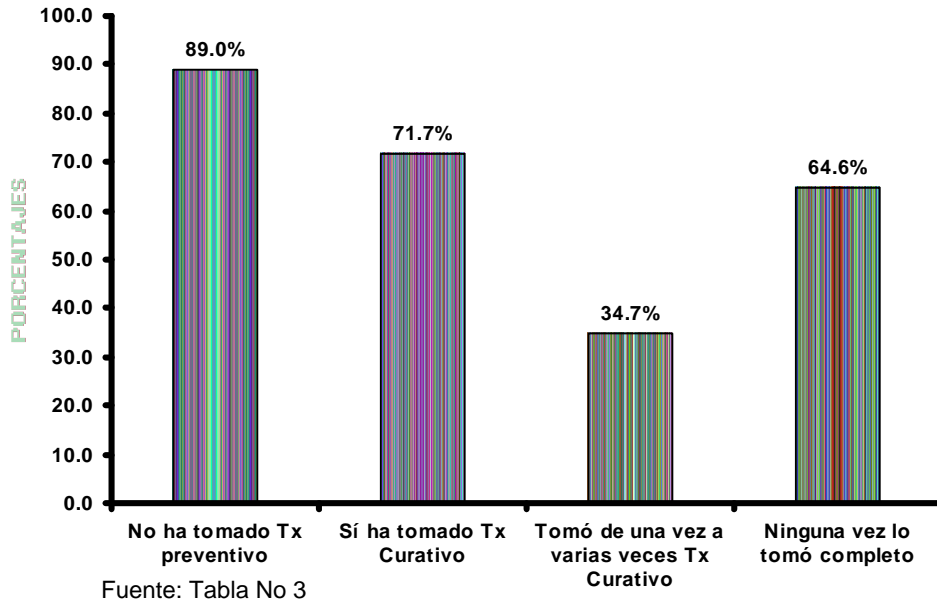
### ANTECEDENTES DE MALARIA n=127



Fuente: Tabla No 3

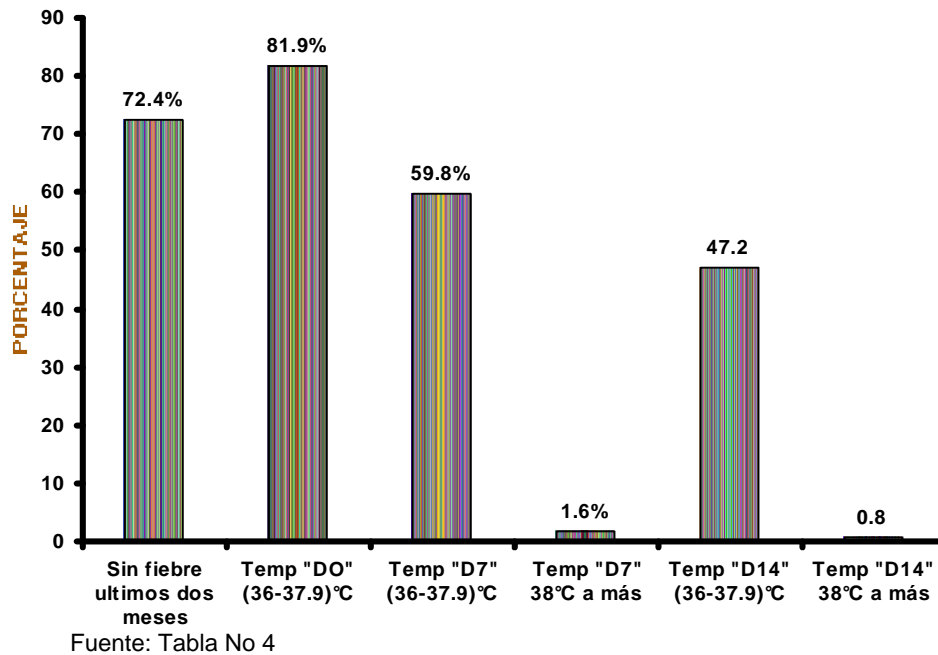
## GRÁFICO No 9 Caracterización de la Población de Estudio

