



Frecuencia de infecciones por *Plasmodium vivax* y respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana

Paula Andrea Calderón Ruiz

Tesis de maestría presentada para optar al título de Magíster en Epidemiología

Tutor

Alberto Tobón Castaño, Doctor (PhD) en Salud Pública y Metodología de Investigación Biomédica

Universidad de Antioquia

Facultad Nacional de Salud Pública Héctor Abad Gómez

Maestría en Epidemiología

Medellín, Antioquia, Colombia

2022

Cita	Calderón Ruiz <i>et al</i> (1)
Referencia	(1) Calderón-Ruiz P, Tobón-Castaño A. Frecuencia de infecciones por <i>P. vivax</i> y respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por <i>P. vivax</i> en la Amazonía Colombiana [Tesis de maestría]. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia; 2022.
Estilo Vancouver/ICMJE (2018)	



Maestría en Epidemiología, Cohorte XIX.

Grupo de Investigación Malaria.

Sede de Investigación Universitaria (SIU).



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Decano/Director: José Pablo Escobar Vasco.

Jefe departamento: Juan Fernando Saldarriaga Franco.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

Esta tesis de maestría está dedicada a:

Mis padres Carlos y Gloria por apoyarme y creer en mí, acompañarme y animarme en todo este proceso de formación y aprendizaje, porque gracias a Dios y a ellos estoy cumpliendo con otra de mis más grandes metas.

A mi novio Alejandro, a mis familiares y amigos que estuvieron acompañándome y nunca me dejaron sola, brindándome palabras de ánimo y motivación.

Finalmente, al departamento del Amazonas por acogerme, creer en mi y brindarme el apoyo para poder llevar a cabo el estudio, agradezco a las entidades de salud, las autoridades indígenas y las personas que me acompañaron en estos años.

Agradecimientos

Quiero agradecerle profundamente a mi tutor de tesis, el doctor Alberto Tobón, por confiar en mi y brindarme su apoyo, a mis compañeros del grupo Malaria, Gabriel, Verónica, Carlos, Ana y Juan Diego y a la Universidad de Antioquia por haberme permitido ser parte de tan reconocida institución y acompañarme, por medio de sus profesores e instalaciones en mi formación académica.

Agradezco también a mis amigos y colegas Jaime y Hanson por compartir conmigo, por apoyarme y no dejarme sola, siempre dándome consejos y animándome.

Agradezco al Laboratorio de Salud Pública, la Secretaría de Salud departamental y al Hospital San Rafael de Leticia por abrirme sus puertas y permitirme trabajar con ellos en la realización de este proyecto.

Finalmente agradezco a la doctora Luz Mila, el doctor Carlos, la jefe Noemi, a mi amigos y colegas Sebastián y Julián, a mi amigo Alejandro y su familia, a Johana, a los promotores de salud Yovani y Alirio, a Norman en Puerto Santander y a todas las personas y profesionales que me apoyaron de todas las formas posibles para poder llevar a cabo este estudio y cumplir este sueño que surgió en 2018 - 2019 cuando tuve la oportunidad de ser bacterióloga rural en Puerto Santander, Amazonas.

Tabla de contenido

Lista de tablas	6
Lista de figuras	7
Anexos	8
Resumen	9
Abstract	110
Introducción	111
1. Planteamiento del problema	15
2. Justificación	18
3. Objetivos.....	20
3.1. Objetivo general	20
3.2. Objetivos específicos.....	20
4. Marco teórico.....	21
4.1. Epidemiología de la malaria	21
4.2. Estratificación del riesgo para malaria	22
4.3. La malaria en la Amazonía Colombiana.....	22
4.4. Malaria por <i>Plasmodium vivax</i>	24
4.4.1. Ciclo de vida	25
4.4.2. Tratamiento	26
4.5. Respuesta de <i>Plasmodium vivax</i> a los antimaláricos	117
4.5.1. Respuesta terapéutica.....	29
4.5.2.1. Estudios de la tasa de recaídas.....	29
4.5.2.2. Estudios de la tasa de recurrencias.....	32
4.5.2. Efectividad terapéutica	34
4.6. Métodos diagnósticos para malaria	36

4.6.1. Microscopía	36
4.6.2. Pruebas de diagnóstico rápido	37
4.6.3. Métodos moleculares de diagnóstico.....	38
5. Metodología.....	39
5.1. Sitios de estudio	39
5.2. Frecuencia de infecciones por <i>Plasmodium vivax</i>	39
5.3. Respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con <i>P. vivax</i> .	45
6. Resultados.....	57
Capítulo 1: Frecuencia de infecciones por <i>P. vivax</i> en pacientes sintomáticos en la Amazonía Colombiana 2021-2022	57
Capítulo 2: Respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por <i>P. vivax</i> en la Amazonía Colombiana	63
7. Discusión	72
8. Conclusiones	82
9. Recomendaciones.....	84
Referencias	85

Lista de tablas

Tabla 1	Casos de malaria diagnosticados por localidad y años.....	40
Tabla 2	Primers y tamaño en pares de bases de cada fragmento	44,55
Tabla 3	Características sociodemográficas de los pacientes incluidos en el estudio....	58
Tabla 4	Características de vivienda y antecedentes de malaria de los pacientes incluidos.....	59
Tabla 5	Pacientes positivos por lugar por lugar de estudio y especie infectante	60
Tabla 6	Sintomatología presentada por los pacientes incluidos y pacientes positivos para malaria por <i>P. vivax</i>	61
Tabla 7	Características sociodemográficas de pacientes con malaria por <i>P. vivax</i>	62
Tabla 8	Características sociodemográficas de los pacientes incluidos.....	66
Tabla 9	Sintomatología al inicio y final del seguimiento	68
Tabla 10	Pacientes positivos por día de seguimiento y respuesta terapéutica	69
Tabla 11	Descripción de pacientes positivos a día 28 de seguimiento	71

Lista de figuras

Figura 1 Mapa de Amazonas y lugares de estudio.....	39
Gráfico 1 Flujograma de pacientes.....	64
Gráfico 2 Disminución de la parasitemia	70

Anexos

Documento anexo 1. Cuestionario frecuencia de infecciones por *Plasmodium vivax* en la Amazonía Colombiana

Documento anexo 2. Cuestionario respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana

Documento anexo 3. Asentimiento informado frecuencia de infecciones

Documento anexo 4. Consentimiento informado frecuencia de infecciones

Documento anexo 5. Consentimiento informado respuesta al tratamiento

Documento anexo 6. Informe anual 2021 ETV, Amazonas

Resumen

Objetivo: describir la frecuencia de *Plasmodium vivax* y evaluar la respuesta terapéutica de dos esquemas de tratamiento y presencia de eventos adversos en pacientes con malaria vivax.

Métodos: entre diciembre de 2020 y julio de 2022 se realizó un estudio transversal y un ensayo clínico cuasi experimental en 5 lugares del departamento de Amazonas; se estimó la frecuencia de infecciones por *P. vivax* y se evaluaron dos protocolos de tratamiento con seguimiento a 28 días, con cloroquina dosis total de 25 mg base/kg, y primaquina con dosis de 0.5 mg/Kg/día por 7 días o 0.25 mg /Kg/día por 14 días.

Resultados: se halló una frecuencia de *P. vivax* de 94.7% en 142 pacientes positivos para malaria y se encontró una respuesta adecuada al tratamiento en el 100% de los pacientes que recibieron tratamiento supervisado en los dos esquemas de tratamiento. No obstante, los pacientes que no recibieron tratamiento supervisado reportaron un porcentaje de fracaso terapéutico de 10,5% en el grupo con 7 días de primaquina (grupo I) y 5% en el grupo con 14 días de primaquina (grupo II)

Conclusión: *P. vivax* fue la especie más frecuente en los casos febriles estudiados de la Amazonía Colombiana. Este es el primer estudio que evalúa la respuesta de esta especie al tratamiento combinado de cloroquina más primaquina en esta región. Se identificó que esta combinación, suministrada de manera supervisada, es eficaz para lograr la cura clínica y parasitológica en casos de malaria no complicada por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana, sin embargo, los tratamientos no supervisados mostraron una frecuencia de falla del 5 al 10% por lo que se recomienda seguir evaluando la eficacia y efectividad terapéutica en la región.

Palabras clave: antimaláricos, terapéutica, recurrencia, efectividad, resultado del tratamiento

Abstract

Objective: to describe the frequency of *Plasmodium vivax* and evaluate the therapeutic response of two treatment regimens and the presence of adverse events in patients with vivax malaria.

Methods: a cross-sectional study and a quasi-experimental clinical trial were conducted between December 2020 and July 2022 in 5 sites in the department of Amazonas; the frequency of *P. vivax* infections was estimated, and two treatment protocols were evaluated with 28-day follow-up, with chloroquine at a total dose of 25 mg base/kg, and primaquine at a dose of 0.5 mg/kg/day for 7 days or 0.25 mg/kg/day for 14 days.

Results: *P. vivax* was the most frequent species in the febrile cases studied in the Colombian Amazon. This is the first study that evaluates the response of this species to the combined treatment of chloroquine plus primaquine in this region; it was identified that this combination administered in a supervised manner is effective in achieving clinical and parasitological cure in cases of uncomplicated *P. vivax* malaria in the Colombian Amazon; however, unsupervised treatments showed a failure rate of 5 to 10%; therefore, it is recommended to continue evaluating the efficacy and therapeutic effectiveness in the region.

Conclusion: *P. vivax* is the most frequent species in the Colombian Amazon and the response to the combined treatment of chloroquine plus primaquine continues to be adequate to treat *P. vivax* malaria in the Colombian Amazon; however, it is recommended to continue evaluating the efficacy and therapeutic effectiveness in the region.

Keywords: antimalarials, therapeutic, recurrence, effectiveness, treatment outcome

Introducción

La malaria es una enfermedad de importancia a nivel de salud pública, afectando en su mayoría población vulnerable y en condición de pobreza, su vigilancia, prevención, control y eliminación representan un desafío constante en los países tropicales y subtropicales del mundo donde es endémica (1). *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), por su parte, es responsable de cerca de la mitad de los casos por malaria reportados en Colombia, y más del 90% de los casos en el departamento de Amazonas (2).

Colombia se ha acogido a la estrategia de la eliminación mundial de la malaria, la cual busca reducir la morbilidad y mortalidad en el país, con base en estrategias planteadas que permitan responder a las necesidades de diagnóstico, control de vectores y administración de tratamientos eficaces y seguros (3).

La malaria en la Amazonía Colombiana representa un problema de salud pública donde las zonas más afectadas se caracterizan por el acceso inoportuno a los servicios de salud que se suma a un tipo de economía basada en trabajos que facilitan la exposición al vector de la enfermedad como la pesca, agricultura, caza o en situaciones más extremas, actividades informales de minería o cultivos ilícitos. La transmisión de esta enfermedad también está influenciada por las migraciones y el paso de personas en las zonas fronterizas, que pueden contribuir con la introducción de infecciones por otras especies de *Plasmodium* (4)

El departamento del Amazonas está estratificado, según la población en riesgo, en estrato 4, por cumplir con criterios como encontrarse a una altura menor de 1600 msnm, con focos activos y residuales y reportar 3 o menos casos de malaria semanales, sin embargo, para el municipio de Puerto Nariño y las áreas no municipalizadas de La Pedrera y Tarapacá, la estratificación de la población en riesgo se ubica en el estrato 5, donde al igual que el estrato del resto del departamento, cumple con los 2 primeros criterios, a excepción del reporte de 3 o más casos semanales (5).

Leticia y Puerto Santander se encuentran ubicados en estrato 4 de riesgo, sin embargo, el área no municipalizada de Puerto Santander ha reportado aumento de

casos en los años 2017, 2018 y 2019, con una transmisión inestable similar a lo ocurrido en otras áreas endémicas del departamento del Amazonas (6) (7) (8). Leticia por su parte en su casco urbano, pese a no tener transmisión de malaria, reporta casos provenientes de comunidades relativamente cercanas como el Calderón. Adicionalmente, recibe casos remitidos de diferentes lugares del Amazonas, al encontrarse en zona fronteriza y tener las instituciones de salud de referencia del departamento (9).

El municipio de Puerto Nariño reportó 58 casos de malaria en el año 2019, mientras Tarapacá y La Pedrera, se sumaron con 381 y 754 casos respectivamente, según las estadísticas proporcionadas por el departamento de Epidemiología de la Secretaría de Salud Departamental. La transmisión de la malaria en estos lugares se ha presentado de manera inestable por factores ambientales, económicos, culturales, migratorios y fronterizos, los cuales pueden ser más evidentes por la ubicación y geografía de las zonas (4).

Las especies de *Plasmodium* circulantes en el departamento que se han reportado con más frecuencia son *P. vivax* y *P. falciparum* (8), sin embargo, dadas las características ya mencionadas que hacen parte de los factores de transmisión de la malaria en el departamento de Amazonas, otras especies, como *P. malariae*, podrían encontrarse circulando (10).

La malaria por *P. vivax*, es una de las enfermedades febriles más frecuentes en zonas tropicales y subtropicales del mundo (11). En Colombia, para el año 2020 se reportaron 75.816 casos de malaria no complicada, de los cuales, 37.559 (49.8%) fueron causados por *P. vivax* de estos, 1278 casos fueron reportados por la Amazonía Colombiana (8). Aunque el departamento aporte al año aproximadamente un 2% de los casos totales del país, la malaria por esta especie es la más frecuente en la región y factores como el subdiagnóstico que se puede presentar en diferentes comunidades por difícil acceso a los servicios de salud y el subregistro de información debido a las limitaciones con el acceso a internet, computadores, impresoras, convierten el reporte e identificación de los casos en una de las problemáticas más importantes en el ámbito de la salud pública.

Según el censo poblacional nacional del 2018 realizado por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), en el departamento del Amazonas un 51,63% de la población vive en centros poblados y rural disperso, mientras el 48,37% restante, viven en cabeceras municipales del departamento (12). Geográficamente, el desplazamiento desde las comunidades (rural disperso) hacia las cabeceras municipales y viceversa se ve limitado por factores económicos, ambientales y sociodemográficos limitando en gran parte el acceso a los servicios de salud.

El tratamiento recomendado para tratar la malaria por *P. vivax* en el país se basa en la administración de Cloroquina (4-aminoquinolina) que actúa como esquizonticida sanguíneo para eliminar las formas asexuadas del parásito, suministrado por 3 días, con dosis total de 25 mg/kg (10 mg el primer día y 7,5 mg los días 2 y 3). De manera concomitante con primaquina, una 8-aminoquinolina, que actúa como esquizonticida tisular y gametocida, suministrado por 14 días (0,25 mg/Kg/día) con una dosis total de 210mg y cuyo objetivo es evitar las recaídas derivadas de estadios hepáticos latentes (13). En Colombia y en otras regiones endémicas del mundo como Brasil o Perú se ha informado adecuada respuesta clínica y parasitológica para tratar casos de malaria vivax, sin embargo, recientes estudios han mostrado aumento de recrudescencias después del tratamiento con cloroquina, como en Bolivia, que sugieren una reducción de la susceptibilidad del parásito a este medicamento, y un aumento de recaídas que plantea preguntas sobre la eficacia de la primaquina (14).

El departamento del Amazonas por su parte adoptó el esquema alternativo de tratamiento que recomienda la guía clínica nacional de atención de la malaria, con primaquina durante 7 días con dosis de 0,5 mg/Kg/día y dosis total de 210 mg y cloroquina con dosis total de 25 mg/kg (10 mg el primer día y 7,5 mg los días 2 y 3) (13), esto, para aumentar la adherencia al tratamiento.

A nivel departamental, son pocos los reportes que se tienen sobre prevalencia de infecciones de malaria y las especies infectantes; no identificamos estudios que evalúen la eficacia y seguridad del tratamiento en pacientes con malaria por *Plasmodium vivax* en la Amazonia colombiana. Por lo que es imprescindible continuar desarrollando estudios y proponiendo estrategias con el fin de contribuir con el mejoramiento de las políticas públicas existentes en el departamento.

Este estudio se planteó en primera instancia para evaluar la tasas de recurrencias de malaria *vivax* durante el primer mes postratamiento con cloroquina más primaquina (recrudescencias) y las recurrencias después del primer mes (recaídas), comparando dos esquemas de primaquina, administrada por 7 o 14 días, con dosis total de 210 mg; , este segundo objetivo no fue posible debido a las dificultades de acceso geográfico para que los pacientes regresaran a los controles mensuales. Sin embargo, se decidió conservar los dos brazos de tratamiento para evaluar la respuesta terapéutica del tratamiento combinado a 28 días de seguimiento.

Dado que el efecto principal de la eliminación de la parasitemia asexual, para lograr la cura clínica, se consigue con la administración de cloroquina, se esperaba que la frecuencia de fracasos terapéuticos con los dos esquemas de primaquina a día 28 no fuera diferente.

Por consiguiente, este estudio tuvo por objetivo conocer la frecuencia de *Plasmodium vivax* y evaluar la respuesta al tratamiento de cloroquina más primaquina y la presencia de eventos adversos en pacientes con malaria no complicada por *Plasmodium vivax* en la Amazonía Colombiana.

1 Planteamiento del problema

La malaria o paludismo es una enfermedad infecciosa causada por parásitos protozoarios del género *Plasmodium*, de los cuales, 6 especies son transmitidas a humanos, *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* y *P. cynomolgi* (14). A nivel global, se reportaron 241 millones de casos de malaria y 627.000 muertes en el 2020. *P. vivax*, representó el 68,3% de los casos en el área de las Américas, siendo la especie más prevalente de la región (15). En Colombia, para el año 2020, se presentaron 37.559 casos por *P. vivax* (49,8%) de los cuales, la Amazonía Colombiana, aportó 1278 (3,4%) casos (8); Aunque el departamento aporte al año aproximadamente un de 2 a 3% de los casos totales del país, la malaria por esta especie es la más frecuente en la región.

Los corregimientos de Amazonas con mayor número de casos e índice parasitario anual (IPA¹) fueron Pedrera (141,6) y Tarapacá (120,5) en 2019 (7), mientras que los reportes del año 2020, aunque no se calcula el IPA, muestran las áreas no municipalizadas de Pedrera, Tarapacá y el municipio de Puerto Nariño, ubicadas en la estratificación del riesgo 5, siendo esta la más alta según el Lineamiento metodológico para la estratificación y estimación de la población a riesgo para malaria 2020-2023 del Ministerio de Salud y Protección Social (MSPS), así mismo, el resto del departamento del Amazonas, incluyendo la ciudad de Leticia y Puerto Santander, se ubican en estrato 4 de riesgo (5).

Bajo el Plan Decenal de Salud Pública (PDSP) articulado con la Estrategia de Gestión Integrada para la promoción, prevención y control de las Enfermedades Transmitidas por Vectores en Colombia (EGI-ETV, 2012-2021) (16), el país pretende reducir la incidencia de estas enfermedades y los índices de mortalidad asociados a ellas por lo menos un 75%, procurando alcanzar la meta propuesta por la Estrategia Técnica Mundial contra la Malaria 2016- 2030, para el año 2025 (17). Por lo tanto, se hace necesario articular diferentes estrategias con el fin de iniciar el camino hacia la eliminación de la malaria, una de más frecuentes ETV en el país. De acuerdo con lo

¹ IPA: número de nuevos casos de malaria x 1.000 / población en riesgo

anterior, el primer pilar del Marco para la eliminación de la malaria, entre otros, contempla la estratificación del riesgo en las zonas o regiones del país con transmisión de malaria, ya sea por incidencia anual de casos o estudios de prevalencia para poder conocer objetivamente el porcentaje de casos en la etapa inicial. El pilar dos de la estrategia plantea el monitoreo de la eficacia de los tratamientos y la vigilancia a la farmacorresistencia; buscando determinar factores adversos y posible reducción de la eficacia (3).

La frecuencia de infecciones por *P. vivax* en pacientes sintomáticos no ha sido ampliamente reportada en estudios y los datos disponibles se han obtenido por métodos de diagnóstico como la microscopía o prueba rápida, las cuales se realizan de rutina para la identificación de casos, sin embargo, por métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el porcentaje de casos por esta especie no ha sido ampliamente reportado y se considera de importancia para dar cumplimiento con el primer pilar del Marco para la eliminación de la malaria, según la OMS (3), adicionalmente, la respuesta al tratamiento con cloroquina más primaquina para tratar infecciones no complicadas por *P. vivax*, no ha sido lo suficientemente estudiada en la región amazónica colombiana y se han encontrado pocos estudios que den cuenta de la proporción de fracasos terapéuticos y los efectos adversos en pacientes de esta zona.

Colombia, ha emprendido la iniciativa de eliminación de la malaria en el territorio nacional sobre los pilares de estratificación de la transmisión y el pilar del suministro de tratamientos antimaláricos eficaces y seguros, entre otros. Por lo que se hacen necesarios la realización de estudios de prevalencia, frecuencia, proporción de respuesta a los tratamientos, eficacia-efectividad en términos de cura clínica y radical y descripción de eventos adversos y eventos adversos graves, para dar cumplimiento con lo contemplado en la estrategia de eliminación mundial de la malaria 2016-2030 y el marco para la eliminación de la malaria (16) (3).

