



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**FRECUENCIA DE *Plasmodium vivax* Y *P. falciparum* EN MUESTRAS  
PROVENIENTES DE PACIENTES MALÁRICOS. MUNICIPIO SIFONTES,  
ESTADO BOLÍVAR DURANTE LA SEMANA 15 DEL AÑO 2021**

**Trabajo de investigación presentado como requisito  
para aprobar la asignatura por:**

Geyskar Leal Goenaga  
C.I. N° 26.433.055

**Tutora Científica:**  
Dra. Flor Herrera

**Tutora Metodológica:**  
Dra. Daría Camacho

La Morita, julio de 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA  
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN




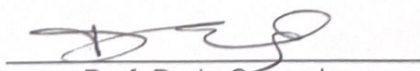
### VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: "***Frecuencia relativa de P. vivax y P. falciparum en muestras provenientes de pacientes maláricos en el Municipio Sifontes del estado Bolívar durante la semana 15 del 2021.***" presentado por la bachiller Geyskar Leal con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día martes catorce del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Profesora Daria Camacho.

Por otra parte, se hace constar para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.

  
Prof. Flor Herrera  
C.I.: 632632  
Tutora Científica

  
Prof. Juancarlos Salazar  
C.I.: 14652433  
Jurado Evaluador

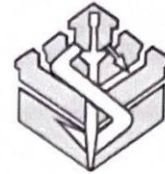
  
Prof. Daria Camacho  
C.I.: 9.831.961  
Coordinadora del Jurado



TI026-DC-2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Maracay, noviembre de 2023

#### CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE LA TUTORA CIENTIFICA

En nuestro carácter de Tutora Científica del Trabajo titulado: **FRECUENCIA DE *Plasmodium vivax* Y *P. falciparum* EN MUESTRAS PROVENIENTES DE PACIENTES MALÁRICOS. MUNICIPIO SIFONTES, ESTADO BOLÍVAR DURANTE LA SEMANA 15 DEL AÑO 2021**, el cual es presentado por la Bachiller: Geyskar Leal C.I 26.433.055, para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado asignado.

Dra. Flor Herrera

C.I. 632.632

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a Dios por su misericordia y por su presencia en cada momento a lo largo de este arduo camino, por no abandonarme en cada instante que dudé de mí misma y de mi capacidad de lograr alcanzar mis metas.

En segundo lugar, a mi familia, por ser los pilares de mi vida, por inculcarme la importancia de la educación, por su apoyo constante y sobretodo incondicional, a mi mamá, abuela, tío y hermana.

Al Biomed y quienes le dan vida, por abrirme las puertas y acogerme por días enteros durante meses, por brindarme conocimientos que de otra forma nunca hubiese adquirido, por enseñarme lo bonito de la ciencia y permitirme sentirme investigadora por primera vez.

A la profe Flor, le agradezco profundamente el hecho de que me haya abierto las puertas del laboratorio 4 y de permitirme trabajar con ella, su infinito conocimiento y su continuo apoyo en todo momento. A la profe Daría, por su dedicación, interés y conocimientos, no podría haber tenido mejores tutoras. A ambas les agradezco y les admiro como excelentes ejemplares de mujeres en la ciencia.

Al profe César, por brindarme la oportunidad de aprender de él, acompañarme en mis primeros pasos y enseñarme lo hermoso de la biología molecular. Igualmente a la profe Narviz, por ser quien me acompañó más tiempo, por su paciencia, apoyo y guía durante el desarrollo de la parte experimental.

A mis amistades y compañeros, por estar presentes y brindarme empatía y apoyo en los momentos más difíciles, solo ustedes entienden todo lo que ha costado.

Por último, a mí misma, por lograrlo; por no desfallecer, por esforzarme en aprender y perfeccionar cada detalle, por no querer decepcionar a nadie, por aguantar todo lo difícil sola.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivo General.....	14
Objetivos Específicos.....	14
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	15
Tipo de investigación.....	15
Población y muestra.....	15
Tipo de muestreo.....	15
Criterios de inclusión.....	15
Criterios de exclusión.....	16
Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	16
Consideraciones éticas.....	16
Procedimiento experimental.....	17
Análisis de los datos.....	20
<b>RESULTADOS</b> .....	21
<b>DISCUSION</b> .....	24
<b>CONCLUSIONES</b> .....	27
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	28
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	29
<b>ANEXOS</b> .....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ciclo de vida del <i>Plasmodium spp</i> .....	3
Figura 2. Especies de Malaria observadas en frotis de sangre periférica.....	6
Figura 3. Pruebas inmunocromatográficas.....	7
Figura 4. Verificación de ADN en gel de agarosa al 1%.....	21
Figura 5. Producto PCR de muestras positivas para <i>Plasmodium vivax</i> en gel de agarosa al 2%.....	22
Figura 6. Producto PCR de muestras positivas para <i>Plasmodium falciparum</i> , en gel de agarosa al 2%.....	22