TRATAMIENTO DE LA MALARIA  
n=127

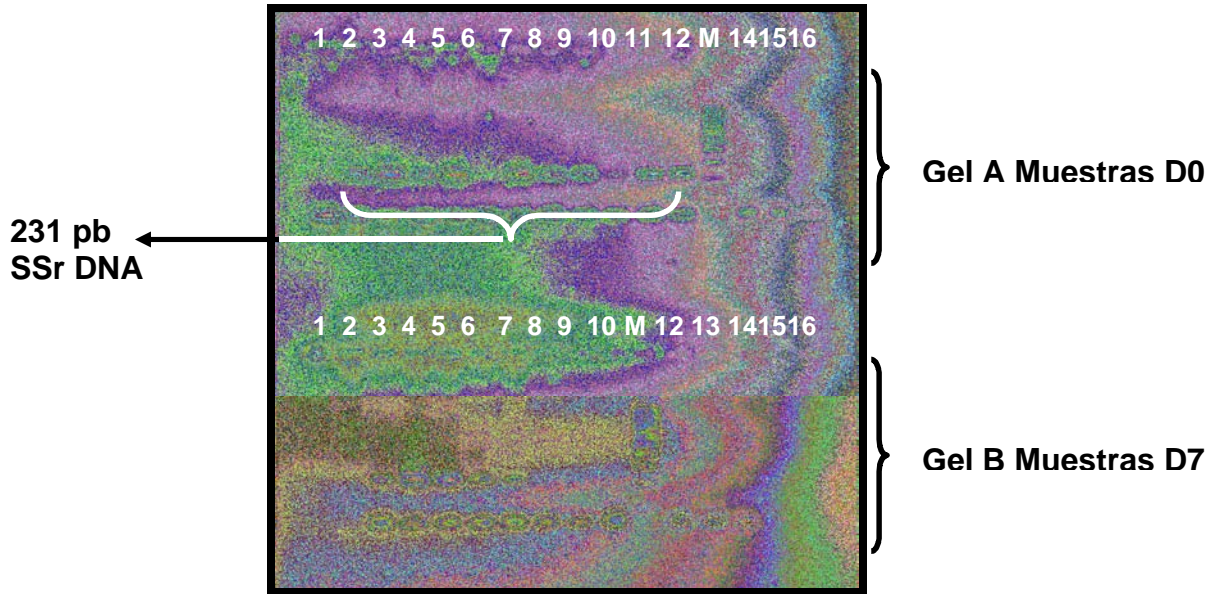


## GRÁFICO No 10 Caracterización de la Población de Estudio

TEMPERATURA  
n=127



**Figura 1**  
**Estandarización del NM-PCR**  
**Amplificación de la 18 SSr RNA (gen Humano)**



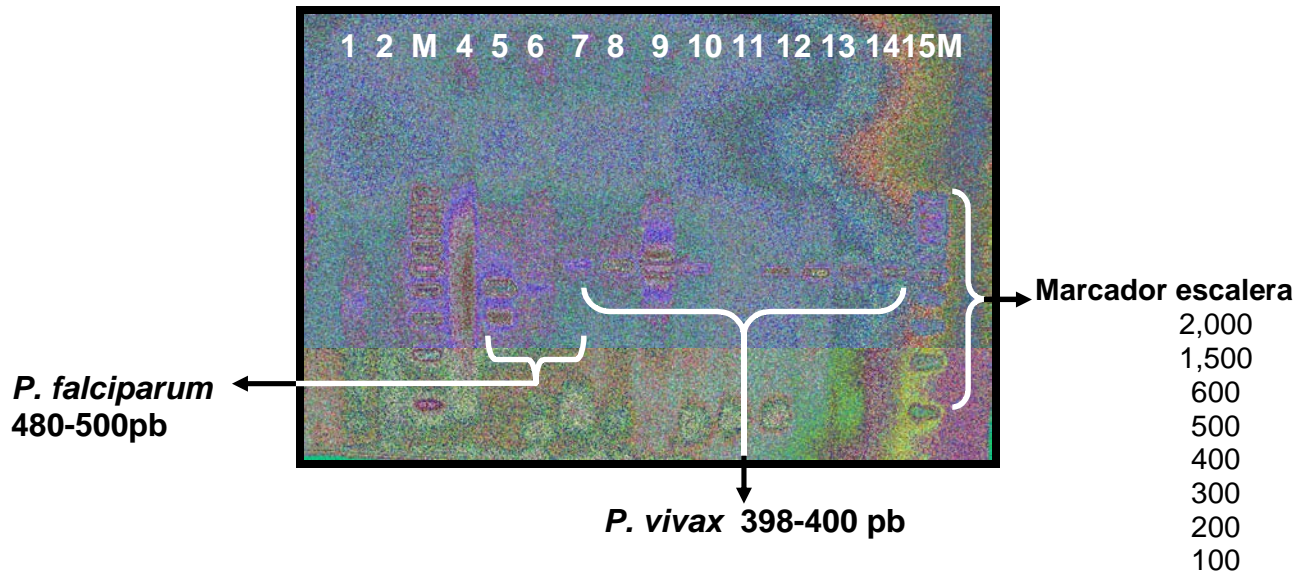
**Gel A Muestras D0**

- |                 |                        |
|-----------------|------------------------|
| 1. Agua PCR     | 10. Paciente 83        |
| 2. Suero Normal | 11. Paciente 75        |
| 3. Paciente 20  | 13. Paciente 78        |
| 4. Paciente 50  | M Escalera             |
| 5. Paciente 63  | 14. Control <i>P.v</i> |
| 6. Paciente 100 | 15. Control <i>P.v</i> |
| 7. Paciente 109 | 16. Control <i>P.f</i> |
| 8. Paciente 110 |                        |
| 9. Paciente 112 |                        |

**Gel B Muestras D7**

- |                 |                        |
|-----------------|------------------------|
| 1. Agua PCR     | 10. Paciente 83        |
| 2. Suero Normal | M. Escalera            |
| 3. Paciente 20  | 12. Control <i>P.v</i> |
| 4. Paciente 50  | 13. Control <i>P.v</i> |
| 5. Paciente 63  | 14. Control <i>P.f</i> |