En la Amazonía colombiana, los objetivos que plantea este estudio de conocer la frecuencia de infecciones por *P. vivax* en pacientes sintomáticos, y la respuesta al tratamiento estándar con Cloroquina más Primaquina para lograr la cura clínica de estas infecciones no han sido estudiados recientemente o no se precisa de datos sobre

estos, lo que se convierte en un limitante para el control de esta especie plasmodial en el territorio. Por lo anterior, la conducción y realización de este tipo de estudios, permitiría no solo conocer la situación en el departamento, sino también coordinar y aunar esfuerzos para diseñar y aplicar estrategias eficientes y de impacto para la disminución de la enfermedad en la zona.

2 Justificación

La malaria por *P. vivax* es una enfermedad de interés en salud pública en las áreas endémicas, donde su control y eliminación se ha visto obstaculizado por causas varias; factores como la escasa educación de comunidades expuestas, deficiente saneamiento básico, limitado e inoportuno acceso a los servicios de salud, actividades económicas realizadas en estas áreas que propician el contacto con el vector y el uso de tratamientos populares para la enfermedad, se unen a la insuficiente información sobre la distribución de esta especie en la región y de la respuesta terapéutica a los medicamentos antimaláricos que se administran (18).

Es importante recalcar que adicional a los factores mencionados, *P. vivax* tiene una característica biológica específica, que comparte con *P. ovale*, en la formación de hipnozoítos en el hígado, los cuales pueden persistir incluso después de tratamiento completo y los cuales actúan como una fuente natural del parásito en el organismo, que al reactivarse desarrolla nuevos episodios clínicos, llamados recaídas, perpetuando la transmisión. Este fenómeno se considera de importancia en la aparición de recurrencias, por la capacidad de convertir a los portadores de hipnozoítos en fuentes de infección del parásito, favoreciendo un ciclo constante de contagio (14).

Los sistemas de diagnóstico usados en la región son la microscopía y las pruebas rápidas, las cuales han mostrado una buena sensibilidad y especificidad a la hora de dar un diagnóstico, sin embargo, su capacidad para identificar infecciones de baja carga parasitaria es limitada (19), por tanto para tener información más precisa sobre la frecuencia de infecciones plasmodiales es conveniente emplear pruebas moleculares como la PCR que son más sensibles tanto para diagnóstico de género como especie (20). Diagnosticar con métodos moleculares la frecuencia de infecciones por *P. vivax* e indirectamente por otras especies en el departamento permite tener información útil con el fin de continuar fortaleciendo las estrategias en la lucha contra la malaria.

En la estrategia de eliminación mundial de la malaria 2016-2030, se manifiestan tres pilares básicos, entre los que se incluyen lograr el acceso universal a las pruebas de diagnóstico y la importancia de monitorizar la respuesta a los antimaláricos cada dos

años para observar las tasas de fracaso terapéutico y la seguridad de los medicamentos suministrados (17). Adicionalmente, en el marco para la eliminación de la malaria, el conocimiento de la intensidad de la transmisión y la estratificación del país como punto de partida es clave para iniciar el proceso de eliminación de la enfermedad (3)

En 2019 el departamento de Amazonas aportó un 2.3% de los casos totales del país (4) y dos de sus áreas no municipalizadas se incluyeron entre aquellos que presentaban los IPA más altos del territorio colombiano, La Pedrera (IPA 141.6) y Tarapacá (IPA 120.5) (4). Para el año 2020, Amazonas aportó un 1,8% de los casos totales del país (8), La Pedrera, Tarapacá y Puerto Nariño se ubicaron en estrato 5, según la nueva clasificación de estratificación (16), lo que continúa representando un reto para cumplir con algunos de los objetivos de la estrategia de eliminación mundial de la malaria (17). Sin embargo, a nivel del departamento, es poca la información disponible y los estudios realizados sobre las especies plasmodiales que circulan y específicamente sobre la frecuencia de las infecciones por *P. vivax* en los lugares con mayor reporte de casos. Igualmente hay pocos estudios de control farmacológico, evaluaciones de respuesta terapéutica de los medicamentos antimaláricos y presencia de factores que pueden limitar o afectar el uso de estos. Por esto, se hace imprescindible conocer esta respuesta terapéutica en el departamento para continuar planteando estrategias eficaces.

Los esfuerzos por controlar la malaria se han visto entorpecidos por uno de los principales problemas que viene atravesando esta región, el estado de transmisión inestable, que aumenta el número de casos y representa un reto para el control y posible eliminación de la malaria por *P. vivax* en la zona (21). El impacto de esta enfermedad en la salud de las poblaciones se considera como incapacitante, debilitante, es responsable del ausentismo escolar, laboral y su cronicidad contribuye al deterioro la salud de estas (17). Por lo tanto, el presente estudio busca contribuir al conocimiento de la transmisión de la malaria por *P. vivax* y de la respuesta terapéutica a los antimaláricos en uso la Amazonía Colombiana para poder obtener datos que contribuyan a generar estrategias eficientes y de impacto para el control de la enfermedad en la zona.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Describir la frecuencia de infecciones por *Plasmodium vivax* y la respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria no complicada por *P. vivax* en el departamento del Amazonas Colombiano 2021-2022

3.2 Objetivos específicos

1. Estimar la frecuencia de *P. vivax* en 5 lugares del departamento del Amazonas
2. Evaluar en pacientes con malaria vivax la respuesta al tratamiento con cloroquina más primaquina
3. Registrar la aparición de efectos adversos con los esquemas terapéuticos empleados

4 Marco teórico

4.1 Epidemiología de la malaria

La malaria o paludismo es una enfermedad infecciosa causada por parásitos del género *Plasmodium*, transmitida de manera natural por la picadura de mosquitos hembra del género *Anopheles* (14), sin embargo, formas de propagación de la enfermedad como la transmisión vertical, transfusional o accidental con agujas contaminadas pueden ocurrir eventualmente (13). Existen 6 clases de *Plasmodium* infectantes para el ser humano, *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. cynomolgi* y *P. knowlesi* (14).

En el año 2020 se presentaron 241 millones de casos y 627.000 muertes a nivel mundial. De acuerdo con la división de las regiones contempladas en el reporte mundial de malaria 2021, la región africana aportó 228 millones de casos y 602.000 muertes con un 99,7% de los casos ocasionados por *P. falciparum*, mientras la región de las Américas reportó 653.000 casos y 409 muertes con un 68,3% de los casos producidos por *P. vivax* (15).

En Colombia, para el 2020 se presentaron 37.559 casos por *P. vivax* (49,8%) y 37.626 casos por *P. falciparum* (49,4%), de los cuales, en la Amazonía Colombiana, 85 casos fueron por *P. falciparum* y 1278 por *P. vivax* (8). Según los reportes del Instituto Nacional de Salud (INS), el sistema de vigilancia epidemiológica SIVIGILA y el boletín epidemiológico semanal (BES), se observó una notable reducción en los casos de malaria no complicada en Colombia pasando de 117.637 casos en 2010 a 40.768 casos en 2014, así como también, el número de casos por *P. vivax*, el cual pasó de 83.255 en el 2010 a 20.129 en el 2014. A partir del año 2015 se ha presentado una fluctuación constante en el reporte de casos en el país, con un aumento entre los años 2015 y 2016, una reducción en 2017 y nuevamente un aumento entre el 2018 y 2019 (7) (8).

La situación en la Amazonía colombiana, por su parte, ha presentado una reducción considerable de casos por *P. vivax* desde el año 2015, sin embargo, los casos al interior del departamento, en corregimientos como Pedrera y Tarapacá, han presentado una transmisión inestable con el aumento y disminución de estos (22). En

contraste, el índice parasitario anual (IPA) del 2019 hacia atrás, indicador que expresa la probabilidad de contraer la enfermedad y denota el riesgo epidemiológico en zonas de transmisión, se ha reportado de alto riesgo epidemiológico (IPA mayor a 10 casos por 1000 habitantes) en estas áreas (7).

4.2 Estratificación del riesgo para malaria

Hasta el 2019 en Colombia, el BES reportaba los IPA para conocer el riesgo epidemiológico en el que se encontraba un área, sin embargo, según el Plan estratégico nacional de malaria 2019-2022 del Ministerio de Salud de Colombia y la OPS, la nueva estratificación del riesgo se enfoca no solamente en los casos observados, sino que tiene en cuenta además, el riesgo de importación del parásito y la receptividad, que es entendida como la habilidad del ecosistema de permitir la transmisión de malaria. Por lo tanto, se definen cuatro estratos diferenciados de la siguiente manera; el estrato uno como no receptivo; el estrato dos, como receptivo, sin casos autóctonos y sin riesgo de importación del parásito, incluyendo focos eliminados, sin casos importados o sin inmigración desde territorios endémicos; estrato tres, como receptivo, sin casos autóctonos, y con riesgo de importación del parásito, incluyendo focos eliminados, con casos importados o con inmigración desde territorios endémicos; y estrato cuatro, como receptivo, con casos autóctonos, incluyendo focos activos y residuales, los cuales son entendidos como zonas propicias para cumplir con el ciclo de vida y mantener la transmisión de la enfermedad, ya sean, activo, donde se han detectado casos autóctonos durante el año calendario en curso, o residuales-no activos, donde el último caso autóctono se detectó en el año calendario anterior o hasta 3 años antes (5).

4.3 La malaria en la Amazonía Colombiana

El departamento del Amazonas tiene una extensión de 109.655 km² y está compuesto por dos municipios, Leticia y Puerto Nariño y 9 corregimientos departamentales, Tarapacá, La Pedrera, Puerto Arica, Puerto Santander, Mirití-Paraná,

El Encanto, La Chorrera, Puerto Alegría, y Victoria (23). Presenta alturas que van desde los 80 metros sobre el nivel medio del mar (msnm) hasta los 320 msnm, con una temperatura promedio que varía entre los 25,3°C y los 25,7°C, y precipitaciones entre los 2.660 mm/año y los 3.538 mm/año (24).

Por sus características geográficas y climáticas, este departamento es un área propicia para el desarrollo de especies de anofelinos, vectores de la malaria, a lo que se suman factores sociodemográficos y económicos de importancia en su transmisión (4). Amazonas reporta anualmente aproximadamente el 2% de los casos totales en el país siendo las especies reportadas *P. vivax* y *P. falciparum* o infecciones mixtas por estas especies.

P. falciparum, se encuentra principalmente distribuido en la región de África subsahariana, la cual aportó cerca del 95% de los casos de malaria en 2020 en los 85 países endémicos; en la región de las Américas su prevalencia se encuentra cerca del 32% (15), mientras que en Colombia se encontró en un 49,4%, siendo los departamentos de Chocó y Nariño los que presentaron mayor reporte de casos en el 2020 con un 31,5% y un 39,7% respectivamente. Amazonas, por su parte, aportó un 0.2% del total de los casos en el país (8). Aun cuando su distribución geográfica no es tan amplia como la de *P. vivax*, *P. falciparum* presenta características particulares que lo convierten en la especie más peligrosa y mortal, su capacidad de infectar glóbulos rojos de cualquier edad le permite presentar parasitemias más elevadas y adicional a esto, tiene la facultad de que los glóbulos rojos que contienen los estadios más maduros del parásito se unen a la pared endotelial provocando alteraciones en el intercambio de oxígeno y nutrientes, pudiendo ocasionar una disfunción orgánica (25). El secuestro, como se conoce a la unión de los glóbulos rojos parasitados al endotelio capilar, tiene lugar durante el desarrollo de trofozoítos maduros y esquizontes y se ha descrito que puede suceder en el sistema capilar del cerebro, pulmón, intestino, corazón, médula ósea y riñón, conllevando a una alteración en diferentes órganos que pueden desencadenar una complicación de la infección (26). *P. falciparum*, cuenta además con un periodo de incubación más corto, de 9 a 12 días y a diferencia de *P. vivax*, no presenta recaídas, dado que no pasa por el estadio de hipnozoíto (27). El tratamiento en la Amazonía Colombiana combina Arteméter de 20 mg más

Lumefantrine de 120 mg en un régimen de 6 dosis repartidas en 0, 8, 24, 36, 48 y 60 horas y primaquina en dosis única al tercer día del tratamiento, teniendo en cuenta el peso y la edad de los pacientes (28).

La distribución geográfica de *P. malariae* se encuentra principalmente en la región de África subsahariana, el sudeste asiático, partes del pacífico occidental, y se ha reportado en la cuenca Amazónica de Sur América, junto con *P. brasilianum*, el cual se ha considerado la misma especie, adaptada a los primates del nuevo mundo (29). En Colombia para el 2020 no se reportaron casos por esta especie, sin embargo, en un estudio realizado por Camargo y colegas (Colombia 2016), en 53 asentamientos a orilla de los ríos Amazonas y Loretoyacu entre Leticia y Puerto Nariño, en la Amazonía Colombiana, se encontró una prevalencia del 43,8%, y en infecciones mixtas la asociación más prevalente se encontró con *P. vivax/P. malariae* en el 28,3% (10). La presentación clínica de la infección por *P. malariae* se caracteriza por presentar fiebres cada cuatro días, o cuaternarias, en la mayoría de los pacientes, adicionalmente, el periodo de incubación suele ser más largo que en las demás especies, siendo 16 días el tiempo más corto registrado. Las parasitemias suelen ser bajas comparadas con *P. vivax* y *P. falciparum*, lo que podría explicarse por la preferencia de la especie a infectar glóbulos rojos más viejos. Aunque no presenta recaídas, los parásitos persisten por largos periodos en el estadio sanguíneo a una muy baja carga parasitaria, lo que ocasiona que se presente la enfermedad hasta varios años después de la infección (29). El esquema de tratamiento para infecciones por *P. malariae* no complicada combina cloroquina, por tres días; y primaquina, por 14 días (30).

4.4 Malaria por *Plasmodium vivax*

La malaria no complicada por *P. vivax*, es una de las enfermedades febriles más frecuentes en zonas tropicales y subtropicales de las regiones de Asia y las Américas (31). El cuadro clínico característico se presenta con picos febriles, sudoración y escalofríos con repetición de los síntomas cada 24, 48 o 72 horas (27); se inicia con un periodo de escalofríos, frio intenso y progresivo seguido de temblor incontrolable con una duración hasta de media hora. Posteriormente, la temperatura asciende hasta

desaparecer el escalofrío y aparece el periodo febril, cuya duración es de más o menos 6 a 8 horas. El periodo febril suele acompañarse de otros síntomas tales como cefalea intensa, mialgias, artralgias, náuseas, vómito y malestar general. La anemia es una condición frecuente en la malaria por la hemólisis directa e indirecta causada por el parásito y por los mecanismos inespecíficos de respuesta inflamatoria o por la misma respuesta inmune. En la malaria complicada por *P. vivax*, la anemia se puede agravar hasta llegar a una anemia grave y pueden aparecer en el curso clínico de la infección, malaria cerebral, lesión hepática o renal grave, síndrome de dificultad respiratoria aguda, trombocitopenia grave, hipoglicemia hasta un cuadro de acidosis con falla multisistémica (28).

4.4.1 Ciclo de vida

En el ser humano, inicia con la picadura del vector, el cual introduce esporozoítos en la sangre, quienes migran al hígado para infectar los hepatocitos y realizar la esquizogonia hepática o tisular (ciclo extra-eritrocitario), en la cual se produce división asexual que se completa por la formación de merozoítos a partir de los esquizontes hepáticos. Adicionalmente, en *P. vivax*, se desarrolla otro estadio llamado hipnozoíto, el cual permanece latente actuando como una reserva del parásito en el organismo, que, al reactivarse, completa su ciclo extra eritrocitario dando continuación al ciclo de vida. La reactivación se puede dar por factores como trauma, embarazo, infecciones por otros *Plasmodium* y otras enfermedades. Los merozoítos son liberados al torrente sanguíneo, donde invaden los glóbulos rojos para producir el ciclo de vida eritrocitario que dará paso a los estadios de trofozoíto inmaduro, trofozoíto maduro, esquizontes y nuevamente merozoitos, los cuales invadirán nuevos eritrocitos. A partir de este merozoito hepático, algunos parásitos se diferenciarán en gametocitos, que serán las formas infectantes para el vector que permitirán continuar el ciclo de vida del parásito (16). Entre las características de esta especie se encuentran, la preferencia de invasión de reticulocitos, lo que se evidencia en parasitemias menores comparadas con *P. falciparum*, la inducción de una respuesta inmune exacerbada, ocasionando síntomas más intensos y el desarrollo de hipnozoítos en el hígado. Estas formas quiescentes del

parásito pueden permanecer en los hepatocitos hasta 24 meses después de la primoinfección y sus patrones de recaída dependen de la región donde se encuentren, siendo más largos los periodos de inactivación en regiones subtropicales (8 - 10 meses) y más cortos en regiones tropicales (3 a 6 semanas) (11), sin embargo, se ha descrito que la reactivación de estas formas está ampliamente relacionada con la cantidad de esporozoitos introducidos al torrente sanguíneo y el estado inmunológico del hospedero (32).

4.4.2 Tratamiento

La cloroquina (4-aminoquinolina), está indicada para el tratamiento de la malaria no complicada por especies de *Plasmodium* como *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*, para lograr la cura clínica; su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la actividad hemo-polimerasa, la cual interfiere en la conversión del hemo y adicionalmente, en la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas del parásito (13). En Colombia no se han reportado casos de resistencia de *P. vivax* al medicamento (respuesta in vitro), no obstante, es pertinente comprender la complejidad de evaluar la resistencia del parásito a los medicamentos, dada la dificultad para mantener cultivos de esta especie (33). Sin embargo, la respuesta al tratamiento se puede evaluar in vivo mediante estudios de eficacia; la proporción de países reportando reducción de la eficacia de la cloroquina ha aumentado considerablemente en los últimos años (34); en Colombia se ha informado una proporción de fallas al tratamiento de *P. vivax* inferiores al 5% (35) (36)

La primaquina y la tafenoquina, 8-aminoquinolinas, son los únicos medicamentos aprobados por la "Food and Drug Administration" (FDA) para eliminar los hipnozoítos y producir la cura radical (37). La primaquina se administra juntamente con la cloroquina, usualmente en dosis de 0,25 mg/Kg/día por 14 días, sin embargo, se puede administrar en dosis de 0,5 mg/Kg/día por 7 días (28). Distintas limitaciones, como la falta de adherencia al tratamiento, fallas terapéuticas, posibles resistencias al medicamento, subdosis terapéuticas y efectos adversos producidos por el uso de este antimalárico, impiden el control de las recaídas, perpetuando el ciclo de transmisión. La tafenoquina

por su parte, es una droga de acción más prolongada, con una vida media de aproximadamente 15 días, la cual, recientemente se ha registrado con la Administración Australiana de Productos Terapéuticos como un tratamiento de dosis única de 300 mg para la curación radical de *P. vivax* (38). El uso de estos dos antimaláricos, se ha asociado a hemólisis masiva en pacientes con deficiencia de G6PD (39). En Amazonas, el esquema de tratamiento de primera línea para infecciones por *P. vivax* no complicada combina cloroquina, esquizonticida sanguíneo, con una dosis total para adultos de 1500 mg, distribuidos en dosis, inicial de 600 mg, 450 mg a las 24 horas y 450 mg a las 48 horas; y primaquina, esquizonticida tisular, con dosis de 30 mg diarios por 7 días (27); sin embargo en Colombia el esquema más empleado es una dosis de 15 mg diarios por 14 días, de acuerdo a la guía de atención del Ministerio de Salud (13). La primaquina está contraindicada en mujeres embarazadas y niños menores de 2 años.

4.5 Respuesta de *P. vivax* a los antimaláricos

Dado que históricamente el antimalárico más usado para estas infecciones ha sido la cloroquina para eliminar los estadios eritrocíticos, es el medicamento más estudiado y sobre el cual se han documentado tanto fallas terapéuticas como resistencia. La resistencia a la cloroquina se define, como la capacidad de la cepa para sobrevivir o multiplicarse a pesar de la administración y absorción de un fármaco, dado en dosis iguales o superiores a las recomendadas habitualmente, pero toleradas por el paciente. La confirmación y caracterización de la resistencia de los parásitos requiere de pruebas in vitro o ex vivo, análisis de marcadores moleculares y determinación de las concentraciones sanguíneas de medicamento (40). La resistencia de *P. vivax* a la cloroquina, se reportó por primera vez en 1989, en Papúa Nueva Guinea, seguido, en años posteriores, por reportes realizados en Indonesia, Brasil, Myanmar, India, Guyana, Colombia, Perú, entre otros (41). Entre los estudios que han evaluado las tasas de fracaso terapéutico con mediciones serológicas del fármaco, se encuentran, Añez y colegas (2015), los cuales reportaron una tasa de 6,5% en un estudio realizado en la región amazónica del norte de Bolivia, con dosis de cloroquina de 25 mg base/kg 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas (42). Así mismo, Marques y colegas (2014),

quienes reportaron una tasa del 5,2% con dosis de cloroquina de 25 mg base/kg 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas (43).