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características de los cebadores para detección de <i>Plasmodium sp</i> .....	19
Tabla 2. Frecuencia de pacientes del municipio Sifontes, estado Bolívar que fueron identificados con <i>Plasmodium spp</i> empleando las técnicas PCR y gota gruesa.....	23

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
SEDE ARAGUA**

**FRECUENCIA DE *Plasmodium vivax* Y *P. falciparum* EN MUESTRAS  
PROVENIENTES DE PACIENTES MALÁRICOS. MUNICIPIO SIFONTES,  
ESTADO BOLÍVAR DURANTE LA SEMANA 15 DEL AÑO 2021**

**Bachiller: Geyskar Leal  
Tutora Científica: Dra. Flor Herrera  
Tutora Metodológica: Dra. Daría Camacho**

**Maracay, 14 de noviembre de 2023**

**RESUMEN**

La malaria o paludismo constituye una parasitosis de gran importancia que ha sido estudiada por décadas, que posee una amplia distribución mundial y es ocasionada por un protozooario del género *Plasmodium*, el cual incluye además un grupo de especies con patogenias y disposición geográfica variada. Dichas especies constituyen el agente causal de diversas endemias en zonas de distinta necesidad económica, donde a su vez, al año ocasiona millones de muertes en distintos continentes donde, además, afecta la situación socioeconómica de dichas regiones, por lo que constituye un problema general de salud pública. El objetivo de esta investigación fue determinar la frecuencia relativa de las especies de *Plasmodium* predominantes en Venezuela, *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, a través de la utilización de técnicas moleculares altamente sensibles y específicas, en muestras procedentes de la región endémica más importante del país, Tumeremo, estado Bolívar, donde existe una actividad de minería clandestina en auge, que ha aumentado los casos anuales y posibles subregistros. Se determinó que la frecuencia relativa de *P. vivax* con respecto a *P. falciparum*, es decir, la relación  $P. vivax/P. falciparum$ , fue 6,5 por PCR (78,78%/12,12%) y 5,2 (78,78%/15,15%) por gota gruesa; es decir 1,25 veces mayor en PCR. Ambos métodos establecen firmemente la presencia de *P. vivax* y/o *P. falciparum* en la localidad, así como la mayor prevalencia de *P. vivax*, siendo este el principal agente causal de malaria en la zona.

**Palabras clave:** Malaria, *Plasmodium*, endemia, prevalencia, PCR.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
SEDE ARAGUA

FRECUENCIA DE *P. VIVAX* Y *P. FALCIPARUM* EN MUESTRAS  
PROVENIENTES DE PACIENTES MALÁRICOS EN EL MUNICIPIO  
SIFONTES DEL ESTADO BOLÍVAR DURANTE LA SEMANA 15 DEL 2021

Bachiller: Geyskar Leal

Tutora Científica: Dra. Flor Herrera

Tutora Metodológica: Dra. Daría Camacho

Maracay, 14 de noviembre de 2023

ABSTRACT

Malaria is a parasitic disease of great importance that has been studied for decades, which has a wide global distribution and is caused by a protozoan of the genus *Plasmodium*, which also includes a group of species with varied pathogenesis and geographical disposition. These species constitute the causal agent of various endemics in areas of different economic needs, where yearly, cause millions of deaths on different continents, where, in addition, ends up affecting the socioeconomic situation of said regions, reason why it represent a general public health problem. The objective of this research was to determine the relative frequency of the predominant *Plasmodium* species in Venezuela, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*, through the use of highly sensitive and specific molecular techniques, in samples from the most important endemic region of the country. Tumeremo, Bolívar state, where there's booming clandestine mining activity, which has increased annual cases and possibly under-reporting them. It was determined that the relative frequency of *P. vivax* respecting to *P. falciparum*, that is, the *P. vivax*/*P. falciparum* ratio, was 6.5 by PCR (78.78%/12.12%) and 5.2 (78.78%/15.15%) by thick smear; that is, 1.25 times higher in PCR. Both methods firmly establish the presence of *P. vivax* and/or *P. falciparum* in the locality, as well as the higher prevalence of *P. vivax*, this being the main causal agent of malaria in the area.