| 6. Paciente 100 | 15. vacío              |
| 7. Paciente 109 | 16. vacío              |
| 8. Paciente 110 |                        |
| 9. Paciente 112 |                        |

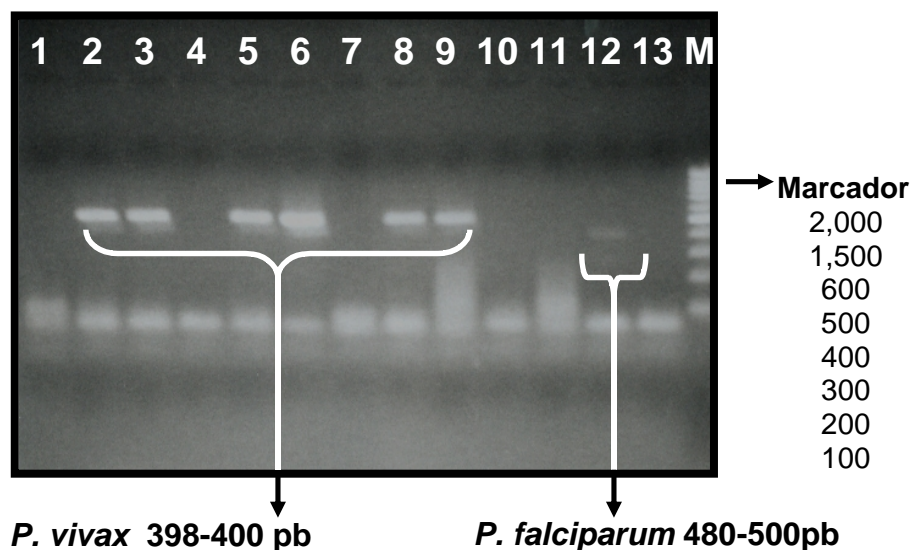
**Figura 2**  
**Estandarización del NM-PCR**  
**Amplificación de la 18 SSr RNA del *Plasmodium Ssp.***  
**Límite de Detección**



**Gel A Muestras DO**

- |   |  |
|---|--|
| 1. Agua PCR                                 | 10. Control No 29 <i>P. v</i> 20 parásitos/! |
| 2. Suero Normal No11                        | 11. Suero Normal No 13                       |
| 3. Marcador                                 | 12. Control No 13 <i>P. v</i> 20 parásitos/! |
| 4. Suero Normal No 12                       | 13. Control No 13 <i>P. v</i> 5 parásitos/!  |
| 5. Control No 18 <i>P. f</i> 20 parásitos/! | 14. Control No 31 <i>P. v</i> 20 parásitos/! |
| 6. Control No 18 <i>P. f</i> 5 parásitos/!  | 15. Control No 31 <i>P. v</i> 5 parásitos/!  |
| 7. Control No 36 <i>P. v</i> 5 parásitos/!  | 16. Marcador                                 |
| 8. Control No 36 <i>P. v</i> 20 parásitos/! |  |
| 9. Control No 29 <i>P. v</i> 5 parásitos/!  |  |