La tolerancia o “resistencia” a la primaquina no ha sido ampliamente estudiada, los estudios que se han publicado no han reportado genes o marcadores de resistencia y por el momento, sólo se ha evidenciado que el citocromo CYP2D6, responsable de metabolizar la droga antimalárica, dependiendo si es metabolizador nulo o reducido, podría estar relacionado con las recaídas en los pacientes con *P. vivax* después del tratamiento con primaquina (44). Cabe resaltar que, con dosis fijas de primaquina, es posible dar dosis insuficientes en pacientes con sobrepeso y confundir la aparición de recaídas con resistencia. Este antimalárico en *P. vivax*, se suministra con el fin de eliminar las formas tisulares, producir la cura radical y evitar las recaídas, sin embargo, puesto que se suministra concomitante con otro antimalárico para tratar las formas circulantes del parásito, los estudios no han evaluado el efecto exclusivo de la primaquina. Adicionalmente, las dificultades para tener cultivos exitosos con reticulocitos, ha impedido hacer evaluaciones de respuesta *in vitro* concluyentes para poder hablar propiamente de resistencia (41) y por tanto muchas publicaciones concluyen sobre de resistencia de *P. vivax* a la cloroquina, siendo más adecuado, en tanto se disponga de métodos *in vitro*, hablar en términos de fallas terapéuticas o disminución de la eficacia. En los casos de falla terapéutica sí puede sospecharse de una disminución de la susceptibilidad o aparición de parásitos resistentes, pero ello requiere estudios complementarios.

En un artículo de revisión realizado por Gonçalves y colegas en Brasil (2014), se llegó a la conclusión de que identificar la resistencia de *P. vivax* a la cloroquina o primaquina es un reto para los investigadores, y aunque se han hecho estudios *in vivo* e *in vitro*, se espera que un futuro cercano se logren comparar los genomas de las cepas resistentes y sensibles para poder ampliar el panorama de resistencia en Latino América (45).

En Colombia, Fernández y colegas (2014), reportaron la susceptibilidad de *P. vivax* a cloroquina, mefloquina, amodiaquina, quinina y artesunato en 30 cultivos de parásitos provenientes de pacientes del Urabá Antioqueño, confirmando que las cepas de esta especie en la región continúan siendo sensibles a estos medicamentos (33).

4.5.1 Respuesta terapéutica

Desde la implementación del uso de la terapia combinada de cloroquina más primaquina para tratar malaria por *P. vivax*, se han venido realizando estudios para determinar la eficacia de diferentes esquemas del tratamiento, dosis y frecuencia de administración con el fin de conocer la tasa de falla de estos antimaláricos y documentar los posibles esquemas que podrían implementarse con fines de producir una cura clínica y radical, y vigilar los efectos adversos. Los estudios de eficacia implican el suministro supervisado de tratamiento y la evaluación de la parasitemia; la eficacia de antimaláricos para malaria vivax puede evaluar dos situaciones: 1) la cura clínica donde se observan las recurrencias debidas a eliminación incompleta de la parasitemia eritrocítica y posiblemente relacionada con resistencia del parásito, generalmente durante un período de 28 o 42 días a partir del día inicial de tratamiento; 2) la cura radical donde se observa la aparición de recaídas, generalmente en períodos superiores a dos meses y los cuales evalúan la eficacia del medicamento dirigido a eliminar los estadios tisulares latentes.

4.5.1.1 Estudios de la tasa de recaídas

Chu y colegas (2018), entre mayo de 2010 y octubre de 2012 incluyeron 644 pacientes con malaria no complicada por *P. vivax* en un estudio de eficacia realizado en Tailandia, en el cual evaluaron las tasas de recurrencias en un año de seguimiento en tres grupos expuestos a tres esquemas de tratamiento, excluyeron pacientes en estado de embarazo, con malaria severa, transfusión sanguínea 3 meses antes, hematocrito menor a 25% y alérgicos a drogas antimaláricas. El primer grupo recibió artesunato 2 mg / kg / día durante 5 días; el segundo, cloroquina 25 mg base / kg durante 3 días y el tercero, cloroquina 25 mg base / kg durante 3 días y primaquina 0,5 mg / kg / día durante 14 días. Las tasas de recurrencia en el día 28 fueron, 50% con artesunato (112/224), 8% con cloroquina (18/222; $P < 0.001$) y 0.5% con cloroquina-primaquina (1/198; $P < 0.001$). La mediana del tiempo hasta la primera recurrencia fue de 28 días

(rango intercuartil [RIC], 21-42) con artesunato, 49 días (RIC, 35-74) con cloroquina y 195 días (RIC, 82-281) con cloroquina-primaquina. La recurrencia en el día 28 se asoció con una reducción media absoluta en el hematocrito del 1% (intervalo de confianza [IC] del 95%, 0.3% –2.0%; $P = .009$). La cura radical con primaquina redujo el total de recurrencias en un 92,4%. Las tasas de recurrencia a un año fueron 4.51 (IC 95%, 4.19–4.85) por persona año con artesunato, 3.45 (IC 95%, 3.18–3.75) con cloroquina ($P = 0.002$) y 0.26 (IC 95%, 0.19 – 0.36) con cloroquina-primaquina ($P < 0.001$). Los efectos adversos reportados incluyeron molestias gastrointestinales y disminución del hematocrito (47).

Taylor y colegas (2019) entre julio 20 de 2014 y noviembre 25 de 2017, incluyeron un total de 2336 pacientes de Afganistán, Etiopía, Indonesia y Vietnam, para evaluar la tasa de incidencia de recurrencias sintomáticas en un periodo de seguimiento de 12 meses, excluyendo mujeres en estado de embarazo y lactando. Se distribuyeron los pacientes en dos grupos, se administró esquizonticida sanguíneo dependiendo del país, cloroquina o dihidroartemisinina-piperaquina, el primero con dosis de primaquina 1,0 mg/Kg/día durante 7 días y el segundo con 0,5 mg/Kg/día durante catorce días. La tasa de incidencia de la malaria por *P. vivax* sintomática recurrente fue de 0.18 (IC 95% 0.15 a 0.21) recurrencias por persona-año para 935 pacientes en el grupo de primaquina de 7 días y 0.16 (0.13 a 0.18) para 937 pacientes en el grupo de primaquina de 14 días. La tasa de incidencia para 464 pacientes en el grupo de placebo fue de 0.96 (IC 95% 0.83 a 1.08) recurrencias por persona año. Entre los eventos adversos más frecuentes, se reportaron eventos gastrointestinales en un 59,7% de los pacientes en el primer grupo y un 54,7% de los pacientes en el segundo grupo. De los eventos adversos graves, el 1% de los pacientes en el primer grupo presentó hemólisis grave y un 0,1% en el segundo grupo, sin embargo, un sólo paciente con deficiencia de G6PD, incluido de manera errónea, necesitó transfusión sanguínea (48).

Abdon y colegas (2001), evaluaron tres esquemas de tratamiento, con seguimiento a 180 días, en 120 pacientes de la región de Belem, Brasil, distribuidos en tres grupos de 40 pacientes cada uno; se excluyeron pacientes embarazadas o que estuviesen lactando. El primero de ellos, con una dosis de cloroquina 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial, 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas y primaquina 0,25 mg/Kg/día durante

catorce días, arrojó un 5% de recaídas; el segundo, con una dosis única de cloroquina de 10 mg / kg, asociada con primaquina, a una dosis de 0,5 mg / kg / día durante siete días consecutivos, con un 0% de recaídas, y un tercer grupo, con cloroquina, en una única dosis de 10 mg / kg, asociada con primaquina, a una dosis de 0,5 mg / kg / día durante cinco días consecutivos, con un 20% de recaídas. Todos los pacientes alcanzaron la cura clínica a las 48 horas y el aclaramiento parasitológico a las 72 horas. Se presentaron efectos adversos gastrointestinales en 11 pacientes del grupo uno y 6 pacientes en los grupos dos y tres respectivamente (49).

Bacon y colegas (2014), evaluaron tres esquemas de tratamiento entre los años 2006 y 2008, con seguimiento a 210 días, en 540 pacientes de la región de Loreto, Perú, distribuidos en tres grupos de 180 pacientes cada uno; se excluyeron pacientes con deficiencia de G6PD. Los tres brazos del estudio se evaluaron con una dosis de cloroquina 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas, mientras que la primaquina, fue evaluada a dosis de 0,25 mg/Kg/día durante catorce días, 0,5 mg/Kg/día durante cinco y siete días respectivamente. Los autores consideraron como recaídas las recurrencias después de 35 días de seguimiento. Se realizó genotipificación para diferenciar recaída de reinfección, el día de captación de los pacientes y el día en que reingresaron para conocer si la parasitemia había sido causada por la misma cepa o por una diferente. Las tasas de recaída fueron similares en los regímenes de 7 y 14 días ($16/156 = 10.3\%$ y $22/162 = 13.6\%$, $P = 0.361$) y más altas en el grupo de 5 días ($48/169 = 28.4\%$, $P < 0.001$ y $P = 0.001$, respectivamente). No hubo eventos adversos significativos con ninguna de las dosis (50).

Zuluaga y colegas (2016), evaluaron en un estudio longitudinal, la incidencia de recurrencias a 180 días, en 87 pacientes de Turbo Antioquia, Colombia, con edad mayor a 4 años y monoinfección con *P. vivax*, un esquema de cloroquina de 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas y primaquina (ajustada por peso) a dosis de 0,25 mg/Kg/día durante catorce días. El estudio reportó a día 28 de seguimiento un 100% de negatividad y a 180 días, una incidencia de recurrencias de 24,1%; de acuerdo con los resultados genéticos, un 65,5% de las recurrencias fueron catalogadas como recaídas al encontrarse el mismo haplotipo en el día de recaída y el día de inclusión (36)

Carmona y colegas (2009), evaluaron cuatro esquemas de tratamiento para malaria no complicada por *P. vivax*, en las regiones de Turbo y el Bagre, Antioquia, Colombia. Se realizó seguimiento a 120 días, con exclusión de pacientes con otras enfermedades infecciosas, mujeres en estado de embarazo, pacientes con malaria grave, o con un reporte de malaria de 2 semanas anteriores al estudio. Se distribuyeron, de manera aleatoria, 188 pacientes en cuatro grupos, la administración de cloroquina fue la misma para todos los grupos con una dosis de 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas. El primer grupo, con 68 participantes, recibió dosis de primaquina de 3,5 mg / kg administrados durante 14 días (es decir, 0,25 mg / kg al día durante 14 días); el grupo dos, con 65 participantes, recibió el equivalente de la dosis total estándar de 3.5 mg / kg, administrada durante 3 días (es decir, 1.17 mg / kg por día durante 3 días); el grupo tres, con 28 pacientes, recibió 2.5 mg / kg, dosis más baja que la dosis estándar total, administrada durante 3 días (es decir, 0.83 mg / kg por día durante 3 días); y, el grupo 4 con 27 pacientes, recibió 1.75 mg / kg, inferior a la dosis total estándar, administrada durante 3 días (es decir, 0.58 mg / kg por día durante 3 días). Los resultados arrojaron un porcentaje de recurrencias para el grupo uno de 15%, para el grupo dos, de 57% y para los tres y cuatro, un porcentaje mayor al 48%. No se reportaron eventos adversos (51)

4.5.1.2 Estudios de la tasa de recurrencias

Carmona y colegas (2006), evaluaron tres esquemas de tratamiento entre 2003 y 2004 en las regiones de Turbo y el Bagre, Antioquia, Colombia. Se realizó seguimiento a 28 días en 210 pacientes para evaluar la respuesta terapéutica antimalárica. Se excluyeron pacientes en estado de embarazo. A todos los grupos se les administró dosis de cloroquina 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas y la administración de primaquina se dividió, en el primer grupo, con una dosis de 45 mg totales por 3 días, en el segundo, con una dosis de 105 mg totales por 7 días y en el tercero con una dosis de 210 mg totales en 14 días. Los autores consideraron falla terapéutica con parasitemia a los 28 días después del inicio de los síntomas, sin embargo, ninguno de los pacientes evaluados presentó falla terapéutica con ninguna de

las tres dosis administradas. Los eventos adversos presentados, no fueron catalogados como graves, la mayoría correspondieron a síntomas clásicos del paludismo, como mareos, náuseas, sudoración, fiebre, entre otros, adicionalmente, se presentó un mayor porcentaje de eventos adversos en los tratamientos con más duración, 16% con 3 días, 32% con 7 días y 51% con 14 días (52).

Osorio y colegas (2007), evaluaron la eficacia de tres monoterapias con amodiaquina y sulfodaxina/pirimetamina en *P. falciparum*, y cloroquina en *P. vivax*, en Tarapacá, Amazonas, reportando un 100% de fracaso terapéutico en pacientes con *P. falciparum* y tratamiento con amodiaquina y un 10% en pacientes con *P. vivax* y tratamiento con cloroquina, sugiriendo una respuesta adecuada al antimalárico (53)

Carmona y colegas (2008), evaluaron la eficacia terapéutica de la cloroquina en 82 niños con edades entre 4 y 10 años de Turbo y el Bagre, Antioquia, con seguimiento a 28-30 días. Se administró tratamiento supervisado de cloroquina 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas y primaquina a dosis de 0,25 mg/Kg/día durante catorce días no supervisada. Se reportó un 2,6% de fallas tardías en 78 niños con seguimiento completo (54)

Mesa y colegas (2019), evaluaron la eficacia terapéutica y seguridad del tratamiento combinado con cloroquina 25 mg base/kg, 10 mg/kg inicial 7.5 mg/kg a las 24 y 48 horas y primaquina 0,25 mg/Kg/día durante catorce días a 28 días de seguimiento, en 77 pacientes con edades entre 5 y 65 años de Quibdó y Tadó, en el departamento de Chocó, reportando una tasa de respuesta clínica y parasitológica adecuada en 72 de 73 pacientes (98,6%) por microscopía, que completaron el seguimiento a 28 días y dos fracasos parasitológicos tardíos (2,9%) en 68 pacientes evaluados por PCR, no se reportaron eventos adversos (35)

De los estudios realizados sobre la eficacia de la primaquina administrada en dosis de 0.5 mg/Kg/día, en 7 días o incluso el doble de la dosis, en términos de cura radical y clínica, la mayoría han reportado porcentajes de recaídas o recurrencias muy similares a las encontradas en el esquema de 0,25 mg/Kg/día o 0.5 mg/Kg/día en 14 días. Dos de los estudios discutidos anteriormente, realizaron pruebas de genotipificación para diferenciar recaídas de reinfecciones (49) (36). De los eventos adversos reportados, sólo un artículo presentó eventos adversos severos con

necesidad de transfusión sanguínea en un paciente deficiente de G6PD, incluido por error. De los estudios realizados en Colombia, Bacon y colegas (2014) no encontraron diferencias significativas entre los esquemas evaluados y fallas terapéuticas a los antimaláricos, mientras que el estudio de Carmona y colegas (2006), obtuvieron menor porcentaje de recurrencias en los pacientes tratados con la dosis estándar de 0,25 mg/Kg/día durante 14 días. Por último, se encontraron diferencias en la respuesta terapéutica dependiendo el esquema empelado. A pesar de que se han realizado ensayos clínicos controlados para evaluar la eficacia de estos antimaláricos, se hace necesario, seguir llevando a cabo estudios para conocer la efectividad del tratamiento en otras regiones, incluida, la Amazonía colombiana.

4.5.2 Efectividad terapéutica

Se entiende por efectividad la obtención de datos, pruebas, procedimientos, que sólo pueden evaluarse en la práctica clínica real y diaria (55). En el ámbito de la malaria por *P. vivax*, los estudios se han realizado sobre la base de administración de los antimaláricos, de manera no supervisada o como se dan en la práctica diaria, especialmente para evaluar las tasas de recaídas

Cheoyman y colegas (2015), evaluaron la efectividad y la adherencia de los pacientes y la efectividad clínica en un régimen de 14 días de primaquina (0,25 mg/Kg/día o 0.5 mg/Kg/día) asociado a administración de cloroquina durante los primeros tres días (25 mg base/kg), El estudio se realizó en 85 pacientes con malaria por *P. vivax* a lo largo de la frontera entre Tailandia y Myanmar. Los resultados sugirieron una alta tasa de adherencia de los pacientes a este régimen de primaquina de 14 días (95-98% según las concentraciones de primaquina en DBS en los días 3, 7 y 14 de tratamiento, y 100% según el autoinforme y el recuento de medicamento de los pacientes, mientras que la efectividad clínica fue del 100% durante el seguimiento de 42 días (56).

Poespoprodjo y colegas (2021), Entre el 14 de septiembre de 2016 y el 31 de julio de 2018, evaluaron la eficacia y seguridad de la cura radical de primaquina supervisada por 14 días versus la efectividad del antimalárico no supervisado en

pacientes que presentaba malaria no complicada en Papúa, Indonesia. Incluyeron 419 pacientes en total; 223 (53%) pacientes en 11 grupos fueron asignados al tratamiento con primaquina supervisada y 196 (47%) en diez grupos al tratamiento con primaquina sin supervisión. 161 (72%) de los 223 pacientes en el grupo supervisado y 151 (77%) de 196 en el grupo no supervisado completaron 6 meses de seguimiento. A los 6 meses, el riesgo de incidencia de recurrencia de *P. vivax* en el grupo supervisado fue de 29,7% (IC del 95%: 16,4-49,9) versus 55,8% (32,3-81,8%) en el grupo sin supervisión. (índice de riesgo 0 · 23 [95% CI 0 · 07-0 · 76]; $p = 0 · 016$). La tasa de incidencia de recurrencia de *P. vivax* fue de 539 (IC 95% 390-747) infecciones por 1000 personas-año en el grupo supervisado versus 859 (673-1096) en el grupo no supervisado (índice de tasa de incidencia 0,63 [IC 95% 0 · 42-0 · 94]; $p = 0 · 025$). Informaron siete eventos adversos graves (tres en el grupo supervisado, cuatro en el grupo no supervisado), ninguno de los cuales se consideró relacionado con el tratamiento y no hubo muertes (57).

Douglas y colegas (2017), evaluaron los datos de vigilancia hospitalaria recopilados de forma rutinaria en el sur de Papúa, para comparar el riesgo de regreso al hospital con paludismo por *vivax* en pacientes a los que se les prescribió dihidroartemisinina-piperaquina (DHP) combinada con primaquina frente a los pacientes a los que se les prescribió solo DHP. Entre abril de 2004 y diciembre de 2013, se incluyeron en el análisis 62,492 (72.0%) registros, y se encontró que el riesgo de recurrencia con paludismo *vivax* dentro de 1 año fue 33,8% (intervalo de confianza [IC] del 95% 33,1% -34,5%) después de la mono infección inicial con *P. vivax* y fue mayor en los niños de 1 a <5 años (49,6% [IC del 95%: 48,4% -50,9%]) en comparación con los pacientes de 15 años o más (24,2% [95%]). % CI 23,4-24,9%). En general, el riesgo de recurrencia fue del 37,2% (IC del 95%: 35,6% -38,8%) en los pacientes a los que no se les prescribió primaquina en comparación con el 31,6% (IC del 95%: 30,9% -32,3%) en los pacientes a los que se les prescribió una dosis baja ($\geq 1,5$ mg / kg y <5 mg / kg) o dosis alta (≥ 5 mg / kg) de primaquina (AHR = 0,90 [IC 95% 0,86-0,95, $p < 0,001$]), lo que concluyó que dosis no supervisadas de primaquina se asociaron con una reducción mínima del riesgo de recurrencia clínica (58).

De los estudios descritos anteriormente, en los que se puede observar la efectividad del tratamiento, la mayoría reportó una reducción en la tasa de recurrencias cuando se administra la primaquina, y en uno de estos, se demostró la eficacia cuando se administra tratamiento supervisado versus cuando no, sin embargo, si los pacientes se adhieren al tratamiento, la efectividad del antimalárico no se ve reducido y puede ayudar a prevenir recurrencias a tasas altas.

4.6 Métodos diagnósticos para malaria

La malaria, como se ha mencionado anteriormente, es una enfermedad cuya mortalidad es prevenible cuando hay un diagnóstico temprano y tratamiento oportuno (17). La detección precisa del género y especie parasitaria es fundamental para un tratamiento adecuado de la enfermedad y permite en muchos casos evitar la progresión hacia manifestaciones graves en el paciente. Además, un tratamiento conforme a la especie de Plasmodium en conjunto con una dosificación correcta puede prevenir la resistencia a los medicamentos por parte del parásito (59).

4.6.1 Microscopía

La principal herramienta el diagnóstico de malaria es la gota gruesa, técnica microscópica muy económica y de fácil acceso que permite la visualización directa de los parásitos en la sangre de los pacientes y en la que además es posible calcular la densidad parasitaria y diferenciación de las especies responsables de la enfermedad (60). Es también una técnica muy usada en investigación básica para realizar estudios de eficacia terapéutica a antimaláricos ya que permite identificar la cinética de eliminación parasitaria (61). Actualmente la gota gruesa teñida con Giemsa es considerada como la prueba de oro para el diagnóstico de la malaria. Además, la OMS recomienda acompañar la gota gruesa con un extendido de sangre, ya que este permite visualizar cambios morfológicos en el parásito al interior del eritrocito y en el eritrocito mismo, lo cual puede servir de guía para el diagnóstico definitivo de especie (61)

El límite de detección de la gota gruesa puede variar según la experiencia y grado de experticia del microscopista. De esta manera quienes tienen una mayor experticia tienen un umbral de detección que varía entre 10 y 20 parásitos/ μ l, mientras que en el personal menos experto podría hacer un diagnóstico cuando la parasitemia se encuentra por encima de 100 parásitos/ μ l (62).