**Keywords:** Malaria, *Plasmodium*, endemic, prevalence, PCR.

## INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo, es una enfermedad infecciosa endemoepidémica, causada por el parásito *Plasmodium* y transmitida por mosquitos del género *Anopheles*, que en la etapa adulta, y sólo en el caso de las hembras, actúa como vector (Sinka *et al.*, 2012). Esta enfermedad es uno de los principales problemas mundiales de salud pública, especialmente en países tropicales y subtropicales, debido fundamentalmente a su alta tasa de morbilidad, mortalidad general e infantil así como al impacto social y económico, especialmente en regiones empobrecidas (Herrador, 2021).

El género *Plasmodium* pertenece a la familia *Plasmodiidae*, y se conocen cuatro especies de relevancia clínica que causan enfermedad en el ser humano, a saber, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, con una diversidad genética que le confiere una capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero y de poseer especímenes resistentes a medicamentos y a vacunas (Jiménez *et al.*, 2005). Las especies *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale* son las causantes de episodios febriles terciarios benignos, la especie *Plasmodium malariae* de las fiebres cuartanas y la especie *Plasmodium falciparum* de episodios febriles terciarios malignos, siendo esta última el agente causal de la forma patológica más grave (Gething *et al.*, 2011).

Dentro de la sintomatología se reconocen procesos febriles, sudoración, escalofríos, anoxia y hemorragias petequiales, en los que se ven afectados principalmente los tejidos del cerebro, globos oculares, riñón, hígado, pulmón, tracto digestivo y glándulas suprarrenales. Estos síntomas, ocurren por la destrucción de los glóbulos rojos, debido a la maduración

intracelular del parásito (ciclo esquizogónico), lo cual priva al hospedero de oxígeno y afecta a la circulación por mecanismos hiperreactivos del sistema nervioso, como la vasoconstricción arteriolar y dilatación capilar (Tobón, 2009).

*Plasmodium* tiene un ciclo de vida que involucra dos hospederos, determinados por un mosquito hembra del género *Anopheles*, donde se desarrolla el ciclo sexual del parásito, y que actúa como transmisor del mismo, y un hospedero vertebrado, el ser humano, donde se desarrolla el ciclo asexual. El ciclo asexual comprende dos fases: una fase hepática y una eritrocítica, esta última es responsable de la sintomatología y complicaciones de la malaria (White *et al.*, 2014). Un vector infectado, inocula al torrente sanguíneo del hospedero vertebrado la forma haploide infectante conocida como esporozoíto, los cuales viajan hasta el hígado donde invaden los hepatocitos y se reproducen asexualmente por esquizogonia, liberando finalmente merozoítos que invaden los eritrocitos circulantes y dan inicio a la esquizogonia intraeritrocítica pasando por diferentes estadios llamados: anillo, trofozoíto y esquizonte (Ta *et al.*, 2014; Kitchen *et al.*, 2014).

La fase eritrocítica, según la especie, tarda entre 24 y 72 horas y se liberan nuevos merozoítos que invaden otros glóbulos rojos, diferenciándose algunos durante el ciclo intraeritrocítico a formas sexuales o gametocitos. Estos son ingeridos por el mosquito en cuyo intestino ocurre la fertilización con formación del cigoto, el cual luego se divide formando un ooquiste. De este último, se liberan los esporozoítos que migran a las glándulas salivales y en la próxima alimentación sanguínea del vector, los esporozoitos serán inoculados al hospedero (Spencer *et al.*, 2016). En detalle, según el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC,

2020), el ciclo de vida del *Plasmodium* puede describirse como se observa en la Figura 1.