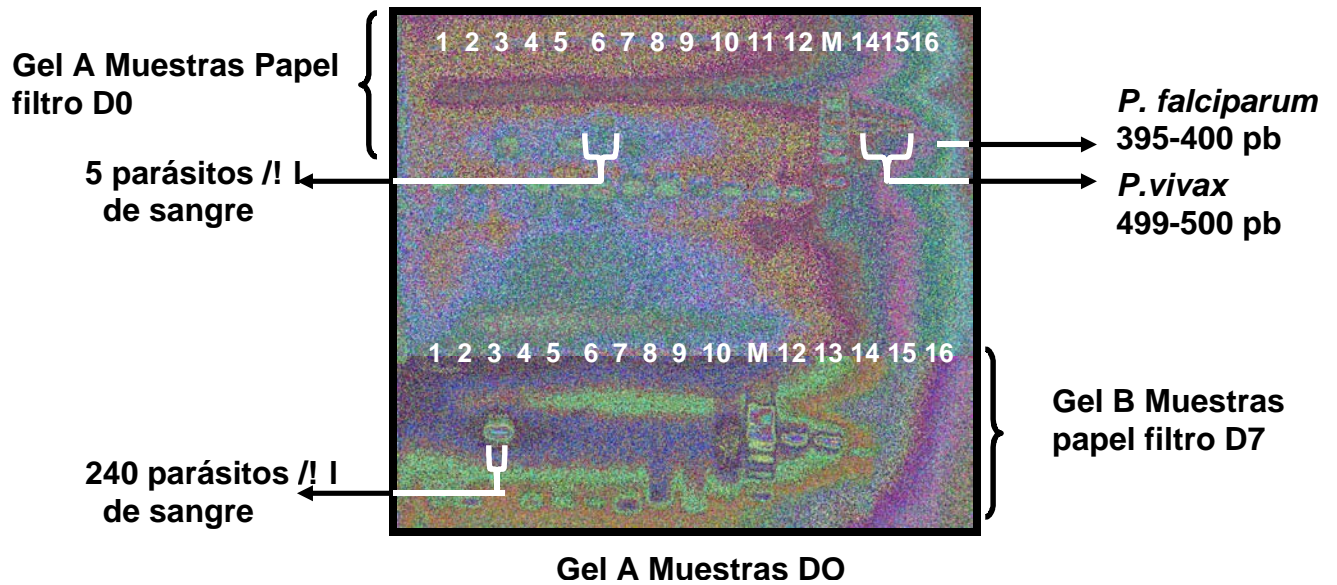
**Figura 3**  
**Estandarización del NM-PCR**  
**Amplificación de la 18 SSr RNA del *P. vivax* y *P. falciparum***  
**Evaluación del Papel Filtro Vs Sangre Total**



**Gel A Muestras Controles**

- |   |  |
|---|--|
| 1. Agua PCR                               | 8. Control No 29 <i>P. v</i> sangre total  |
| 2. Control No 18 <i>P. v</i> sangre total | 9. Control No 29 <i>P. v</i> papel filtro  |
| 3. Control No 18 <i>P. v</i> papel filtro | 10. Control Negativo 12                    |
| 4. Control Negativo 10                    | 11. Control No 31 <i>P. f</i> sangre total |
| 5. Control No 36 <i>P. v</i> sangre total | 12. Control No 31 <i>P. f</i> papel filtro |
| 6. Control No 36 <i>P. v</i> papel filtro | 13. Agua PCR                               |
| 7. Control Negativo 11                    | 14. Marcador                               |

**Figura 4**  
**Estandarización del NM-PCR**  
**Amplificación de la 18 SSr RNA del *P. vivax* y *P. falciparum***  
**Validez y Seguridad de la prueba diagnóstica**



- |                                    |                        |
|------------------------------------|------------------------|
| 1. Agua PCR                        | 10. Paciente 83        |
| 2. Suero Normal                    | 11. Paciente 75        |
| 3. Paciente 20                     | 13. Paciente 78        |
| 4. Paciente 50                     | M Escalera             |
| 5. Paciente 63                     | 14. Control <i>P.v</i> |
| 6. Paciente 100 (Caso Positivo D0) | 15. Control <i>P.v</i> |
| 7. Paciente 109                    | 16. Control <i>P.f</i> |
| 8. Paciente 110                    |                        |
| 9. Paciente 112                    |                        |

**Gel B Muestras D7**

- |                                    |                        |
|------------------------------------|------------------------|
| 1. Agua PCR                        | 10. Paciente 83        |
| 2. Suero Normal                    | M. Escalera            |
| 3. Paciente 100 (Caso Positivo D7) | 12. Control <i>P.v</i> |
| 4. Paciente 50                     | 13. Control <i>P.v</i> |
| 5. Paciente 63                     | 14. Control <i>P.f</i> |
| 6. Paciente 20                     | 15. vacío              |
| 7. Paciente 109                    | 16. vacío              |
| 8. Paciente 110                    |                        |
| 9. Paciente 112                    |                        |