En la Amazonía Colombiana es el método standard para el diagnóstico y se realiza por medio de gota gruesa, coloreada con tinción de Field; sin extendido de sangre periférica

4.6.2 Pruebas de diagnóstico rápido

Además de la microscopía, existen también pruebas de diagnóstico rápido en las que se hace la identificación de antígenos parasitarios. En Colombia, el 98% de los puestos de diagnóstico emplean la microscopía, y los restantes hacen uso de las pruebas de diagnóstico rápido (60). Estas pruebas son utilizadas en áreas remotas con acceso limitado a la microscopía. Una de sus principales ventajas es su accesibilidad económica y dada su facilidad de uso no requiere de personal altamente calificado (63). Muchas de las pruebas disponibles se enfocan en la detección de la proteína rica en histidina 2 (HRP-2) y pueden presentar la desventaja de no poder usarse para confirmar la presencia del parásito después del tratamiento, ya que la proteína puede persistir en sangre una vez desaparecida la parasitemia, esto puede llevar a falsos positivos (63).

La sensibilidad y especificidad puede variar dependiendo del kit comercial utilizado, pero en general tienen mejor rendimiento para el diagnóstico de *P. falciparum* que para *P. vivax*, pues se ha encontrado una sensibilidad con bajas parasitemias (hasta 200 parásitos/ul) de 92.7% y 58.6%, respectivamente. Sin embargo, la sensibilidad puede aumentar a un 90% en parasitemias de más de 200 parásitos/ul. (64). En estudios recientes que comparan la prueba de diagnóstico rápido con respecto a la PCR, se ha encontrado una sensibilidad de entre 71 y 78% y una especificidad de 80 a 90% para el diagnóstico de ambas especies (65).

A pesar de que tanto el uso de la microscopía como las pruebas rápidas son útiles para el diagnóstico, muchas de las personas con malaria pueden tener

parasitarias muy bajas que no pueden ser detectadas a través de estas herramientas (66).

4.6.3 Métodos moleculares de diagnóstico

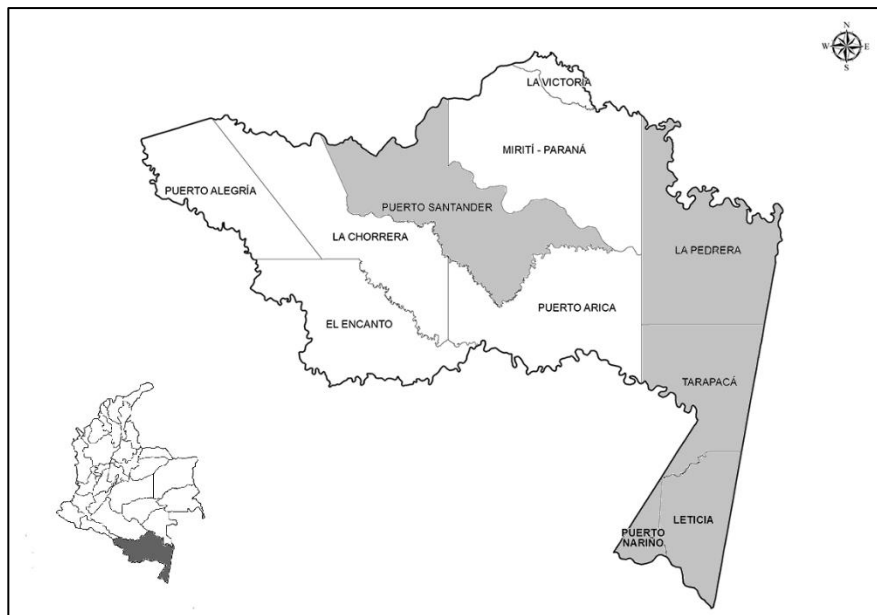
En la actualidad existen técnicas basadas en la detección del material genético del parásito, tales como PCR anidad, PCR en tiempo real y métodos isotérmicos como el LAMP que se presentan como una alternativa para superar las dificultades diagnósticas cuando hay bajas cargas parasitarias (67). En la Amazonía Colombiana no se hace uso de estas técnicas para diagnóstico de la malaria en el departamento.

5. Metodología

5.1 Sitios de estudio

El estudio se realizó en el departamento del Amazonas, específicamente en las áreas no municipalizadas de La Pedrera ($1^{\circ}19'02''\text{S}$ $69^{\circ}35'12''\text{W}$), Puerto Santander ($0^{\circ}37'18''\text{S}$ $72^{\circ}23'07''\text{W}$), Tarapacá ($2^{\circ}53'31''\text{S}$ $69^{\circ}44'36''\text{W}$), y los municipios de Puerto Nariño ($3^{\circ}46'47''\text{S}$ $70^{\circ}21'44''\text{W}$) y Leticia ($4^{\circ}12'31''\text{S}$ $69^{\circ}56'33''\text{W}$). Estos lugares fueron seleccionados debido al comportamiento de la malaria en la región, por ser los lugares con más reportes de casos en el departamento. Los corregimientos se encuentran a una altura de 119msnm, 172msnm, 54msnm, 96 y 80 msnm respectivamente

Figura 1. Mapa de Amazonas y sitios de estudio



5.2 Frecuencia de infecciones por *Plasmodium vivax*

Materiales y métodos

Sitio y tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo transversal descriptivo en 5 lugares de la Amazonía Colombiana, área no municipalizada de La Pedrera (1°19'02"S 69°35'12"W), Tarapacá (2°53'31"S 69°44'36"W), Puerto Santander (0°37'18"S 72°23'07"W), municipio de Puerto Nariño (3°46'47"S 70°21'44"W) y Leticia (4°12'31"S 69°56'33"W). El muestreo se realizó entre agosto y diciembre de 2021 y marzo y julio de 2022.

Tamaño de la Muestra:

Con base en las estadísticas de gotas gruesas positivas de los años 2019 y 2020, proporcionadas por la Secretaría de Salud Departamental del Amazonas de cada lugar, se calculó la muestra con una frecuencia esperada del 90% de *Plasmodium vivax*, una confiabilidad del 95% y un error del 5% para una muestra total de 450² pacientes de todas las zonas de estudio.

Tabla 1. Casos de malaria diagnosticados por localidad en 2019 y 2020

Años	Lugar de estudio		
	Puerto Nariño	Tarapacá	La Pedrera
2019	58	382	761
2020	16	599	302

Procedimientos:

Captación de pacientes

Pacientes con tiempo de residencia mayor o igual a 6 meses en los lugares de estudio fueron invitados a participar en un estudio de carácter descriptivo que tenía por objetivo estimar la frecuencia de infecciones por *P. vivax* en 5 lugares del departamento de Amazonas. Antes de iniciar con la inclusión de pacientes se explicó el estudio y se conversó con las autoridades indígenas para obtener consentimiento y autorización para poder trabajar en las comunidades, a su vez, se obtuvo la autorización por parte

² Se aumentó el tamaño de la muestra a conveniencia en 100 pacientes adicionales, dado que no se pudieron obtener las estadísticas del municipio de Leticia y el área no municipalizada de Puerto Santander.

de las entidades departamentales de salud y Hospital San Rafael de Leticia para la realización de trabajo de laboratorio en las instalaciones de los centros de salud y hospitales de los sitios de estudio. Los pacientes fueron captados por personal del estudio en los cascos urbanos de las áreas no municipalizadas o en los municipios.

Inclusión de pacientes

Se incluyeron pacientes con edades entre 5 y 75 años, con temperatura axilar igual o mayor a 37,5 °C o sintomatología sugestiva de malaria (escalofríos, cefalea, sudoración, fiebre subjetiva, entre otros) en las últimas 72 horas y que hubiesen dado su asentimiento o consentimiento por escrito para la participación en el estudio, se excluyeron pacientes que se encontraran recibiendo tratamiento antimalárico. A todos los pacientes se les preguntó por asentimiento y/o consentimiento para el uso de las muestras en estudios futuros.

Aplicación de cuestionario

A todos los pacientes que participaron voluntariamente en el estudio, se les aplicó un cuestionario con preguntas de carácter sociodemográficas (edad, sexo, autorreconocimiento, ocupación, lugar de residencia), de vivienda, antecedentes de malaria y sintomatología al momento de la inclusión. Cada participante fue codificado de acuerdo con el sitio de estudio.

Toma de muestras

Mediante punción capilar dactilar y con adecuadas normas de bioseguridad, se tomaron 4 gotas de sangre (aproximadamente 200µL) para diagnóstico microscópico o prueba de diagnóstico rápido y muestra en papel Whatman para confirmación y estudios moleculares de los parásitos. Las muestras en papel filtro fueron conservadas a temperatura ambiente en los sitios de estudio y fueron enviadas al finalizar el estudio

para procesamiento por PCR anidada en el Grupo Malaria de la Universidad de Antioquia.

Diagnóstico microscópico y prueba de diagnóstico rápido

Se realizó examen de gota gruesa para diagnóstico microscópico y en los lugares en los que no se contara con diagnóstico microscópico, se realizó una prueba rápida para diagnóstico de malaria de SD BioLine, para la observación de los parásitos contenidos en la lámina se realizó tinción con Field y se hizo el conteo parasitario con base en campos óptimos (10-15 leucocitos por campo) contando los parásitos en 200 leucocitos. En los casos que se hubiesen contado los 200 leucocitos y se hayan observado menos de 10 parásitos, el conteo se elevó a 500 leucocitos.

Se utilizó la fórmula

$$\frac{\# \text{ parásitos} \times 8000}{200 \text{ leucocitos}} = X \text{ formas parasitarias}/\mu\text{L}$$

En caso de no observar formas parasitarias en la lámina, el resultado se reportó como negativo después de evaluar 200 campos en objetivo de 100X.

Las láminas con gota gruesa o la prueba rápida se analizaron el día de inclusión y se entregaron resultados a los pacientes, aquellos pacientes positivos fueron remitidos a los centros de salud de los corregimientos o fueron tratados por los promotores de salud.

Diagnóstico molecular:

Se realizó diagnóstico molecular para confirmación a todos los pacientes incluidos en el estudio por PCR anidada.

Extracción de ADN

Se cortó el papel de filtro impregnado de sangre y se dispuso en tubos eppendorf de 1,5 mL, se agregó 1 mL de saponina al 0,5% a cada tubo, se realizó vórtex y se guardó en refrigeración a 4°C durante toda la noche, al día siguiente se centrifugaron

los tubos a 12000 rpm por 5 minutos, se descartó el sobrenadante y se realizaron 3 lavados con PBS, luego de descartar el último sobrenadante, se agregaron 150 µL de Chelex 100 al 5% a los tubos y se incubaron a 56°C por 15 minutos en baño María seco, se realizó vórtex, antes, durante y después de la incubación. Pasado los 15 minutos, se incubaron a 100°C por 10 minutos y se centrifugaron a 13000 rpm por 15 min. Se transfirió el sobrenadante a tubos nuevos, se centrifugaron a 13000 rpm por 5 min y finalmente se dispuso el sobrenadante en nuevos tubos para conservar las extracciones a -20°C.

PCR anidada para diagnóstico de Plasmodium spp. y especie

Se realizó una PCR anidada basada en el protocolo descrito por Singh y colegas (1999) (19) para la identificación de la subunidad 18s rRNA de *Plasmodium sp.* Se utilizaron primers rPLU1 5'-TCAAAGATTAAGCCATGCAAGTGA-3', rPLU5 5'-CCTGTTGTTGCCTTAAACTCC-3', rPLU3 5'-TTTTTATAAGGATAACTACGGAAAAGCTGT-3'y rPLU4 5'-TACCCGTCATAGCCATGTTAGGCCAATACC-3' para amplificación específica de género.

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para PLU1-PLU5 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del Ácido desoxirribonucleico (ADN) y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 55 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para PLU3-PLU4 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del ADN y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 62 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

PCR anidada para diagnóstico de especie

Con base en los resultados obtenidos en la PCR anterior, se realizó la PCR para el diagnóstico de especie, en el cual se utilizaron primers específicos para cada una de las principales especies de *Plasmodium spp.* rVIV1 5'-

CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC-3' y rVIV2 5'-
 ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAGTCCTTA-3' (*Plasmodium vivax*), rFAL1 5'-
 TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATATT-3' y rFAL2 5'-
 ACACAATGAACTCAATCATGACTACCCGTC-3' (*Plasmodium falciparum*), y rMAL1 5'-
 ATAACATAGTTGTACGTTAAGAATAACCGG-3' y rMAL2 5'-
 AAAATTCCCATGCATAAAAAATTATACAAA-3' (*Plasmodium malariae*).

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para VIV1-VIV2; FAL1-FAL2 y MAL1-MAL2 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del ADN y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 55 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

Electroforesis en gel de agarosa

Para la identificación de los fragmentos de ADN tanto de género como de especie, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2% donde fueron dispuestas las muestras, los controles y el marcador de peso molecular por 45 minutos para finalmente hacer revelación del gel por medio del equipo E-Gel imager de Life Technologist.

Tabla 2. Primers y tamaño en pares de bases de que cada fragmento

Primers	Tamaño (pares de bases) ³
rPLU1 – rPLU5	1640
rPLU3 – rPLU4	240
rVIV1 – rVIV2	117
rFAL1 – rFAL2	205
rMAL1 – rMAL2	144

Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo de los casos de infección por *P. vivax* según el lugar de estudio y con respecto a las variables sociodemográficas, de vivienda,

³ Con base en el protocolo de Singh y colegas (19)

antecedentes de malaria y sintomatología, proporción de *Plasmodium vivax* definidos por sexo, edad, ocupación y antecedentes de malaria. Para las variables de índole cuantitativo sin distribución normal (prueba de Shapiro-Wilk) se estimaron medianas y rangos intercuartílicos, y para las variables de índole cualitativo, se estimaron frecuencias relativas y absolutas. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron por medio de R para Windows, versión 4.0.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

5.3 Respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por *Plasmodium vivax*

Materiales y métodos

Tipo y sitio de estudio

Se realizó un ensayo clínico cuasiexperimental, no ciego, con 2 brazos de tratamiento en 3 lugares de la Amazonía Colombiana, área no municipalizada de La Pedrera (1°19'02"S 69°35'12"W), Tarapacá (2°53'31"S 69°44'36"W) y municipio de Puerto Nariño (3°46'47"S 70°21'44"W). La inclusión y seguimiento de pacientes se realizó entre diciembre de 2020 y julio de 2022.

Diseño

Ensayo clínico cuasi experimental, sin cegamiento, con base en el protocolo “*Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy*” de la Organización Mundial de la Salud del año 2009 (68)

Captación de pacientes: Previo a la captación de pacientes, se obtuvo consentimiento verbal y escrito por parte de las autoridades indígenas y de las entidades de salud del departamento para la realización del estudio. Los pacientes febriles con sintomatología de malaria (cefalea, escalofrío y sudoración, con repetición de los síntomas cada 24, 48 o 72 horas), que accedieron a los servicios de salud de los sitios de estudio, fueron

examinados por el personal del centro médico o promotores de salud, y fueron diagnosticados mediante microscopía con tinción de field o prueba rápida. Todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión fueron invitados a participar en el estudio por parte del personal de apoyo del proyecto.

Criterios de Inclusión

- Edad entre 18 y 65 años
- Mono infección con *P. vivax* detectada en microscopía
- Parasitemia entre 250-50,000 / μ l de formas asexuales
- Presencia de temperatura axilar mayor o igual a 37,5 °C
- Capacidad de pasar medicamentos administrados por vía oral

Criterios de exclusión:

- Mujeres con prueba de embarazo positiva o que estuvieran amamantando⁴
- Infección mixta o mono infección con otras especies de *Plasmodium* detectadas en microscopía (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*).
- Presencia de afecciones febriles debidas a otras enfermedades distintas del paludismo (Dengue, Covid-19, fiebre no especificada)
- Antecedentes de reacciones de hipersensibilidad o contraindicaciones a cualquiera de los fármacos
- Haber consumido medicamentos antimaláricos o infusiones de plantas usadas para tratar la malaria durante las 4 semanas previas a la inclusión.

Asignación a grupos de tratamiento

⁴ Se excluyeron mujeres en estado de embarazo confirmado por laboratorio en los sitios de estudio o que estuvieran amamantando, debido a que la administración de primaquina está contraindicada

Se distribuyeron los pacientes de manera no aleatoria por parte del personal del estudio, en alguno de los 2 esquemas de tratamiento con cloroquina más primaquina, para equiparar los grupos de tratamiento por 7 o 14 días de primaquina (14 días = 0,25 mg/Kg/día o 7 días = 0,5 mg/Kg/día), adicionalmente, en función de la disponibilidad para presentarse a recibir tratamiento, dada la barrera geográfica para regresar, algunos pacientes recibieron tratamiento de manera supervisada y otro no. Los tratamientos suministrados están aprobados por la Guía Técnica de atención de la malaria en Colombia (guía 2011) y fueron proporcionados por la Secretaría de Salud departamental de Amazonas para tratar la malaria por *P. vivax* no complicada.

Procedimientos

Aplicación de cuestionario

A todos los pacientes que participaron voluntariamente en el estudio, se les aplicó una encuesta epidemiológica con preguntas de carácter sociodemográfico (edad, sexo, autorreconocimiento de pertenencia a grupo étnico, lugar de residencia), antecedentes de malaria y sintomatología al momento de la inclusión. Cada participante fue codificado de acuerdo con el sitio de estudio.

Información clínica

Se indagó por presencia de signos y síntomas al inicio y durante el seguimiento; para aquellos que recibieron tratamiento supervisado, se hizo en los días 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28 y para los pacientes con tratamiento no supervisado se realizó en los días 3 y 28 de seguimiento. La medición de la temperatura axilar se tomó en los días 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28 en pacientes con tratamiento supervisado y en los días 3 y 28 en pacientes con tratamiento no supervisado.

Toma de muestra

A todos los pacientes se les tomó muestra de sangre por punción digital y se confirmó in situ el diagnóstico inicial el día de inclusión, por lo tanto, se tomaron cuatro gotas de sangre en láminas, las cuales se examinaron los días 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28 en los pacientes con tratamiento supervisado y en el día 0, 3 y 28 en los pacientes con tratamiento no supervisado. Los especímenes se etiquetaron de forma anónima (número de paciente o número de estudio, día de seguimiento, fecha). Se obtuvieron dos exámenes de sangre por paciente cada día para diagnóstico por microscopía: un frotis grueso de sangre y un frotis combinado con extendido más gota gruesa. Adicionalmente se impregnaron con sangre 4 círculos de papel Whatman para diagnóstico molecular en el día de inclusión, y dos círculos más el día 28 para todos los pacientes.

Hemoglobina

A todos los pacientes se les tomó una gota de sangre adicional para medir la hemoglobina en el día 0 y día 28 de seguimiento.

Diagnóstico microscópico y prueba de diagnóstico rápido

Se realizó examen de gota gruesa para diagnóstico microscópico y en los lugares en los que no se contara con diagnóstico microscópico, se realizó una prueba rápida para diagnóstico de malaria de SD BioLine, para la observación de los parásitos contenidos en las láminas se realizó tinción con Giemsa al 4% y se hizo el conteo parasitario con base en campos óptimos (10-15 leucocitos por campo) contando los parásitos en 200 leucocitos. En los casos que se hubiesen contado los 200 leucocitos y se hayan observado menos de 10 parásitos, el conteo se elevó a 500 leucocitos.

Se utilizó la fórmula

$$\frac{\# \text{ parásitos } \times 8000}{200 \text{ leucocitos}} = X \text{ formas parasitarias}/\mu\text{L}$$

En caso de no observar formas parasitarias en la lámina, el resultado se reportó como negativo después de evaluar 200 campos en objetivo de 100X.

A todas las láminas del estudio se les realizó una segunda lectura por parte de un bacteriólogo experimentado parte del estudio, al finalizar el estudio; en los casos en que el porcentaje de discordancia entre la primera y la segunda sobrepasara el 20%, una tercera lectura de la lámina fue realizada por un profesional experto no relacionado con el estudio. En estos casos, se dejó la lectura que más se acercara a la lectura inicial.

Tratamiento:

Las dosis de CQ se administraron una vez al día durante 3 días; dosis total de 25 mg/kg (10 mg el primer día y 7,5 mg los dos días siguientes). La primaquina se administró en el primer grupo, durante 7 días (0,5 mg/kg una vez al día) a partir del día 0 y en el segundo, durante 14 días (0,25 mg/Kg/día) a partir del día 0. Los pacientes del grupo de tratamiento supervisado se observaron durante 30 minutos después de la administración de los medicamentos para confirmar que no hubiese reacciones adversas o vómito. Todos los tratamientos se administraron con base en la Guía para la atención clínica integral del paciente con malaria 2011 (28)

Seguimiento

Los pacientes con tratamiento supervisado fueron seguidos los días 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28, los pacientes con tratamiento no supervisado se les alentó a regresar a los puestos de salud todos los días de seguimiento, siendo mandatorio regresar el día 3 y día 28.