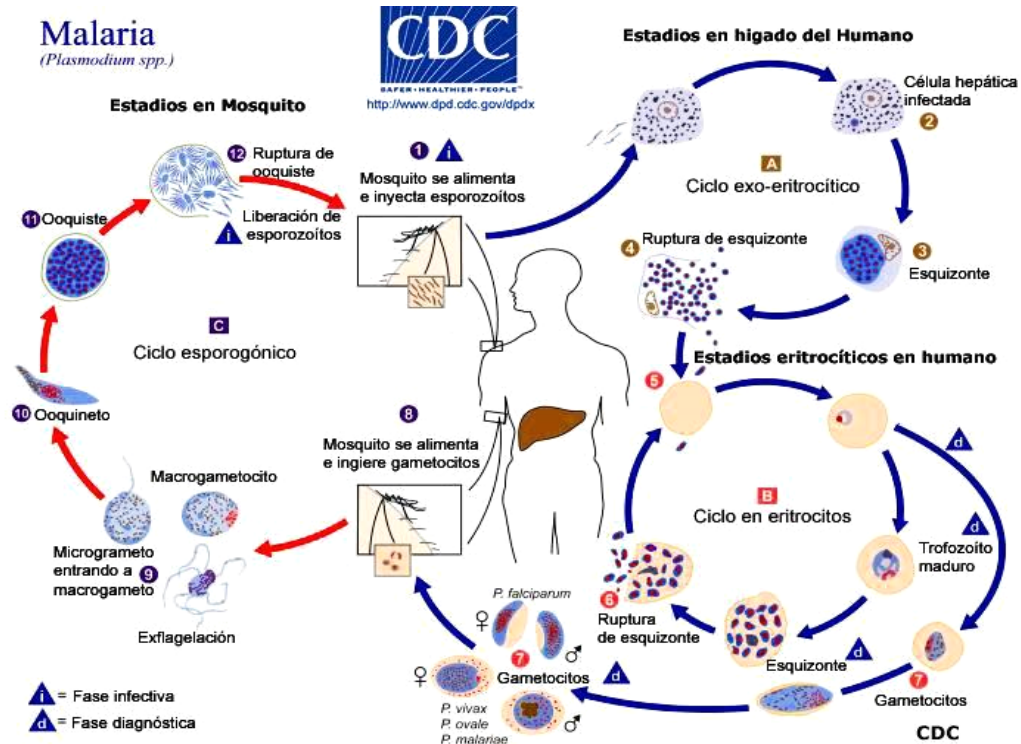


Figura 1. Ciclo de vida del *Plasmodium spp* (CDC, 2020)

Sinka *et al.* (2010), señalan al vector *Anopheles darlingi* como uno de los más eficaces en la región neotropical. La alteración ambiental humana puede crear hábitats favorables para este anofelino, ya que se reportaron mayores densidades en áreas deforestadas que en áreas predominantemente boscosas. Factores como las viviendas desprotegidas, presencia de criaderos cercanos a las viviendas, y características socioeconómicas, culturales, demográficas y epidemiológicas de la

población, están asociados con la transmisión de la malaria en regiones endémicas.

Navarro *et al.* (2015) también señalan que la especie *Anopheles darlingi* es el vector principal de la malaria en la región y que *Anopheles albitarsis*, complejo de especies dentro del cual se encuentra *Anopheles marajoara*, se podría incriminar como otro vector importante de la malaria en el estado Bolívar. La especie *Anopheles albitarsis* posee hábitats que concuerdan con los generados durante la explotación minera (Abou Orm *et al.*, 2017). Esto también fue observado en un estudio realizado por Cáceres *et al.* (2012), relacionado con la abundancia de vectores en zonas mineras para el año 2011, se registró que las especies más abundantes fueron *Anopheles marajoara* (60,7%) y *Anopheles darlingi* (35,1%), y ambos representaban el 95,8% del total de anofelinos colectados para el estudio.

Hay que considerar que debido a distintos factores, tales como los aspectos biológicos del hospedero humano, cambios en las políticas de control de los programas de malaria, cambios en el medio ambiente, el vector y el parásito y el desarrollo de resistencia a los insecticidas en poblaciones de anofelinos vectores, es posible que se originen brotes de malaria no sólo en áreas tradicionalmente palúdicas, sino también en zonas declaradas libres de la enfermedad (Rodríguez-Morales *et al.*, 2009; Cáceres *et al.*, 2012).