Tratamientos concomitantes y medicamentos prohibidos

Se recomendó el tratamiento de la fiebre por encima de 38°C con acetaminofén. Si durante el seguimiento, infecciones distintas del paludismo requerían la administración de medicamentos con actividad antipalúdica, el paciente sería retirado

del estudio. No se excluyeron pacientes a los que se administró antibióticos de uso ocular.

Se les advirtió a los pacientes el no uso de medicamentos botánicos durante el periodo del estudio y se les animó a regresar a consulta con el médico si se sentían indispuestos o enfermos.

Pérdidas durante el seguimiento

Las pérdidas durante el seguimiento ocurrieron cuando, a pesar de todos los esfuerzos, un paciente incluido en el estudio no asistió a las consultas programadas y no pudo ser encontrado. Los pacientes que no asistieron durante el seguimiento los días 7, 14 o 21 pero que regresaron al día 28 no fueron excluidos, a excepción de aquellos que estaban recibiendo esquema supervisado y debían asistir a la toma del medicamento el día 7 y/o 14.

Retiro de pacientes o violación de protocolo

Se consideraron como criterios de retiro para pacientes incluidos en el estudio el haber cumplido alguno de los siguientes criterios:

- Retiro del consentimiento por parte del paciente
- No completar las evaluaciones los días 1, 2, 3, 7, 14 y 28 para el grupo de pacientes supervisados y los días 3 y 28 para el grupo de pacientes no supervisados
- Episodios adversos graves
- Desarrollo de malaria grave dentro de las 24 horas de iniciado el tratamiento.

Violación de las condiciones de inclusión:

- Por error se incluyó a un paciente que no cumplía con los criterios de inclusión;
- Violación voluntaria de los protocolos: autoadministración o administración por terceros de un medicamento antimalárico (o antibióticos con actividad antimalárica)

- Violación involuntaria de los protocolos:
 - aparición durante el seguimiento de enfermedades concomitantes que dificultarían la clasificación del resultado del tratamiento;
 - detección de mono infección con otra especie de *Plasmodium* durante el seguimiento;

Criterios de evaluación

El criterio de evaluación del estudio fue la clasificación asignada cuando un paciente completó el seguimiento a 28 días. Los criterios válidos de evaluación del estudio incluyeron: el fracaso terapéutico, la finalización del período de seguimiento sin fracaso terapéutico (respuesta clínica y parasitológica adecuada), las pérdidas durante el seguimiento y el retiro del estudio, incluida la violación de protocolos.

Evaluación de la respuesta al tratamiento y la seguridad

Clasificación de los resultados del tratamiento

Los resultados del tratamiento se clasificaron tomando como base la evaluación de los resultados parasitológicos y clínicos del tratamiento antimalárico, de conformidad con la última directriz de la OMS (68). Por lo tanto, todos los pacientes se clasificaron en una de las siguientes categorías: fracaso temprano del tratamiento, fracaso clínico tardío, fracaso parasitológico tardío o respuesta clínica y parasitológica adecuada.

Fracaso temprano del tratamiento

- Signos de riesgo o malaria grave en los días 1, 2 o 3, con presencia de parasitemia;
- La parasitemia del día 2 fue mayor que la del día 0, independientemente de la temperatura axilar;
- Parasitemia el día 3 con temperatura axilar $\geq 37,5$ °C;

- Parasitemia el día 3 \geq 25% del recuento del día 0.

Fracaso tardío del tratamiento

Fracaso clínico tardío

- Signos de riesgo o malaria grave con presencia de parasitemia en cualquier momento entre los días 4 y 28 en pacientes que previamente no cumplieron alguno de los criterios de fracaso temprano del tratamiento;
- Parasitemia en cualquier momento entre los días 4 y 28, con una temperatura axilar \geq 37,5 °C o antecedentes de fiebre en pacientes que previamente no cumplieron con alguno de los criterios de fracaso temprano del tratamiento.

Fracaso parasitológico tardío

- Parasitemia en cualquier momento entre los días 7 y 28, con temperatura axilar $<$ 37,5 °C en los pacientes que no reunieron ninguno de los criterios de fracaso temprano del tratamiento o de fracaso clínico tardío.

Respuesta clínica y parasitológica adecuada

- Ausencia de parasitemia en el día 28, independientemente de la temperatura axilar, en pacientes que previamente no cumplieron alguno de los criterios de fracaso temprano del tratamiento, fracaso clínico tardío o fracaso parasitológico tardío.

Todos los pacientes del estudio que exhibieron un fracaso terapéutico fueron remitidos a consulta para recibir tratamiento por parte de los centros de salud o promotores de salud.

Criterios de evaluación de la seguridad

Se documentó la incidencia de cualquier evento adverso, preguntando sistemáticamente a todos los pacientes acerca de síntomas anteriores y los que aparecieron desde la última visita del seguimiento. Todos los episodios adversos, guardaran o no relación con la medicación, se registraron en formularios para la notificación de casos. Los eventos adversos se notificarían a las entidades participantes en el estudio.

Evaluación de la seguridad

La seguridad de la terapia antipalúdica se evaluó realizando un registro de la incidencia y severidad de los eventos adversos que se pudieran presentar.

Un evento adverso se definió como cualquier signo desfavorable, no intencional, síntoma, síndrome o enfermedad que se desarrollara o empeora con el uso de un medicamento, independientemente de si se relacionara o no con dicho producto.

Un evento adverso grave se definió como cualquier acontecimiento médico adverso que:

- resultara en el fallecimiento del participante o fuera potencialmente mortal;
- requiera hospitalización o prolongara una hospitalización preexistente;
- resultara en una discapacidad persistente o significativa.

“Mortal” significa que la persona estuvo en riesgo inminente de muerte.

“Discapacidad persistente o significativa o incapacidad” significa que la capacidad de una persona para realizar las funciones vitales normales está alterada sustancialmente.

Diagnóstico molecular

Se realizó diagnóstico molecular para confirmación a todas las muestras de día 0 y día 28 incluidos en el estudio por PCR anidada y PCR cuantitativa o en tiempo real (qPCR) para muestras positivas el día 28

Extracción de ADN

Se cortó el papel de filtro impregnado de sangre y se dispuso en tubos eppendorf de 1,5 mL, se agregó 1 mL de saponina al 0,5% a cada tubo, se realizó vórtex y se guardó en refrigeración a 4°C durante toda la noche, al día siguiente se centrifugaron los tubos a 12000 rpm por 5 minutos, se descartó el sobrenadante y se realizaron 3 lavados con PBS, luego de descartar el último sobrenadante, se agregaron 150 µL de Chelex 100 al 5% a los tubos y se incubaron a 56°C por 15 minutos en baño María seco, se realizó vórtex, antes, durante y después de la incubación. Pasado los 15 minutos, se incubaron a 100°C por 10 minutos y se centrifugaron a 13000 rpm por 15 min. Se transfirió el sobrenadante a tubos nuevos, se centrifugaron a 13000 rpm por 5 min y finalmente se dispuso el sobrenadante en nuevos tubos para conservar las extracciones a -20°C.

PCR anidada para diagnóstico de Plasmodium spp. y especie

Se realizó una PCR anidada basada en el protocolo descrito por Singh y colegas (1999) (19), para la identificación de la subunidad 18s rRNA de *Plasmodium sp.* Se utilizaron primers rPLU1 5'-TCAAAGATTAAGCCATGCAAGTGA-3', rPLU5 5'-CCTGTTGTTGCCTTAAACTCC-3', rPLU3 5'-TTTTTATAAGGATAACTACGGAAAAGCTGT-3'y rPLU4 5'-TACCCGTCATAGCCATGTTAGGCCAATACC-3' para amplificación específica de género.

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para PLU1-PLU5 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del Ácido desoxirribonucléico (ADN) y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 55 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para PLU3-PLU4 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del ADN y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 62 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

PCR anidada para diagnóstico de especie

Con base en los resultados obtenidos en la PCR anterior, se realizó la PCR para el diagnóstico de especie, en el cual se utilizaron primers específicos para cada una de las principales especies de *Plasmodium* spp. rVIV1 5'-CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC-3' y rVIV2 5'-ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAGTCCTTA-3' (*Plasmodium vivax*), rFAL1 5'-TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATATT-3' y rFAL2 5'-ACACAATGAACTCAATCATGACTACCCGTC-3' (*Plasmodium falciparum*), y rMAL1 5'-ATAACATAGTTGTACGTTAAGAATAACCGG-3' y rMAL2 5'-AAAATTCCCATGCATAAAAAATTATACAAA-3' (*Plasmodium malariae*).

Las condiciones de reacción (perfil técnico) para VIV1-VIV2; FAL1-FAL2 y MAL1-MAL2 fueron 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial del ADN y 35 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 55 °C por 1 minuto, 72 °C por un minuto y finalmente, 72 °C por 4 minutos.

Electroforesis en gel de agarosa

Para la identificación de los fragmentos de ADN tanto de género como de especie, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2% donde fueron dispuestas las muestras, los controles y el marcador de peso molecular por 45 minutos para finalmente hacer revelación del gel por medio del equipo E-Gel imager de Life Technologist.

Tabla 2. Primers y tamaño en pares de bases de que cada fragmento

Primers	Tamaño (pares de bases) ⁵
rPLU1 – rPLU5	1640
rPLU3 – rPLU4	240
rVIV1 – rVIV2	117
rFAL1 – rFAL2	205
rMAL1 – rMAL2	144

⁵ Con base en el protocolo de Singh y colegas (19)

PCR en tiempo real para diagnóstico de especie

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la PCR anidada en las muestras positivas de día 28, se realizó una PCR en tiempo real para obtener una aproximación a la carga parasitaria de *P. vivax*, con base en el protocolo descrito por Rougemont y colegas (2004) (69), en el cual se realizaron reacciones con primers específicos *Plasmo1* 5'- GTT AAG GGA GTG AAG ACG ATC AGA -3' y *Plasmo2* 5'- AAC CCA AAG ACT TTG ATT TCT CAT AA -3'

Las condiciones de reacción fueron 10 minutos a 95°C para activación de la polimerasa y 45 ciclos de: 95°C por 15 segundos – 60°C por 30 segundos:

Se consideraron positivas aquellas muestras con un valor de ct menor a 38,00

Análisis de los datos

Se realizó un análisis descriptivo de los diferentes desenlaces con respecto a las variables sociodemográficas y al protocolo de tratamiento asignado, donde se incluyó una descripción de todos los pacientes que fueron objeto de tamizaje y las razones para no incluirlos en el estudio, descripción de todos los pacientes incluidos en el estudio, proporción de eventos adversos y eventos adversos graves en todos los pacientes incluidos en el estudio y la proporción de fracasos tempranos del tratamiento, fracasos clínicos tardíos, fracasos parasitológicos tardíos y de respuesta clínica y parasitológica adecuada al día 28 evaluada mediante microscopía y teniendo en cuenta la corrección por PCR dado que en algunos casos la microscopía puede no detectar infecciones de muy baja carga parasitaria. Para las variables de índole cuantitativo sin distribución normal se estimaron medianas y rangos intercuartílicos, y para las variables de índole cualitativo, se estimaron frecuencias relativas y absolutas. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron por medio de R para Windows, versión 4.0.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

6. Resultados

CAPÍTULO 1. Frecuencia de infecciones por *P. vivax* en pacientes sintomáticos en la Amazonía Colombiana 2021-2022

En este capítulo se desea dar respuesta al objetivo específico “Estimar la frecuencia de infecciones por *P. vivax* en 5 lugares de la Amazonía Colombiana en los años 2021-2022”.

Descripción de los pacientes incluidos en el estudio

Se incluyeron 352 pacientes en los 5 sitios de estudio, el 55,4% (195/352) fueron hombres y el 44,6% (157/352) fueron mujeres, la mediana de la edad fue de 27 años (RIQ 17-41), el 77,3% (272/352) de los pacientes se encontraron en el grupo de edad mayores de 15 años, el grupo étnico más frecuente fue el indígena con un 80,7% (284/352), seguido por el grupo sin autodenominación étnica, con un 17,6% (62/352). La etnia con más proporción de pacientes fue la comunidad indígena Ticuna con 35,5% (101/352), seguida por la comunidad Uitoto con un 8,4% (24/352). El 29,8% (105/352) de los pacientes fueron estudiantes, seguidos por el 18,8% (66/352) amas de casa y un 13,1% (46/352) dedicados a trabajos en agricultura. (Tabla 3)

Tabla 3. Características sociodemográficas de todos los pacientes incluidos en el estudio

	Total (n=352)	
	N	%
Sexo		
Hombre	195	55,4
Mujer	157	44,6
Edad, años	27 (17 – 41) *	
Edad, grupos (años)		
5 a 15	80	22,7
Mayores de 15	272	77,3
60 años o más	26	7,4
Grupo étnico		
Indígena	284	80,7
Afrosdescendiente	1	0,3
Ninguno	62	17,6
Sin dato	5	1,4
Etnia		
Ticuna	101/284	35,5
Uitoto	24/284	8,4
Cocama	16/284	5,6
Yucuna	15/284	5,2
Otras †	87/284	30,9
Sin dato	41/284	14,4
Ocupación		
Estudiante	105	29,8
Ama de casa	66	18,8
Agricultor	46	13,1
Pescados/cazador	41	11,6
Fuerzas armadas	26	7,4
Oficios varios	18	5,1
Otro	39	11,1
Sin dato	49	3,1

* Mediana (RIQ)

† Incluyen etnias Andoque, Macuna, Tanimuca, Miraña, Ocaina, Inga, Bora, Muinane, Yagua, Cubeo, Matapí, Nonuya, Letuama, Carijona, Murui, Tatuyo, Tuyuca y Yeral.

Descripción de las variables vivienda, antecedentes de malaria

El 61,1% de los pacientes (215/352) residían en la periferia, representado en un 60,2% (212/352) de las casas ubicadas en áreas rurales, el 38,9% (137/352) vivían en centros poblados, con un 38,9% (140/337) de las viviendas ubicadas en área urbana. El 32,7% (115/352) de los pacientes fueron incluidos en el corregimiento de la Pedrera, 81,2% (266/331) de los pacientes refirieron hacer uso del toldillo para dormir y la mayor

proporción de pacientes (36,1%) mencionó haber presentado el último episodio de malaria entre 7 a 12 meses antes de la inclusión en el estudio. (Tabla 4)

Tabla 4. Características de vivienda y antecedentes de malaria de todos los pacientes incluidos

	Total (n=352)	
	N	%
Lugar de estudio		
Leticia	62	17,6
Pedreira	115	32,7
Puerto Nariño	45	12,8
Puerto Santander	39	11,0
Tarapacá	91	25,9
Lugar de residencia		
Periferia	215	61,1
Poblado	137	38,9
Ubicación de la vivienda		
Rural	212	60,2
Urbano	140	39,8
Uso de toldillo para dormir		
Si	286	81,2
No	59	16,8
Sin dato	7	2,0
Último episodio de malaria		
Menos de 1 mes	50	14,2
1 a 6 meses	30	8,5
7 a 12 meses	127	36,1
Más de 1 año	11	3,1
Nunca	116	33,0
No sabe	17	4,8
Sin dato	1	0,3

Descripción de la sintomatología presentada al momento de inclusión

Entre el total de participantes, el tiempo desde el inicio de los síntomas presentó una mediana de 3 días (RIQ: 2-5), el 98,3% (346/352) de los pacientes presentó temperatura axilar $\geq 37,5$ °C, mientras el 1,7% (6/352) informaron haber presentado fiebre y/o síntomas sugestivos de síndrome febril agudo 72 horas previas al momento de la inclusión. Después de la fiebre, la cefalea fue el síntoma más común (90,6%) (319/352) de los pacientes, (Tabla 6).

Proporción de pacientes positivos por especie infectante

Entre los 352 pacientes incluidos en el estudio, el 42,6% (150/352) se encontró positivo para malaria por PCR anidada; 142 (94,7%) con infección por *P. vivax* (94,7%), 6 (4%) con *P. falciparum* y 2 (1,3%) con infección mixta. (Tabla 5)

Tabla 5. Pacientes positivos por lugar de estudio y especie infectante

	Positivos		Especie	Frecuencia de infecciones	
	N	%		N	%
Leticia	3/62	4,8	<i>P. vivax</i>	3/3	100
Pedrera	64/115	55,6	<i>P. vivax</i>	60/61	93,8
			<i>P. falciparum</i>	4/64	6,2
Puerto Nariño	20/45	44,4	<i>P. vivax</i>	18/20	90,0
			<i>P. falciparum</i>	1/20	5,0
			Malaria mixta *	1/20	5,0
Puerto Santander	2/39	5,1	<i>P. vivax</i>	1/2	50,0
			Malaria mixta †	1/2	50,0
Tarapacá	61/91	67,0	<i>P. vivax</i>	60/61	98,4
			<i>P. falciparum</i>	1/61	1,6

* Infección mixta *P. vivax* – *P. falciparum*

† Infección mixta *P. vivax* – *P. malariae*

Descripción de la sintomatología presentada en los pacientes con *P. vivax*

El tiempo de evolución de la enfermedad desde el inicio de los síntomas presentó una mediana de 3 días (RIQ: 2-4), el 99,2% (141/142) de los pacientes presentó temperatura axilar $\geq 37,5$ °C, la cefalea fue referida por el 97,2% (138/142) de los pacientes, la presencia de escalofrío se reportó en 96,5% (137/142) y sudoración en un 73,9% (105/142) de las personas incluidas, el dolor osteomuscular estuvo presente en el 88,7% (126/142) de los pacientes y cansancio generalizado en el 86,6% (123/142). El dolor abdominal, síntomas gastrointestinales (nauseas, vómito y diarrea),

la falta de apetito y cambios en el color de la orina se presentaron en menor frecuencia (Tabla 6).

Tabla 6. Sintomatología presentada por todos los pacientes incluidos y pacientes positivos para malaria por *P. vivax*

	Total (n=352)		Pacientes positivos * (n=142)	
	N	%	N	%
Inicio de síntomas †	3 (2 – 5)		3 (2 – 4)	
Fiebre	346	98,3	141	99,2
Cefalea	319	90,6	138	97,2
Escalofrío	270	76,7	137	96,5
Sudoración	193	54,8	105	73,9
Dolor osteomuscular	274	77,8	126	88,7
Dolor abdominal	123	34,9	60	42,3
Nauseas	123	34,9	57	40,1
Vómito	58	16,5	21	14,8
Diarrea	52	14,8	12	8,5
Astenia	285	81,0	123	86,6
Anorexia	173	49,1	90	63,4
Cambios en el color de la orina	16	4,5	9	6,3

* Pacientes positivos con infección por *P. vivax* † Mediana (RIQ)

Proporción de pacientes positivos por *P. vivax* discriminados por sexo, grupo de edad, ocupación, uso de toldillo y antecedentes de malaria

De los 142 pacientes positivos para *P. vivax*, el 63,4% (90/142) fueron hombres y el 36,5% (52/142) mujeres, un 36,6% (52/142) de los casos se presentó en pacientes con edades entre 28 y 59 años y los estudiantes representaron la mayor frecuencia de infecciones con un 28,9% (41/142), seguidos de las amas de casa 20,4% (29/142) y militares con un 14,1% (20/142), el 35,2% (50/142) de los pacientes reportó nunca haber sido diagnosticado con malaria, seguido de un 28,9% (41/142) con reporte de malaria entre 7 y 12 meses antes de ser incluidos en el estudio (Tabla 7).

Tabla 7. Características sociodemográficas de pacientes con malaria por *P. vivax*

	Total (n=142)	
	N	%
Sexo		
Hombre	90	63,4
Mujer	52	36,6
Edad, años	24 (18 – 34) *	
Edad, grupos (años)		
5 a 18	40	28,2
19 a 27	48	33,8
28 a 59	52	36,6
60 años o más	2	1,4
Ocupación		
Estudiante	41	28,9
Ama de casa	29	20,4
Agricultor	15	10,6
Pescador/cazador	11	7,8
Militar	20	14,1
Oficios varios	5	3,5
Otro	14	9,8
Sin dato	7	4,9
Historia de malaria, último año		
Menos de 1 mes	22	15,5
1 a 6 meses	19	13,4
7 a 12 meses	41	28,9
Más de 1 año	4	2,8
Nunca	50	35,2
No sabe	5	3,5
Sin dato	1	0,7
Uso de toldillo para dormir		
Si	119	83,8
No	18	12,7
Sin dato	5	3,5

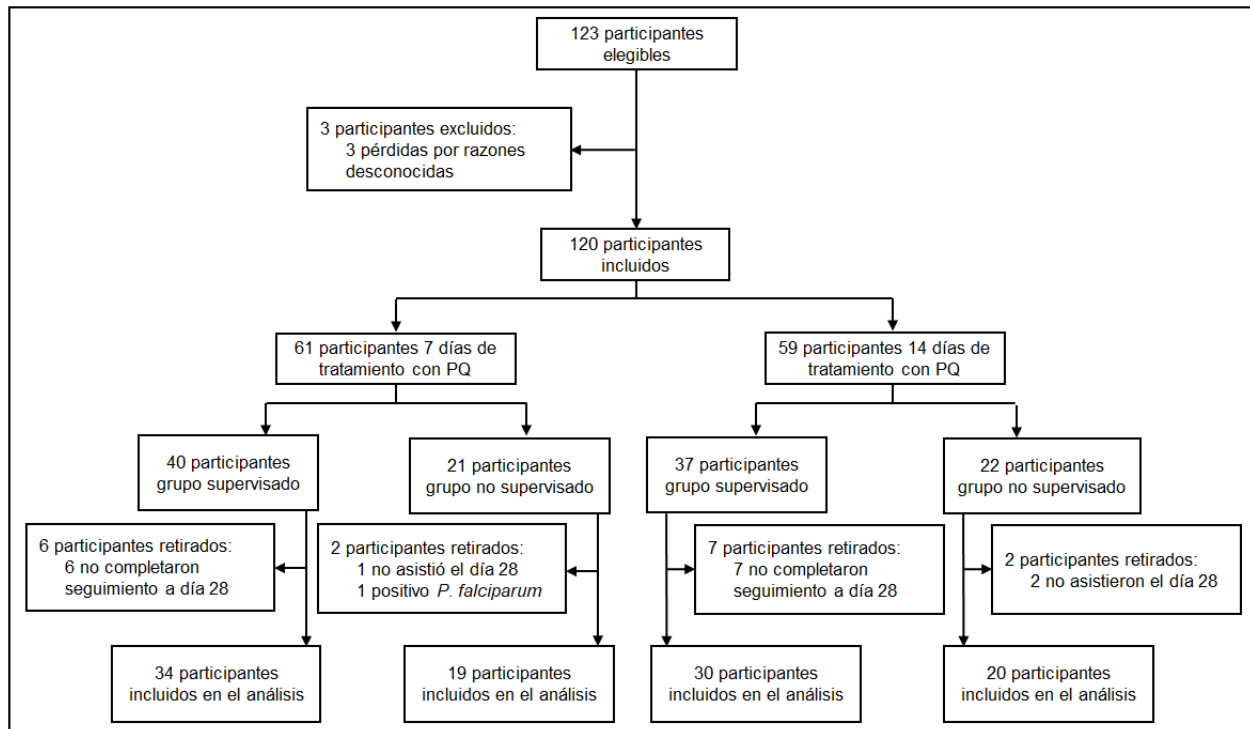
* Mediana (RIQ)

CAPÍTULO 2. Respuesta al tratamiento con cloroquina/primaquina en pacientes con malaria por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana

En este capítulo se presentan los resultados que dan respuesta a los objetivos específicos “Evaluar en pacientes con malaria vivax la respuesta al tratamiento de cloroquina y primaquina con dosis de 0.5 mg/Kg/día por 7 días y 0.25 mg /Kg/día por 14 días” y “Registrar la aparición de efectos adversos de los esquemas terapéuticos empleados”.

Descripción de los pacientes que fueron objeto de tamizaje y las razones para no incluirlos en el estudio

De 123 pacientes que fueron elegibles, 3 pacientes no regresaron después del día de inclusión por razones desconocidas. Se incluyeron 120 pacientes distribuidos así: 61 en el grupo de 7 días, de los cuales, 40 pacientes recibieron tratamiento supervisado y 21 tratamiento no supervisado, 6 pacientes fueron retirados por no completar el seguimiento a 28 días en el grupo supervisado y 2 en el grupo no supervisado, uno de estos por resultar positivo para *P. falciparum*, por lo cual se evaluaron 34 y 19 pacientes respectivamente. Se distribuyeron 59 en el grupo de 14 días de tratamiento con primaquina, de los cuales, 37 pacientes recibieron tratamiento supervisado y 22 tratamiento no supervisado, 7 pacientes fueron retirados por no completar el seguimiento a 28 días en el grupo supervisado y 2 en el grupo no supervisado, por lo cual se evaluaron 30 y 20 pacientes respectivamente (gráfico 1).

Gráfico 1. Flujograma de pacientes

Descripción de los pacientes incluidos en el estudio

En total se incluyeron en el análisis 103 pacientes distribuidos en los dos grupos de tratamiento, 53 pacientes recibieron tratamiento por 7 días de primaquina y 50 pacientes, 14 días de tratamiento.

Grupo I, pacientes con tratamiento por 7 días

De los 34 pacientes que recibieron tratamiento supervisado, el 52,9% fueron hombres, con una mediana de la edad de 24 años (RIQ 20-39), el 67,7% se auto-reconoció como indígena, y el 64,7% de los pacientes fue captado en Tarapacá, el 38,2% reportó no saber cuándo había tenido malaria por última vez, seguido del 35,4% con historia de malaria en el último año, la mediana de la parasitemia fue de 8840 p/μL (RIQ 5034-1160) y la mediana de temperatura de 38,8°C (RIQ 38,2-39,1). De los 19 pacientes que recibieron tratamiento no supervisado, el 52,6% fueron hombres, con una

mediana de edad de 35 años (RIQ 28-46), el 52,7% se auto-reconoció como indígena y el 100% de los pacientes fue captado en Pedrera, 42,1% de los pacientes reportó no saber cuándo le había dado malaria por última vez, seguido del 21,1% con historia de malaria en el último año, la mediana de la parasitemia fue de 2415 p/μL (RIQ 1400-5564) y la mediana de temperatura de 38,0°C (RIQ 38,0-38,2) (Tabla 8)

Grupo II, pacientes con tratamiento por 14 días

De los 30 pacientes que recibieron tratamiento supervisado por 14 días, el 73,3% fueron hombres, con una mediana de edad de 33 años (RIQ 22-41), 70,0% se auto-reconoció como indígena, el 73,3% de los pacientes fueron captados en Tarapacá, 43,3% de los pacientes reportó no saber cuándo le había dado malaria por última vez, seguido del 30,0% que nunca le había dado malaria, la mediana de la parasitemia fue de 3580 p/μL (RIQ 1530-7500) y una mediana de temperatura de 38,6°C (RIQ 38,5-38,8). De los 20 pacientes que recibieron tratamiento no supervisado, el 60,0% fueron hombres, con una mediana de edad de 37 años (RIQ 27-40), 50,0% se auto-reconoció como indígena, el 100% de los pacientes fueron captados en Pedrera, 55,0% de los pacientes reportó haber tenido malaria en el último año, seguido del 20,0%, que reportó no recordar cuándo le había dado malaria por última vez, la mediana de la parasitemia fue de 2320 p/μL (RIQ 1380-4030) y una mediana de temperatura de 38,1°C (RIQ 37,8-38,4) (Tabla 8).

Tabla 8. Características sociodemográficas de los pacientes incluidos

	7 días de tratamiento (n=53)				14 días de tratamiento (n=50)			
	Grupo supervisado (n=34)		Grupo no supervisado (n=19)		Grupo supervisado (n=30)		Grupo no supervisado (n=20)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Sexo								
Hombre	18	52,9	10	52,6	22	73,3	12	60,0
Mujer	16	47,1	9	47,4	8	26,7	8	40,0
Edad, años *	24 (20 – 40)		35 (28 – 45)		33 (22 – 41)		37 (27 – 40)	
Etnia								
Indígena	23	67,7	10	52,7	21	70,0	10	50,0
No indígena	10	29,4	7	36,8	9	30,0	8	40,0
Sin dato	1	2,9	2	10,5	-	-	2	10,0
Lugar de estudio								
Tarapacá	22	64,7	0	0	22	73,3	0	0
Puerto Nariño	3	8,8	0	0	3	10,0	0	0
La Pedrera	9	26,5	19	100	5	16,7	20	100
Historia de malaria	13	38,3	7	38,9	6	20,0	13	65,0
Tiempo antecedente								
Menos de 1 año	12	35,4	4	21,1	6	20,0	11	55,0
Más de 1 año	1	2,9	3	15,8	0	0	2	10,0
Nunca	6	17,6	0	0	9	30,0	2	10,0
No sabe	13	38,2	8	42,1	13	43,3	4	20,0
Sin dato	2	5,9	2	21,0	2	6,7	1	5,0
Parasitemia (parásitos/ μ L) *	8840 (5034 – 13160)		2415 (1400 – 5564)		3580 (1530 – 7500)		2320 (1380 – 4030)	
Temperatura °C *	38,8 (38,2 – 39,1)		38,0 838,0 – 38,2)		38,6 (38,5 – 38,89)		38,1 837,8 – 38,4)	

* Mediana (RIQ)

Sintomatología presentada al momento de inclusión y al día 28 de seguimiento**Grupo I, pacientes con tratamiento por 7 días**

El día de inclusión, la mediana de inicio de síntomas en el grupo supervisado fue de 4 días (RIQ 3-5) y de 3 días (RIQ 3-4) para el grupo no supervisado, la presentación de fiebre se dio en el 100% de los casos en ambos grupos, y síntomas como la cefalea, el escalofrío y la sudoración se presentaron en más del 95% de los pacientes en los dos grupos, la mediana de la hemoglobina se encontró en 12,3 mg/dL (RIQ 11,2-13,1) y 13,6 mg/dL (RIQ 12,4-14,0) respectivamente. Para el día 28 de seguimiento, el grupo supervisado no reportó síntomas y la mediana de la hemoglobina se reportó en 13,0 mg/dL (RIQ 12,2-13,9), en el grupo no supervisado, de los 4 pacientes que presentaron

cefalea, uno de estos se encontró positivo a día 28 de seguimiento, con reporte de síntomas adicionales de fiebre, sudoración, escalofrío, dolor osteomuscular, náuseas y anorexia, la mediana de la hemoglobina se reportó en 13,2 mg/dL (RIQ 12,4-13,3) (Tabla 9)

Grupo II, pacientes con tratamiento por 14 días

El día de inclusión se reportó una mediana de inicio de síntomas de 3 días (RIQ 3-4) tanto en el grupo supervisado como en el no supervisado, con presencia de fiebre en el 100% de los pacientes y presencia de cefalea, escalofrío y sudoración en más del 90% de los pacientes, la mediana de la hemoglobina fue de 13,6 mg/dL (RIQ 12,1-14,2) y 12,9 mg/dL (RIQ 12,2-14,8) respectivamente. A día 28 de seguimiento, los pacientes en el grupo supervisado no reportaron la presencia de síntomas y la mediana de la hemoglobina se encontró en 13,6 mg/dL (RIQ 12,9-14,5) y por su parte, en el grupo no supervisado uno de los pacientes que se reportó con fiebre, cefalea, escalofrío, sudoración, dolor osteomuscular y anorexia, se encontró positivo a día 28 de seguimiento, la mediana de la hemoglobina se halló en 12,5 mg/dL (RIQ 11,4-14,4).

No se evidenció la presencia de eventos adversos ni eventos adversos graves en ninguno de los grupos evaluados (Tabla 9)

Tabla 9. Sintomatología al inicio y al final del seguimiento

	7 días de tratamiento (n=53)				14 días de tratamiento (n=50)			
	Grupo supervisado (n=34)		Grupo no supervisado (n=19)		Grupo supervisado (n=30)		Grupo no supervisado (n=20)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Día 0								
Inicio de síntomas	4 (3 – 5)		3 (3 – 5)		3 (3 – 4)		3 (3 – 5)	
Fiebre	34	100	19	100	30	100	20	100
Cefalea	33	97,1	19	100	29	96,7	19	95,0
Escalofrío	33	97,1	19	100	29	96,7	20	100
Sudoración	32	94,1	18	94,7	27	90,0	20	100
Dolor abdominal	21	61,8	13	68,4	15	50,0	9	45,0
Dolor osteomuscular	31	91,2	19	100	30	100	19	95,0
Prurito	1	2,9	1	5,3	2	6,7	1	5,0
Vómito	15	44,1	8	42,1	3	10,0	5	25,0
Anorexia	20	58,8	17	89,5	20	66,7	17	85,0
Hemoglobina mg/dL *	12,3 (11,2 – 13,1)		13,6 (12,4 – 14,0)		13,6 (12,1 – 14,2)		12,9 (12,2 – 14,8)	
Día 28								
Fiebre	0	0	1	5,2	0	0	1	5,0
Cefalea	0	0	4	21,1	0	0	2	10,0
Escalofrío	0	0	1	5,2	0	0	1	5,0
Sudoración	0	0	1	5,2	0	0	1	5,0
Dolor abdominal	0	0	0	0	0	0	1	5,0
Dolor osteomuscular	0	0	2	10,5	0	0	2	10,0
Prurito	0	0	0	0	0	0	0	0
Vómito	0	0	0	0	0	0	0	0
Anorexia	0	0	1	5,2	0	0	3	15,0
Hemoglobina mg/dL *	13,0 (12,0 – 13,9)		13,2 (12,4 – 13,3)		13,6 (12,9 – 13,3)		12,5 (11,4 – 14,4)	
Eventos adversos	0	0	0	0	0	0	0	0

* Mediana (RIQ)

Descripción por días de seguimiento de la respuesta terapéutica en el grupo con tratamiento por 7 días

En el día de inclusión (día 0), el 100% de los pacientes se encontraron positivos para *P. vivax* por microscopía y en confirmación por PCR anidada; en el grupo supervisado se reportó un 85,3% de positividad en el día 1, un 58,8% en el día 2, y un 20,6% en el día 3, mientras en los días 7, 14, 21 y 28 no reportaron casos con parasitemia, indicando una respuesta terapéutica adecuada a día 28. En el grupo no supervisado se reportó una positividad a día 28 de 10,5% (2/19), uno de los pacientes con temperatura axilar mayor a 37,5 °C, indicando fracaso clínico tardío y un paciente con temperatura axilar menor de 37,5 °C, indicando fracaso parasitológico tardío.

Ninguno de los pacientes que presentaron parasitemia el día 3 se encontraban febriles, de modo que no se clasifican como falla temprana al tratamiento (Tabla 10).

Descripción por días de seguimiento de la respuesta terapéutica en el grupo con tratamiento por 14 días

En el día de inclusión (día 0), el 100% de los pacientes se encontraron positivos para *P. vivax* por microscopía y en confirmación por PCR anidada; en el grupo supervisado se reportó un 76,7% de positividad en el día 1, un 36,7% en el día 2, y un 10,0% en el día 3, mientras en los días 7, 14, 21 y 28 no reportaron casos con parasitemia, indicando una respuesta terapéutica adecuada. En el grupo no supervisado se reportó una positividad a día 28 de seguimiento del 5,0% (1/20), con temperatura axilar mayor a 37,5 °C, indicando fracaso clínico tardío. Ninguno de los pacientes que presentaron parasitemia el día 3 se encontraban febriles, de modo que no se clasifican como falla temprana al tratamiento (Tabla 10)

Tabla 10. Pacientes positivos por día de seguimiento y respuesta terapéutica

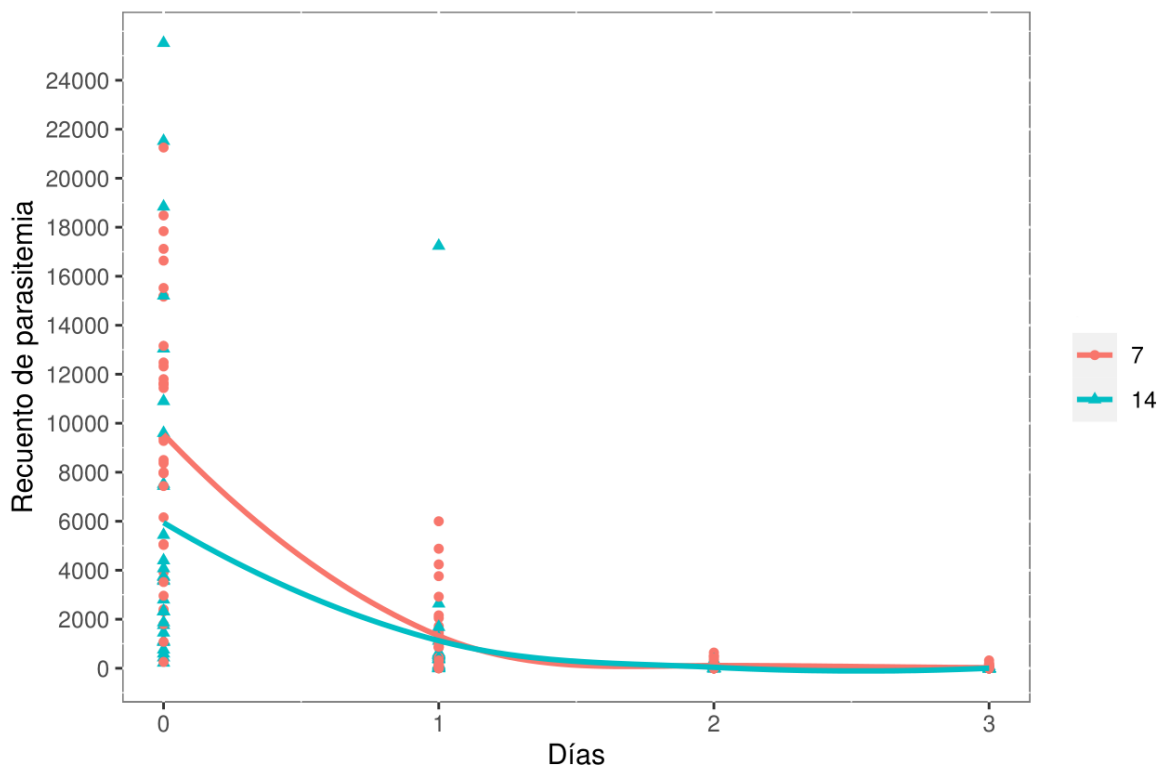
Días	7 días de tratamiento (n=53)				14 días de tratamiento (n=50)			
	Grupo supervisado (n=34)		Grupo no supervisado (n=19)		Grupo supervisado (n=30)		Grupo no supervisado (n=20)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
0	34	100	19/19	100	30	100	20/20	100
1	29	85,3	-	-	23	76,7	-	-
2	20	58,8	-	-	11	36,7	-	-
3	7	20,6	-	-	3	10,0	-	-
7	0	0	-	-	0	0	-	-
14	0	0	-	-	0	0	-	-
21	0	0	-	-	0	0	-	-
28	0	0	2/19 *	10,5	0	0	1/20 *	5,0

* Número de pacientes con fracaso terapéutico

Disminución de la parasitemia por grupo de tratamiento en pacientes supervisados

Se observa una disminución en el recuento parasitario y en la cantidad de pacientes que continuaron positivos en los primeros días de seguimiento, el grupo de 7 días de tratamiento reportó una mayor parasitemia global en el día de inclusión, con recuento máximo de 21255 p/μL entre los 30 pacientes incluidos y disminuyó a 7 pacientes positivos con un recuento máximo de 320 p/μL a día 3. Por su parte, el grupo de 14 días de tratamiento reportó una parasitemia global menor, con un recuento máximo de 25520 p/μL, la cual disminuyó a día 3 de seguimiento con una parasitemia máxima de 80 p/μL entre los 3 pacientes positivos (Gráfico 2).

Gráfico 2. Disminución de la parasitemia de *P. vivax* después del tratamiento con cloroquina más primaquina



Descripción de los pacientes con fracaso terapéutico a día 28 de seguimiento

Se encontraron 3 pacientes positivos a día 28 de seguimiento, dos pacientes, 8-304 y 8-321 ubicados en el grupo que recibió primaquina por 7 días y un paciente, 8-

312 ubicado en el grupo con primaquina por 14 días, de los pacientes en el grupo de 7 días de tratamiento, una paciente fue mujer, de 23 años, sin conocimiento de historia previa de malaria, sin fiebre y con parasitemia por gota gruesa y confirmada por PCR anidada y PCR en tiempo real, con fracaso parasitológico tardío, el otro paciente fue un hombre de 22 años, sin conocimiento de historia previa de malaria, con fiebre y parasitemia por gota gruesa y confirmada por PCR anidada y PCR en tiempo real, con falla clínica tardía. El paciente que recibió primaquina por 14 días fue un hombre de 39 años, indígena, con historia previa de malaria de 7 a 12 meses antes de la inclusión, con fiebre y parasitemia por gota gruesa y confirmada por PCR anidada y PCR en tiempo real, con falla clínica tardía (Tabla 11).

Tabla 11. Descripción de pacientes positivos a día 28 de seguimiento

Variables	Código de muestra		
	8-304	8-321	8-312
Grupo de tratamiento	7 días	7 días	14 días
Sexo	Mujer	Hombre	Hombre
Edad, años	23	22	39
Grupo étnico	-	Ninguno	Indígena
Último episodio de malaria	No sabe	No sabe	7 a 12 meses
Temperatura °C	37	38	38
Parasitemia (parásitos/ µL)	400	10958	520
Especie	<i>P. vivax</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. vivax</i>
PCR anidada	Positivo	Positivo	Positivo
qPCR, ct	37,59	31,51	37,51
Respuesta al tratamiento	FPT *	FCT †	FCT †

* Fracaso parasitológico tardío, † Falla clínica tardía

7. Discusión

La frecuencia de infecciones por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana se conoce por los reportes que se realizan principalmente a los sistemas de vigilancia del país, sin embargo, hay pocos estudios que reporten la proporción de pacientes sintomáticos infectados con esta especie en el departamento.