El diagnóstico parasitológico preciso de *Plasmodium* facilita el manejo adecuado de los pacientes con malaria, disminuyendo sus posibilidades de complicaciones y mortalidad. Este diagnóstico puede realizarse mediante microscopía óptica y las pruebas rápidas de diagnóstico (RDTs, del inglés *Rapid Diagnostic Tests*), considerado por algunos autores como un método ventajoso desde el punto de vista del costo y la eficiencia (Campuzano-Zuluaga y Blair-Trujillo, 2010), así como también se ha podido realizar el

diagnóstico a través de técnicas moleculares basados en la amplificación de fragmentos del ADN del parásito (Moody, 2002).

El examen parasitológico de carácter microscópico para la detección de la malaria, se hace por la técnica de gota gruesa y extendido de sangre, teñidos con los colorantes derivados del Romanowsky, tales como, Giemsa, Wright, Leishman y Field. Señalan los autores que en la sangre circulante pueden encontrarse las formas del ciclo eritrocítico, inclusive los gametocitos, a excepción de los esquizontes de *Plasmodium falciparum* que sólo entran a circular en casos graves de la enfermedad (Botero y Restrepo, 2012). Las características morfológicas de las especies de *Plasmodium* y las formas evolutivas presentes se pueden observar por microscopía (Fig. 2). Estas diferencias morfológicas presentes en las especies permiten realizar la diferenciación entre las mismas, sobre todo por técnicos microscopistas con experiencia. También, hay que hacer notar que, dicho diagnóstico tradicional presenta limitaciones en la sensibilidad y detección de infecciones mixtas, especialmente en las regiones de baja y moderada endemicidad.

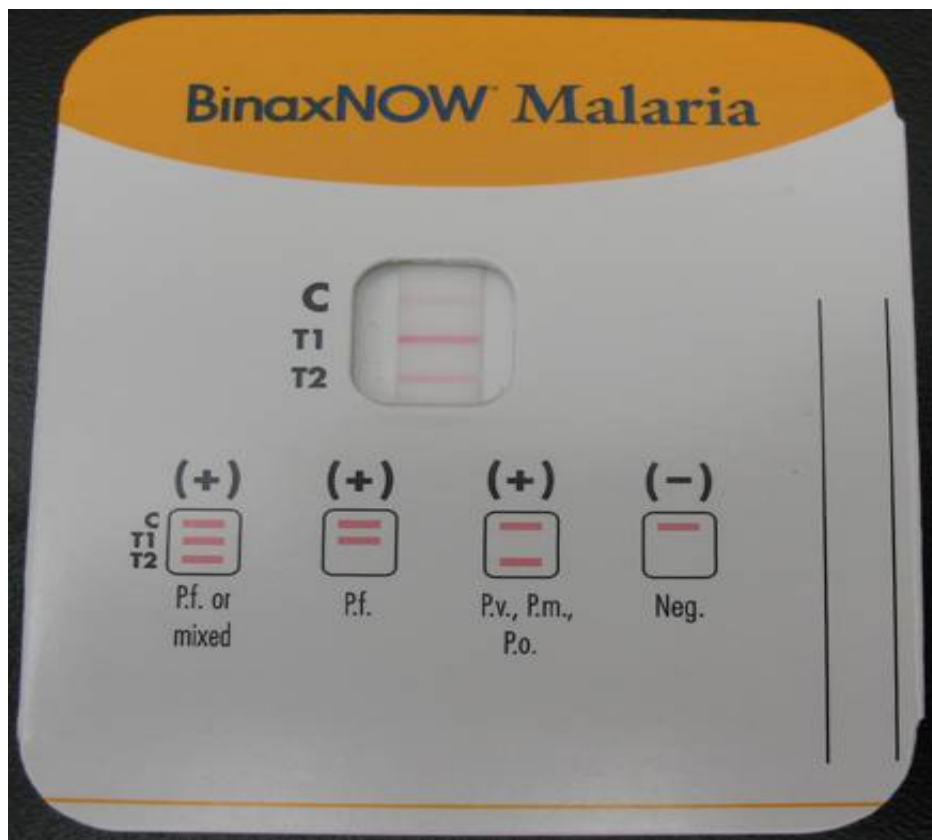
La infección puede manifestarse a través de la presencia de más de una especie en un mismo individuo, en este caso se está en presencia de una Infección mixta las cuales ocurren más frecuentemente con las especies *P. falciparum* y *P. vivax* (Sint et al. 2012). No obstante, la microscopía óptica presenta limitaciones para la detección de la infección mixta, debido a que usualmente una especie de *Plasmodium* predomina y no se logra detectar la especie presente en cantidad submicroscópica. Dichas limitaciones generan repercusiones para el tratamiento y el control de la malaria (Rios et al., 2019).

Lo anterior, puede deberse a que la parasitemia puede no ser detectable hasta varios días después de que el paciente comienza a presentar síntomas, especialmente si el umbral pirogénico del paciente es muy bajo para ser detectado por la técnica de gota gruesa (<100 parásitos/mL). Asimismo, en el caso de malaria por *Plasmodium falciparum* se debe considerar la posibilidad de no haber parasitemia detectable si la mayoría de parásitos se encuentran en estado maduro (trofozoítos y esquizontes) secuestrados en la microcirculación (Campuzano y Blair, 2010).

Species \ Stages	Ring	Trophozoite	Schizont	Gametocyte
<i>P. falciparum</i>				
<i>P. vivax</i>				
<i>P. malariae</i>				
<i>P. ovale</i>				
<i>P. knowlesi</i>				

**Figura 2.** Especies de Malaria observadas en frotis de sangre periférica. (Fuente: Poostchi *et al.*, 2018)

Las RDTs se vienen aplicando en varias áreas endémicas de malaria en el mundo, para contar con un diagnóstico rápido y, por tanto, dar un tratamiento adecuado y oportuno (Fig. 3). Actualmente hay disponibilidad de pruebas basadas en la detección de la deshidrogenada láctica (DHL) de *Plasmodium vivax* o de *Plasmodium falciparum* y otros que detectan antígenos del parásito (HRP-2) de estas mismas especies. Esta prueba, presenta mayor sensibilidad y especificidad en comparación a la gota gruesa, demostrando su eficacia como un método apropiado para el diagnóstico de la malaria (Botero y Restrepo, 2012).



**Figura 3. Pruebas inmunocromatográficas.** (Fuente: CDC, 2023)

No obstante, la capacidad de detectar el antígeno depende de su concentración en sangre y la carga de parásitos total; además, estos



métodos son pobres en la información que proveen sobre severidad y pronóstico, algunos no diferencian la especie de *Plasmodium* infectante, y la cuantificación de la parasitemia sigue siendo un problema con estos métodos. Además, su poca capacidad de discriminar parásitos viables de aquellos no viables, limita su uso para el seguimiento de los pacientes que han recibido tratamiento o para el diagnóstico de pacientes que han tomado medicación (Campuzano-Zuluaga, G. & Blair-Trujillo, 2010).

Igualmente, los dispositivos de inmunocromatografía que detectan la HRP-2 tienen poca utilidad para hacer seguimiento al tratamiento por persistencia del antígeno después de haberse iniciado el tratamiento y su sensibilidad disminuye con el paso de los días; también, en el caso de las cepas de *Plasmodium falciparum* que expresan variaciones de la proteína o que no produzcan la proteína en concentraciones detectables, esta prueba puede presentar reacción cruzada con el factor reumatoide (Pabón *et al.*, 2007).

Por otra parte, la técnica de PCR, consiste en una prueba de diagnóstico que permite detectar un fragmento del material genético de un patógeno, basándose en las características de estabilidad al calor de una enzima polimerasa (Bartlett y Stirling, 2003). Es una prueba muy sensible que permite detectar al parásito aún en concentraciones muy bajas, por lo tanto, es muy útil en muestras con parasitemias muy bajas. Asimismo, se puede diferenciar la especie del parásito muy eficientemente lo cual permite un tratamiento certero.

El diagnóstico oportuno y efectivo de la malaria es determinante para el tratamiento y control de la enfermedad, de manera que los métodos de

detección del parásito basados en la amplificación de ADN resultan una alternativa a este problema. En un estudio comparativo del diagnóstico microscópico mediante gota gruesa con una técnica de PCR, la correlación entre el diagnóstico microscópico y PCR es de un 90,4% (Abou Orm *et al.*, 2017).