La frecuencia de positividad de *Plasmodium sp.* se encontró en un 42,6% de los casos mientras el 57,4% no presentó malaria. Un estudio realizado en 5 departamentos endémicos de Colombia, Chocó, Nariño, Guainía, Cauca y Valle, en 314 pacientes sintomáticos, reportó una frecuencia similar a la encontrada en este estudio, con 49% de positividad de malaria (20). En un estudio realizado en Turbo, Antioquia, en 107 pacientes sintomáticos, se reportó una frecuencia de positividad para malaria del 43%, mientras en un estudio realizado en la Amazonía Colombiana, en 675 pacientes sintomáticos, se encontró una frecuencia de 79,1% de casos positivos para malaria (80) frecuencia superior a la reportada en este estudio.

En el presente estudio se describió una frecuencia de infecciones por *P. vivax* del 94,7% entre los pacientes sintomáticos positivos para malaria. Según las estadísticas de la Secretaría de Salud departamental de Amazonas y del boletín epidemiológico semanal (BES) del Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia, el porcentaje de casos por esta especie en la Amazonía Colombiana se reportó en el año 2019 en un 90%, mientras en el año 2020 en un 93% (8) (7).

Históricamente, la malaria por *P. vivax* se ha reportado como la más frecuente en el departamento. Los informes de evento del Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia, consignados desde el año 2004 hasta el presente, dan cuenta del predominio de las infecciones por *P. vivax* en la región, ocasionando más del 90% de los casos, mientras, en un estudio realizado en Puerto Arica en 1999, Amazonas, se reportó una proporción de pacientes infectados con esta especie de 76,5% (4). Con este estudio se confirma la mayor frecuencia de infecciones por *P. vivax* en la Amazonía Colombiana.

En un estudio realizado en Puerto Nariño y Leticia, Amazonas, en 2016, se reportó la frecuencia de infecciones por *P. vivax*, en 531 pacientes sintomáticos

positivos para *Plasmodium sp.* del 61,4%, frecuencias inferiores a las reportadas en este estudio.

En otras regiones de Colombia en la que también predominan las infecciones de malaria por esta especie, según los reportes realizados al INS; se han realizado estudios donde la frecuencia de infecciones por esta especie es menor a la reportada en este estudio. Un estudio en Córdoba, Colombia reportó una frecuencia de infecciones por *P. vivax* de 47,3% en 112 pacientes sintomáticos incluidos (70), mientras un estudio realizado en Turbo, Antioquia, reportó una frecuencia de infecciones de 67% (71).

En un estudio retrospectivo realizado en la Amazonía Ecuatoriana se reportó una frecuencia de infecciones por *P. vivax* en pacientes febriles, positivos para *Plasmodium sp.* del 97,75% (72), mientras en un estudio realizado en Huepetuhe, Perú, se halló una frecuencia de infecciones por esta especie, en pacientes sintomáticos, de 72,9 (73), resultados similares a los encontrados en este estudio. Sin embargo, estos hallazgos difieren de los reportados en otro estudio realizado en la Amazonía brasilera, donde se encontró una frecuencia de infecciones por *P. vivax* del 26% (74)

La mayor proporción de casos se presentó en hombres (63,4%) encontrándose en menor porcentaje a lo reportado en el estudio realizado en Perú (73) y la mediana de la edad reportada en este estudio fue de 24 años (RIQ 18-34), siendo mayor a la reportada por un estudio realizado en la Amazonía peruana, donde, en población indígena sintomática, fue de 11 años (75)

Se presentaron más casos en estudiantes, amas de casa, militares o en trabajos de agricultura, pesca y caza, con un alto porcentaje de las viviendas ubicadas en área rural, lo que puede indicar que son más frecuentes las infecciones en las zonas peridomiciliares o extradomiciliares, lo que también se pudo observar en un estudio realizado en comunidades de Puerto Nariño donde la mayor tasa de picadura se dio en peridomicilio y extradomicilio (76)

En este estudio se reportó un uso del toldillo para dormir del 83,4%, hallazgo similar al encontrado en un estudio realizado en Puerto Arica, Amazonas, con un 73% de uso (4), aunque no fue posible conocer si los mosquiteros estaban impregnados, es importante resaltar que el uso del toldillo por sí sólo no es efectivo para prevenir las

infecciones por malaria, se deben tener en cuenta otros factores que favorecen la exposición al vector como las actividades humanas fuera del domicilio, factores culturales, como el mambeo, reuniones sociales después de las actividades laborales, juegos recreativos, y comportamiento del vector en las áreas de transmisión (77).

Los síntomas más comunes fueron fiebre, dolor de cabeza, escalofrío, sudoración, dolor osteomuscular y astenia, síntomas que por si solos no pueden dar una idea clara de la etiología de la infección; en estudios realizados en Colombia, recopilados en una revisión realizada por Cortés y colegas (2015), donde se reportan las causas más frecuentes de síndrome febril por agentes infecciosos además de la malaria, como leptospirosis, dengue, hepatitis A y B, entre otras (78) por lo cual sería de importancia realizar estudios para conocer la etiología del síndrome febril en la Amazonía Colombiana.

Con respecto a los antecedentes de malaria, se obtuvo que un 35,2% de pacientes positivos para malaria por *P. vivax* nunca habían sido diagnosticados con malaria, lo que llama la atención dadas las altas tasas de infección informadas en los sitios de estudio y las cuales se explican probablemente por mayor contacto humano-vector asociado a las actividades de las personas fuera de la vivienda, las características propias de las viviendas y otros factores culturales, sin embargo, esto puede tener una probable explicación en los sesgos de memoria por parte de los participantes.. Mientras el 28,9% tuvieron al menos un episodio de malaria entre 7 y 12 meses de la inclusión.

De acuerdo con los resultados reportados en este estudio, las áreas no municipalizadas de La Pedrera y Tarapacá junto con el municipio de Puerto Nariño presentan la mayor frecuencia de casos del departamento; ello coincide con el lineamiento metodológico para la estratificación y estimación de la población en riesgo para malaria 2020-2023, que ubica el departamento del Amazonas en estrato 4 de riesgo, mientras los lugares anteriormente mencionados, se ubican en estrato 5 (5). Dado lo anterior este estudio confirma que la frecuencia de infecciones por *P. vivax* en la ciudad de Leticia y el área no municipalizada de Puerto Santander es menor y que en estos lugares las causas de la sintomatología informada por los participantes se deben a otros agentes infecciosos o patologías de otro origen.

Adicionalmente, este estudio describió una frecuencia de infección por *P. falciparum* del 4% y *P. malariae* en una malaria mixta con *P. vivax* menor a la encontrada en un estudio realizado en la Amazonía Colombiana donde se reportó un 11,8% de infecciones por *P. falciparum* y un 43,8% por *P. malariae* (10). Sin embargo, los resultados de este estudio concuerdan con los reportes realizados al sistema de vigilancia de Colombia (7) (8).

La captación de los pacientes se inició en la semana epidemiológica 33 aproximadamente, sin embargo, en cada sitio de estudio el canal endémico mostró variaciones importantes observándose una alta fluctuación en el aumento y disminución de los casos, por lo que fue pertinente contrastar los resultados obtenidos con el lugar de estudio (anexo 6).

El área no municipalizada de Tarapacá reportó en este estudio una frecuencia de infecciones por malaria en pacientes sintomáticos del 67,0%, siendo 98,4% causadas por *P. vivax*, la captación de pacientes en esta área se realizó durante las épocas del año que más presentaron picos epidémicos razón probable por la cual se halló más positividad de malaria (anexo 6).

Para el caso de Puerto Nariño, en este estudio se halló que el porcentaje de pacientes con malaria fue del 44,4% siendo un 90,0% de las infecciones causadas por *P. vivax*, de acuerdo al canal endémico, la cantidad de casos reportados en las semanas que se realizó la inclusión de pacientes se encontró en su mayoría en zona de seguridad y muy pocas semanas en zona de alerta (anexo 6).

La Pedrera por su parte reportó un 55,6% de casos de malaria con un 93,8% por *P. vivax*, sin embargo, el corredor endémico mostró, aunque fluctuante, un aumento de casos por encima del percentil 75 en 8 semanas epidemiológicas, desde la semana 33 (anexo 6), razón probable de que se debe continuar evaluando las causas del síndrome febril en la región al hallar que más de un 40% no se encontró positivo para esta patología, aún en zona de epidemia por malaria.

La frecuencia de *P. vivax* encontrada en los 5 lugares de la Amazonía Colombiana da cuenta de la problemática a nivel de salud pública que viven las personas en el departamento y aunque esta especie presenta una menor probabilidad de producir un evento adverso como una malaria grave o la muerte, en comparación

con *P. falciparum*, su característica principal, la formación de hipnozoitos contribuye a la cronicidad de la infección la cual además de presentarse con enfermedad discapacitante es factor predisponente para presentación de síndrome anémico; de otro lado estas recaídas continua siendo un problema para el control de la enfermedad (79)

Las recurrencias en *P. vivax* pueden ser muy frecuentes debido a la activación de hipnozoítos en el hígado que continúan con el ciclo de vida del parásito en el hospedero; estas recaídas son difíciles de diferenciar de las recrudescencias o reinfecciones, sin comparaciones genéticas de los parásitos.

La frecuencia de *P. vivax* encontrada en el presente estudio, halla relación con los datos informados al Sistema de vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) de Colombia, los cuales reportan más de un 90% de casos por esta especie en el departamento, y confirma que se debe seguir trabajando en la creación y mejor de políticas que estén enfocadas en el control de la malaria, principalmente dirigidas a infecciones causadas por *P. vivax* (3) a su vez, es importante realizar más estudios que permitan esclarecer la etiología, tanto infecciosa como no infecciosa, en pacientes sintomáticos que no se encuentran positivos para malaria.

La realización de este estudio se encontró con importantes obstáculos y limitaciones dentro de los cuales se pudieron mencionar, el cálculo del tamaño muestral basado en datos con subregistro, dando como resultado un número de pacientes captados por conveniencia, que dependió del tiempo, el lugar y la fluctuación de los casos en los sitios de estudio.

Adicionalmente, es importante mencionar la presencia de sesgos de información, como los sesgos de memoria por parte de los participantes con respecto a los antecedentes de malaria o que hayan presentado episodios de malaria que no fueron diagnosticados como tal dado que en estas regiones es frecuente el tratamiento empírico de las enfermedades febriles, sumado a las limitaciones económicas y geográficas para permanecer en las zonas de estudio por un periodo de tiempo continuo, por lo que la captación de pacientes se hizo con una pausa de 2 meses al inicio del 2022, posiblemente ocasionando que no se pudiera alcanzar el tamaño de muestra calculado.

En los últimos años ha aumentado la evidencia sobre una importante proporción de infecciones plasmodiales asintomáticas, incluso en regiones consideradas de baja endemia como en Suramérica, las cuales contribuyen a mantener la endemia; sin embargo estas infecciones requieren métodos de diagnóstico que no se emplean de rutina por los programas de control de la malaria y estas infecciones no hacen parte de la vigilancia epidemiológica. Aunque en este estudio se evaluaron únicamente pacientes sintomáticos, se considera que los resultados obtenidos, pese a las limitaciones anteriormente mencionadas, dan un visión más clara de la dinámica de malaria en el departamento y pone en consideración de las entidades de salud el fortalecimiento de las políticas públicas para hacer frente a esta patología, Aunque no hizo parte del estudio la búsqueda de otros agentes infecciosos causantes de síndrome febril agudo, la proporción de pacientes sin malaria abre paso a la generación de nuevas preguntas e hipótesis que busquen esclarecer la etiología de aproximadamente un 57% restante de casos que no presentaron infección con este agente infeccioso.

Habiendo encontrado una frecuencia de *P. vivax* en el departamento, de 94,7%, es pertinente mencionar que se deben seguir realizando estudios enfocados en comprender más sobre el comportamiento de la especie en la región y los factores que la rodean, como los vectores, las condiciones geográficas, la eficacia y seguridad del tratamiento que se administra, la percepción de la población frente a la enfermedad, entre otros.

En este estudio se planteó evaluar la respuesta a los antimaláricos en pacientes con malaria por esta especie en el departamento. El tratamiento recomendado por las guías de práctica clínica de Colombia para diagnóstico y tratamiento de la malaria, de los años 2011 y 2022, recomiendan el suministro de CQ por 3 días, concomitante con PQ por 14 días (0,25 mg/Kg/día) para tratar la malaria no complicada por *P. vivax* (6, 12); sin embargo, se permite la administración de cloroquina los primeros tres días concomitante con primaquina por 7 días (0,5 mg/Kg/día) (6) a fin de mejorar la adherencia con este esquema más corto. La Secretaría de Salud del departamento del Amazonas en Colombia se acoge a este segundo esquema de 7 días con primaquina.

Aunque no se han reportado estudios recientes sobre la eficacia y efectividad del tratamiento en la Amazonía Colombiana para *P. vivax*, y no se tiene certeza del

aumento de la proporción de fracasos terapéuticos, es importante para el departamento emprender el camino hacia la eliminación de la malaria y este estudio es un primer paso para describir la respuesta al tratamiento y dar una idea del comportamiento en las zonas con más reporte de casos.

En el presente estudio se encontró una respuesta clínica y parasitológica adecuada en los grupos supervisados del 100%, mientras en los grupos no supervisados se encontró un 7,7% de fracaso terapéutico global.

En este estudio, la respuesta al tratamiento con CQ más PQ por 7 fue adecuada en todos los pacientes que recibieron tratamiento supervisado, mostrando una respuesta adecuada al tratamiento del 100%; sin embargo, los pacientes en este mismo grupo, pero con tratamiento no supervisado presentaron un porcentaje de fracasos terapéuticos del 10,5%, lográndose efectividad en el 89,5% de los pacientes.

En un estudio realizado en Brasil por Gomes y colegas (2015), en la frontera de la Guyana Francesa, se reportó un 99% de respuesta terapéutica adecuada en pacientes con tratamiento supervisado con CQ más PQ por 7 días (81), resultado similar al reportado en este estudio. Sin embargo, estos hallazgos difieren en los encontrados en un estudio realizado en la Amazonía Brasileña, donde se halló un 5,2% de fracaso terapéutico a día 28 de seguimiento en 135 pacientes con tratamiento de CQ por 3 días, concomitante con primaquina por 7 días (43).

Un estudio realizado en Loreto, Perú por Durand y colegas (2014), no reportó casos de pacientes positivos a día 28 de seguimiento con ninguno de los esquemas evaluados, se suministró CQ durante tres días concomitante con PQ por 5 días al grupo I con dosis total de 105 mg y 7 días grupo II o 14 días, grupo III, ambos grupos con dosis total de 210 mg, hallazgos similares a los reportados en los dos esquemas de tratamiento en este estudio (50)

La respuesta al tratamiento con CQ más PQ por 14 días reportada en este estudio fue adecuada en el 100% de los pacientes que recibieron tratamiento supervisado y 95% en aquellos con tratamiento no supervisado.

En un estudio realizado por Echeverry y colegas (2019) en Chocó, Colombia, se encontró una respuesta clínica y parasitológica adecuada en el 98,6% de los pacientes que recibieron tratamiento con CQ más PQ por 14 días de manera supervisada (35),

mientras en un estudio realizado por Zuluaga y colegas (2015) en Turbo, Antioquia, no se reportaron pacientes positivos a día 28 de seguimiento con un esquema supervisado de CQ más PQ por 14 días (36). Resultados similares a los reportados por este estudio.

La respuesta al tratamiento en los grupos no supervisados, aun cuando no se reportó una frecuencia muy alta de fracasos terapéuticos, puede estar influenciada por la no adherencia de los pacientes a los medicamentos, entre otros factores, como la absorción de los fármacos (28), la administración concomitante con primaquina podría tener un efecto sinérgico para eliminar la parasitemia asexual (82), por lo que la aparición de parasitemia a día 28 de seguimiento podría corresponder a una recrudescencia dado que se encontró la misma especie plasmodial del día 0, aunque no haya sido posible confirmarlo genéticamente.

Adicionalmente, la concentración de la cloroquina en sangre se ha encontrado entre 2 a 4 semanas después de haberse administrado el tratamiento, por lo que las probabilidades de reinfección pueden verse disminuidas (82)

Este estudio encontró una frecuencia de pacientes positivos a día 3 en el grupo con primaquina supervisada por 7 días de 20,6% y 10,0% en el grupo de PQ supervisada por 14 días. En el estudio realizado en Chocó, se reportaron 4 casos positivos a día 3 de seguimiento con tratamiento supervisado de CQ más PQ por 14 días (35), resultado similar al encontrado en este brazo de tratamiento en el presente estudio. En un estudio realizado en Brasil, se reportó un porcentaje de pacientes negativos a día 3 de seguimiento del 80,0%, con tratamiento de CQ más PQ por 7 días, resultado similar al encontrado en este brazo de tratamiento de este estudio.

La disminución de la parasitemia se dio de manera progresiva en los primeros días de seguimiento en los grupos supervisados, sin embargo, se reportó parasitemia en 10 pacientes totales en el día 3 de seguimiento. Es importante resaltar que hubo una mayor frecuencia de infecciones en personas del sexo masculino lo que puede deberse a comportamientos ligados a la actividad económica o recreativos que posiblemente los puedan exponer más al vector. Un estudio realizado en Panamá presentó resultados similares a los encontrados en este estudio con más frecuencia de infecciones en hombres (58,5%) (83)

La sintomatología reportada en este estudio fue similar a la encontrada en el estudio realizado en Brasil, con una mayor frecuencia de síntomas de fiebre, cefalea, escalofrío y sudoración en el día de la inclusión (81). En un estudio realizado en Antioquia, Colombia se reportaron los síntomas más frecuentes el día de inclusión con cefalea, dolor osteomuscular, fiebre, anorexia, escalofrío y sudoración (52), hallazgos muy similares a los reportados en este estudio.

El área no municipalizada de Tarapacá y el municipio de Puerto Nariño fueron los únicos lugares de estudio donde se logró suministrar las dosis del tratamiento de manera supervisada. Geográficamente, el casco urbano del corregimiento de Tarapacá presenta la mayor cantidad de casos, por lo que la captación de pacientes, la administración del tratamiento supervisado y el seguimiento se pudo llevar a cabo en el centro de salud del lugar, adicionalmente, por políticas este es uno de los pocos establecimientos de salud que dan tratamiento supervisado a sus pacientes de manera regular.

En Puerto Nariño se contó con el apoyo de los promotores de salud de la Secretaría de Salud Departamental para hacer la captación de los pacientes, razón por la cual se presentaron menos inconvenientes para suministrar el tratamiento supervisado y realizar seguimiento de los pacientes, sin embargo, dada la época del año en que se realizó el estudio, los casos de malaria no superaron los 5 casos por semana, con reportes de 0-1 casos en la mayoría de las semanas epidemiológicas (84).

El área no municipalizada de La Pedrera presenta una distribución de casos de malaria predominante en las comunidades alejadas, con menos casos reportados en el casco urbano, por lo tanto, se enfrentó con una posibilidad reducida para la supervisión y seguimiento de los pacientes debido a la difícil movilidad entre el casco urbano y las comunidades, no obstante, se consideró de alta importancia incluir este corregimiento en el estudio, dado que es la región con más reporte de casos del departamento.

La realización de este estudio se encontró con importantes limitaciones, entre las que se resaltan sesgos de selección con la no aleatorización de los pacientes en los grupos de estudio y la selección de varios sitios para poder tener mayor probabilidad de captación de pacientes, lo anterior, con el fin de tener grupos equiparables.

Se presentaron importantes pérdidas de seguimiento, debido a que, por residencia, diferentes actividades y movilidad hacia otros lugares o comunidades por parte de los pacientes, no fue posible hacer seguimiento completo. El tamaño de muestra fue a conveniencia, debido a que la cantidad de casos que se presentaron en algunos de los sitios de estudio y que dependió de la época del año, no fue muy alta.

Se pudieron presentar sesgos de información relevantes en la consignación de información relatada por los pacientes sobre los antecedentes de malaria y sintomatología, lo que pudo influir en algunos de los resultados obtenidos. Por último, es esencial resaltar también las limitaciones geográficas, de movilidad y económicas que se presentaron y que por lo tanto restringieron en gran manera la realización de este estudio.

A pesar de todas las limitaciones mencionadas anteriormente, consideramos que los resultados del presente estudio presentan una descripción de datos de importancia para el departamento que requieren seguir siendo estudiados y abren la puerta para la formulación de nuevas preguntas e hipótesis sobre la eficacia y efectividad de los tratamientos antimaláricos en la región, con la posibilidad de hacer estudios controlados y con seguimiento a 6 meses o 1 año para el estudio de las recurrencias.

8. Conclusiones

El presente estudio se enfocó en la descripción de la frecuencia de *P. vivax* y la respuesta al tratamiento combinado con cloroquina más primaquina en dos esquemas de tratamiento en la Amazonía Colombiana, los resultados obtenidos haya correlación con reportes a los sistemas de vigilancia nacionales y algunos estudios realizados en diferentes lugares de países en Suramérica.

En este estudio se reportó la malaria por *P. vivax* como la especie más frecuente en la Amazonía Colombiana en pacientes sintomáticos positivos para malaria, lo que permitió confirmar los registros encontrados en el Boletín Epidemiológico Semanal del SIVIGILA, sin embargo, se encontró que un alto porcentaje de pacientes sintomáticos estuvieron negativos para malaria, incluidos lugares con alto reporte de casos como el corregimiento de La Pedrera.

Adicionalmente se confirmó una escasa proporción de casos por *P. falciparum*, agente que ha venido en aumento en el país, y un número mínimo de casos por *P. malariae*, lo cual contradice resultados recientes en la zona, donde se han reportado más del 40% de casos por esta especie.

La confirmación de que *P. vivax* es la especie más frecuente en el Amazonas Colombiano invita a continuar fortaleciendo las políticas de salud pública y las estrategias de gestión para el control de la malaria por esta especie en el departamento, con el fin de emprender el camino hacia la reducción de casos y la transmisión sostenida, sabiendo las barreras que representan las recaídas para el logro de la eliminación de la malaria.

Es importante tener en cuenta las dinámicas de la malaria en países aledaños y fronterizos y continuar evaluando los comportamientos de la enfermedad en la región.

El tratamiento actualmente usado en la Amazonía Colombiana para tratar la malaria por *P. vivax* combina la terapia de cloroquina más primaquina por 7 días, mientras el tratamiento en el resto del país combina cloroquina más primaquina por 14 días. En este estudio que evaluó la respuesta al tratamiento con dos esquemas de tratamiento, se reportó en pacientes con tratamiento supervisado tanto por 7 días como por 14 días de primaquina, una respuesta terapéutica adecuada, sin presentación de

eventos adversos o eventos adversos graves, concluyendo que el tratamiento supervisado con cualquiera de los esquemas es seguro para tratar la malaria por *P. vivax* en la región.

Sin embargo, hay que tener presente que el tratamiento en el departamento del Amazonas, en la práctica diaria, no es administrado de manera supervisada en ningún municipio o corregimiento, a excepción de algunos casos en el centro de salud del área no municipalizada de Tarapacá, por lo que los hallazgos descritos en este estudio dan cuenta de que es importante continuar evaluando la respuesta al tratamiento no supervisado estándar en el departamento, dado el porcentaje de fracasos terapéuticos encontrados en este estudio.

9. Recomendaciones

Con los hallazgos encontrados en el presente estudio se recomienda concentrar los esfuerzos en el diseño y mejoramiento de estrategias enfocadas a comprender las dinámicas de *Plasmodium vivax*, abarcando factores que influyen en la transmisión y la administración de medicamentos concientizando a la población en la importancia de adherirse al tratamiento y en los lugares que fuera posible, poder implementar la administración supervisada del medicamento.

Adicionalmente, se recomienda la realización de estudios que permitan evaluar la eficacia terapéutica de cloroquina sola para evaluar las recrudescencias o la terapia combinada de cloroquina más primaquina con seguimiento a 180 días o más, incluyendo las concentraciones de los medicamentos en sangre, la genotipificación de los parásitos bajo ensayos clínicos controlados.

Referencias

1. Cardona-Arias JA, Salas-Zapata WA, Carmona-Fonseca J. Determinación y determinantes sociales de la malaria: revisión sistemática, 1980-2018. Rev Panam Salud Pública. 2019 Apr 17;43:1.
2. Boletín Epidemiológico Semanal. Colombia. Instituto Nacional de Salud. 2020.
3. World Health Organization. A framework for malaria elimination [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 [cited 2022 Oct 29]. 92 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254761>
4. Pérez L, Suárez M, Murcia L, De la Hoz F, Olanos VA, Brochero H, et al. La malaria en el Amazonas: conocimientos, prácticas, prevalencia de parasitemia y evaluación entomológica en mayo de 1997. Biomédica. 1999 Jun 1;19(2):93.
5. Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamiento metodológico para la estratificación y estimación de la población en riesgo para malaria 2020-2023. 2022.
6. Botero DS. INFORME DE EVENTO MALARIA, COLOMBIA, 2017. 2018;(2018):19.
7. Boletín Epidemiológico Semanal (BES). Instituto Nacional de salud. Colombia. 2019.
8. Boletín Epidemiológico Semanal (BES). Instituto Nacional de salud. Colombia. 2020.
9. Suárez-Mutis MC, Mora Cárdenas CM, Perez Reyes LDP, Peiter PC. Interacciones transfronterizas y salud en la frontera Brasil-Colombia-Perú. Mundo Amaz. 2010 Feb 6;1(0):243–66.
10. Camargo-Ayala PA, Cubides JR, Niño CH, Camargo M, Rodríguez-Celis CA, Quiñones T, et al. High *Plasmodium malariae* Prevalence in an Endemic Area of the Colombian Amazon Region. Mariño-Ramírez L, editor. PLOS ONE. 2016 Jul 28;11(7):e0159968.
11. Dayananda K, Achur R, Gowda Dc. Epidemiology, drug resistance, and pathophysiology of *Plasmodium vivax* malaria. J Vector Borne Dis. 2018;55(1):1.
12. Censo Poblacional. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). 2018.
13. Ramírez VG, García MAB, Limas CAS. GUIA DE ATENCION DE LA MALARIA.

:47.

14. Milligan R, Daher A, Graves PM. Primaquine at alternative dosing schedules for preventing relapse in people with *Plasmodium vivax* malaria. Cochrane Infectious Diseases Group, editor. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2019 Jul 5 [cited 2022 Oct 29]; Available from: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD012656.pub2>
15. World Health Organization. World malaria report 2021 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2021 [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/350147>
16. Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamiento táctico y operativo de la estrategia de gestión integrada para las enfermedades transmitidas por vectores (EGI-ETV) a nivel territorial. 2017.
17. Organización Mundial de la Salud. Estrategia técnica mundial contra la malaria 2016-2030. 2015.
18. Knudson-Ospina A, Barreto-Zorza YM, Castillo CF, Mosquera LY, Apráez-Ippolito G, Olaya-Másmela LA, et al. Estrategias para la eliminación de malaria: una perspectiva afro-colombiana. Rev Salud Pública. 2019 Jan 1;21(1):9–16.
19. Snounou G, Abdullah MS, Rahman HA, Singh B, Bobogare A, Cox-Singh J. A genus- and species-specific nested polymerase chain reaction malaria detection assay for epidemiologic studies. Am J Trop Med Hyg. 1999 Apr 1;60(4):687–92.
20. Cortés LJ, Guerra ÁP. Análisis de concordancia de tres pruebas para el diagnóstico de malaria en la población sintomática de los municipios endémicos de Colombia. Biomédica. 2020 Mar 1;40(1):117–28.
21. Feged-Rivadeneira A, Ángel A, González-Casabianca F, Rivera C. Malaria intensity in Colombia by regions and populations. Carvalho LH, editor. PLOS ONE. 2018 Sep 12;13(9):e0203673.
22. Instituto Nacional de Salud. Estadísticas de Vigilancia Rutinaria.
23. Ruiz SL, Valencia M. CONTEXTUALIZACIÓN DEL SUR DE LA AMAZONIA COLOMBIANA. :46.
24. Corpoamazonía. Amazonía. corpoamazonia.gov.co;
25. Knudson Ospina RA, Sánchez Pedraza R, Pérez Mazorra MA, Cortés Cortés LJ, Guerra Vega ÁP, Nicholls Orejuela RS. Perfil clínico y parasitológico de la malaria por

Plasmodium falciparum y *Plasmodium vivax* no complicada en Córdoba, Colombia. Rev Fac Med. 2015 Dec 10;63(4):595–607.

26. Vásquez AM, Tobón A. Mecanismos de patogenia en la malaria por *Plasmodium falciparum*. :15.

27. Ministerio de Salud y Protección Social. Guía protocolo para la vigilancia en salud pública de malaria. 2011.

28. Ministerio de Salud y Protección Social. Guía para la atención clínica integral del paciente con malaria. 2011.

29. Collins WE, Jeffery GM. *Plasmodium malariae*: Parasite and Disease. Clin Microbiol Rev. 2007 Oct;20(4):579–92.

30. Ministerio de Salud y Protección Social. Guía de tratamiento de malaria OMS, adopción Colombia. Organización Mundial de la Salud; 2020.

31. Organización Panamericana de la Salud. Plan estratégico nacional de malaria 2019-2022. 2020.

32. Departamento de Ciencias de la Vida y Biotecnología. Universidad Yachay Tech, Imbabura, Ecuador, Spencer LM, Universidad de Venezuela. Departamento de Biología Celular de la Universidad Simón Bolívar, Caracas-Venezuela, Gómez A, Universidad de Granada, España., Collovini E, et al. Mechanisms of invasion from sporozoite and merozoite of *Plasmodium*. Bionatura. 2016 Jun 15;1(2):89–94.

33. Fernández D, Segura C, Arboleda M, Garavito G, Blair S, Pabón A. *In Vitro* Susceptibility of *Plasmodium vivax* to Antimalarials in Colombia. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Nov;58(11):6354–9.

34. World Health Organization. Report on antimalarial drug efficacy, resistance and response: 10 years of surveillance (2010–2019) [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336692>

35. Mesa-Echeverry E, Niebles-Bolívar M, Tobón-Castaño A. Chloroquine–Primaquine Therapeutic Efficacy, Safety, and Plasma Levels in Patients with Uncomplicated *Plasmodium vivax* Malaria in a Colombian Pacific Region. Am J Trop Med Hyg. 2019 Jan 9;100(1):72–7.

36. Zuluaga-Idárraga L, Blair S, Akinyi Okoth S, Udhayakumar V, Marcet PL,

Escalante AA, et al. Prospective Study of Plasmodium vivax Malaria Recurrence after Radical Treatment with a Chloroquine-Primaquine Standard Regimen in Turbo, Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Aug;60(8):4610–9.

37. Commons RJ, Simpson JA, Thriemer K, Humphreys GS, Abreha T, Alemu SG, et al. The effect of chloroquine dose and primaquine on Plasmodium vivax recurrence: a WorldWide Antimalarial Resistance Network systematic review and individual patient pooled meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2018 Sep;18(9):1025–34.

38. Lacerda MVG, Llanos-Cuentas A, Krudsood S, Lon C, Saunders DL, Mohammed R, et al. Single-Dose Tafenoquine to Prevent Relapse of *Plasmodium vivax* Malaria. *N Engl J Med.* 2019 Jan 17;380(3):215–28.

39. World Health Organization. WHO technical brief for countries preparing malaria funding requests for the Global Fund (2020–2022) [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331760>

40. World Health Organization. Malaria surveillance, monitoring and evaluation: a reference manual [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018 [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272284>

41. Chu CS, White NJ. Management of relapsing *Plasmodium vivax* malaria. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2016 Oct 2;14(10):885–900.

42. Añez A, Moscoso M, Laguna Á, Garnica C, Melgar V, Cuba M, et al. Resistance of infection by Plasmodium vivax to chloroquine in Bolivia. *Malar J.* 2015 Dec;14(1):261.

43. Marques MM, Costa MRF, Santana Filho FS, Vieira JLF, Nascimento MTS, Brasil LW, et al. Plasmodium vivax Chloroquine Resistance and Anemia in the Western Brazilian Amazon. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Jan;58(1):342–7.

44. Silvino ACR, Kano FS, Costa MA, Fontes CJF, Soares IS, de Brito CFA, et al. Novel Insights into Plasmodium vivax Therapeutic Failure: CYP2D6 Activity and Time of Exposure to Malaria Modulate the Risk of Recurrence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020 Apr 21;64(5):e02056-19.

45. Gonçalves LA, Cravo P, Ferreira MU. Emerging Plasmodium vivax resistance to chloroquine in South America: an overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014 Aug;109(5):534–9.

46. Fernández D, Segura C, Arboleda M, Garavito G, Blair S, Pabón A. *In Vitro* Susceptibility of Plasmodium vivax to Antimalarials in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Nov;58(11):6354–9.
47. Chu CS, Phyo AP, Lwin KM, Win HH, San T, Aung AA, et al. Comparison of the Cumulative Efficacy and Safety of Chloroquine, Artesunate, and Chloroquine-Primaquine in Plasmodium vivax Malaria. *Clin Infect Dis*. 2018 Oct 30;67(10):1543–9.
48. Taylor WRJ, Thriemer K, von Seidlein L, Yuentrakul P, Assawariyathipat T, Assefa A, et al. Short-course primaquine for the radical cure of Plasmodium vivax malaria: a multicentre, randomised, placebo-controlled non-inferiority trial. *The Lancet*. 2019 Sep;394(10202):929–38.
49. Abdon NP, Pinto AY das N, Silva R do SU das, Souza JM de. Avaliação da resposta aos esquemas de tratamento reduzidos para malária vivax. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 Aug 1;34(4):343–8.
50. Bacon DJ, Alvarez C, Galvez M, Santolalla ML, Lescano AG, Arrospide N, et al. Efficacy of Three Different Regimens of Primaquine for the Prevention of Relapses of Plasmodium vivax Malaria in the Amazon Basin of Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 2014 Jul 2;91(1):18–26.
51. Carmona-Fonseca J, Maestre A. Prevention of Plasmodium vivax malaria recurrence: Efficacy of the standard total dose of primaquine administered over 3 days. *Acta Trop*. 2009 Nov;112(2):188–92.
52. Carmona-Fonseca J, Álvarez G, Blair S. Malaria por Plasmodium vivax: curación del ataque agudo con tres dosis diferentes de primaquina y dosis fija de cloroquina. Antioquia, Colombia, 2003-2004. *Biomédica*. 2006 Sep 1;26(3):353.
53. Osorio L, Pérez LDP, González IJ. Evaluación de la eficacia de los medicamentos antimaláricos en Tarapacá, Amazonas colombiano. *Biomédica*. 2007 Aug 26;27(1):133.
54. Carmona-Fonseca J, Uscátegui RM, Correa AM. Malaria vivax en niños: aspectos clínicos y respuesta a la cloroquina. *Colomb Médica*. 2008;39:14.
55. Rosa María Lam Díaz. Los términos: eficiencia, eficacia y efectividad ¿Son sinónimos en el área de la salud?
56. Cheoymang A, Ruenweerayut R, Muhamad P, Rungsihirunrat K, Na-Bangchang

K. Patients' adherence and clinical effectiveness of a 14-day course of primaquine when given with a 3-day chloroquine in patients with *Plasmodium vivax* at the Thai–Myanmar border. *Acta Trop.* 2015 Dec;152:151–6.

57. Poespoprodjo JR, Burdam FH, Candrawati F, Ley B, Meagher N, Kenangalem E, et al. Supervised versus unsupervised primaquine radical cure for the treatment of falciparum and vivax malaria in Papua, Indonesia: a cluster-randomised, controlled, open-label superiority trial. *Lancet Infect Dis.* 2022 Mar;22(3):367–76.

58. Douglas NM, Poespoprodjo JR, Patriani D, Malloy MJ, Kenangalem E, Sugiarto P, et al. Unsupervised primaquine for the treatment of *Plasmodium vivax* malaria relapses in southern Papua: A hospital-based cohort study. Garner P, editor. *PLOS Med.* 2017 Aug 29;14(8):e1002379.

59. Barber BE, William T, Grigg MJ, Yeo TW, Anstey NM. Limitations of microscopy to differentiate *Plasmodium* species in a region co-endemic for *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*. *Malar J.* 2013 Dec;12(1):8.

60. Ospina OL, Cortés LJ, Cucunubá ZM, Mendoza NM, Chaparro P. Caracterización de la Red Nacional de Diagnóstico de Malaria, Colombia, 2006-2010 [Characterization of the national malaria diagnostic network, Colombia, 2006-2010]. *Biomedica.* 2012 Mar;32 Suppl 1:46-59. Spanish. doi: 10.1590/S0120-41572012000500007. PMID: 23235814.

61. Organización Mundial de la Salud. Bases del Diagnóstico Microscópico del Paludismo. Parte 1 Guía Del Alumno, 2nd ed. Ginebra, 2014.

62. Greenwood BM, Armstrong JRM. Comparison of two simple methods for determining malaria parasite density. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991 Jan;85(2):186–8.

63. Parr JB, Verity R, Doctor SM, Janko M, Carey-Ewend K, Turman BJ, et al. *Pfhrp2*-deleted *Plasmodium falciparum* parasites in the Democratic Republic of Congo: A national cross-sectional survey. *J Infect Dis.* 2016 Nov 14;jjw538.

64. Organización Mundial de la Salud. Global Malaria Program. False-negative RDT results and implications of new reports of *P. falciparum* histidine-rich protein 2/3 gene deletions. 2016.

65. Mfuh KO, Achonduh-Atijegbe OA, Bekindaka ON, Esemu LF, Mbakop CD,

Gandhi K, et al. A comparison of thick-film microscopy, rapid diagnostic test, and polymerase chain reaction for accurate diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J.* 2019 Dec;18(1):73.

66. Vallejo AF, Chaparro PE, Benavides Y, Álvarez Á, Quintero JP, Padilla J, et al. High prevalence of sub-microscopic infections in Colombia. *Malar J.* 2015 Dec;14(1):201.

67. Vásquez AM, Zuluaga L, Tobón A, Posada M, Vélez G, González IJ, et al. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for screening malaria in peripheral and placental blood samples from pregnant women in Colombia. *Malar J.* 2018 Dec;17(1):262.

68. World Health Organization. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. 2009;85.

69. Rougemont M, Van Saanen M, Sahli R, Hinrikson HP, Bille J, Jatton 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.* 2004 Dec;42(12):5636–43.

70. Knudson Ospina RA, Sánchez Pedraza R, Pérez Mazorra MA, Cortés Cortés LJ, Guerra Vega ÁP, Nicholls Orejuela RS. Perfil clínico y parasitológico de la malaria por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* no complicada en Córdoba, Colombia. *Rev Fac Med.* 2015 Dec 10;63(4):595–607.

71. Londoño B, Carmona J, Blair S. Comparación de los métodos Optimal y gota gruesa para el diagnóstico de malaria en una zona endémica sin epidemia. *Biomédica.* 2002 Dec 1;22(4):466.

72. Prevalencia de malaria en Aguarico, comunidad de la Amazonía ecuatoriana. *Rev EUGENIO ESPEJO.* 2022 Jan 11;16(1):71–80.

73. Jaimes JR. Frecuencia de casos de Malaria y los factores contribuyentes en el distrito de Huepetuhe, Madre de Dios, Perú. :5.

74. Costa MRF, Vieira PPR, Ferreira C de O, Lacerda MVG de, Alecrim WD, Alecrim M das GC. Diagnóstico molecular da malária em uma unidade de atenção terciária na Amazônia Brasileira. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 Aug;41(4):381–5.

75. Bustamante-Chauca TP. Caracterización epidemiológica de la transmisión de la

malaria en comunidades indígenas del departamento de Amazonas. 2009 – 2019. Rev Cuerpo Méd HNAAA. 2020 Feb 26;12(4):325–31.

76. Prado CC, Alvarado-Cabrera LA, Camargo-Ayala PA, Garzón-Ospina D, Camargo M, Soto-De León SC, et al. Behavior and abundance of *Anopheles darlingi* in communities living in the Colombian Amazon riverside. Sullivan DJ, editor. PLOS ONE. 2019 Mar 7;14(3):e0213335.

77. De La Hoz F, Cruz J, Hall AJ, Alexander N, Prieto G, Arroyo JA, et al. CASE-CONTROL STUDY OF MOSQUITO NETS AGAINST MALARIA IN THE AMAZON REGION OF COLOMBIA. Am J Trop Med Hyg. 2005 Jul 1;73(1):140–8.

78. Cortés JA, Romero Moreno LF, Aguirre León CA, Pinzón Lozano L, Cuervo SI. Enfoque clínico del síndrome febril agudo en Colombia. Infectio [Internet]. 2017 Jan 20 [cited 2022 Oct 29];21(1). Available from: https://revistainfectio.org/P_OJS/index.php/infectio/article/view/640

79. World Health Organization. Compendium of WHO malaria guidance: prevention, diagnosis, treatment, surveillance and elimination [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [cited 2022 Oct 29]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312082>

80. Girod R, Gaborit P, Carinci R, Issaly J, Fouque F. *Anopheles darlingi* bionomics and transmission of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae* in Amerindian villages of the Upper-Maroni Amazonian forest, French Guiana. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008 Nov;103(7):702–10.

81. Gomes M do SM, Vieira JLF, Machado RLD, Nacher M, Stefani A, Musset L, et al. Efficacy in the treatment of malaria by *Plasmodium vivax* in Oiapoque, Brazil, on the border with French Guiana: the importance of control over external factors. Malar J. 2015 Dec;14(1):402.

82. White NJ. Anti-malarial drug effects on parasite dynamics in *vivax* malaria. Malar J. 2021 Dec;20(1):161.

83. Cáceres L, Rovira J, Torres R, García A, Calzada J, De La Cruz M. Caracterización de la transmisión de la malaria por *Plasmodium vivax* en la región fronteriza de Panamá con Costa Rica en el municipio de Barú, Panamá. Biomédica [Internet]. 2012 Jun 14 [cited 2022 Oct 30];32(4). Available from:

<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/773>

84. Secretaría de Salud Departamental. Informe epidemiológico de enfermedades transmitidas por vectores. 2021.