Los métodos moleculares basados en la amplificación del ADN se han empleado desde finales de la década de los años 80 para el diagnóstico de la malaria y su valor, para el cual se han descrito diferentes secuencias blanco de amplificación y condiciones de reacción, radica en la alta sensibilidad, puesto que detecta de tres a cuatro parásitos por  $\mu\text{L}$  de sangre (0,0005% a 0,0015% de glóbulos rojos infectados) (Moody, 2002). Además, permite la diferenciación de las especies, cuando existen dificultades morfológicas o una infección mixta (Iqbal *et al.*, 1999).

La técnica PCR permite la identificación de cepas de *Plasmodium* con polimorfismos genéticos asociados a resistencia a fármacos antimaláricos, se puede realizar en muestras almacenadas por varias semanas, permitiendo así el envío a laboratorios especializados; el diagnóstico en pacientes con sospecha de malaria, pero con múltiples gotas gruesas negativas porque tienen parasitemias submicroscópicas; el diagnóstico en la sospecha de malaria mixta porque el paciente presenta falla terapéutica e igualmente el monitoreo de la respuesta al tratamiento en áreas con resistencia conocida a múltiples antimaláricos (Campuzano-Zuluaga, G. & Blair-Trujillo, 2010).

.Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023), los lactantes, los menores de 5 años, las mujeres embarazadas, los viajeros y las personas con VIH o SIDA son quienes corren mayor riesgo de sufrir una

infección grave de malaria. Durante los años pico de la pandemia de COVID-19 (2020-2021), se registraron aproximadamente unos 13 millones más de casos de paludismo y 63.000 muertes más por la enfermedad. No obstante, detalla la OMS que, en el año 2020, se registraron 245 millones de casos, mientras que para el año 2021 hubo 247 millones de casos a nivel mundial. Por otro lado, la carga de morbilidad en el año 2020 fue de 625.000 personas, mientras que en el año 2021 se estima que la enfermedad causó la muerte de 619.000 personas.

El estudio realizado por Louzada *et al.* (2020), reseña que, en el año 2018, en Boa Vista, estado de Roraima en Brasil, reportó 5.713 casos de los cuales 168 (3%) eran locales, 2.805 (49%) importados de otras localidades de Brasil y 2.740 (48%) de otros países, señalándose como el principal país responsable de dichos casos a Venezuela con 2.115 casos seguido por Guyana con 533 casos. En este sentido, el estudio también destacó que para el año 2018, los casos de infección por *Plasmodium falciparum* importados desde Venezuela y Guyana representaron el 80% de las notificaciones registradas en Boa Vista para esa especie. Los autores concluyeron que el origen de la malaria importada en la región estaba relacionado con la minería y no con el movimiento migratorio.

La transmisión malárica en Venezuela se ubica en tres áreas endémicas: foco oriental en los estados Monagas, Sucre, Anzoátegui y occidente de Delta Amacuro, el foco occidental en los estados Barinas, Mérida, Portuguesa, occidente de Apure, Yaracuy, Zulia, Trujillo y Táchira y el foco meridional en los estados Bolívar, Amazonas, Oriente y Sur de Delta Amacuro y Oriente de Apure (Angulo *et al.*, 2014). Por su parte, en el estado Bolívar existe una situación de minería clandestina que promueve la

eliminación de ambientes forestales y favorece la creación de hábitats para la reproducción del vector (Dirección General de Salud Ambiental, 2015).

Recientemente, se reportó un estudio retrospectivo en el estado Bolívar durante el período 2007-2017 en el cual evidenciaron que la incidencia de *Plasmodium* había aumentado considerablemente en pacientes con una proporción de *Plasmodium vivax* en 76% y *Plasmodium falciparum* en 18% en el 2017. La técnica empleada fue la visualización de las formas parasitarias por microscopía. También se consiguió que la transmisión era mayor en dos sitios “calientes” ubicados en el noreste y sur del estado (siendo el principal San Isidro del municipio Sifontes), asociados a la deforestación, necesaria para el trabajo en las minas, lo que da lugar a la creación de nuevos hábitats para el vector (Grillet *et al.*, 2021).

Por otra parte, Pacheco *et al.* (2019) realizaron un estudio en el municipio Sifontes del estado Bolívar durante la semana 50 del año 2016, en el cual evaluaron muestras mediante PCR, obtenidas de 352 pacientes que tenían síntomas de malaria. Los resultados indicaron una tasa de infección por malaria de 46% para pacientes sintomáticos. La mayoría (71%) de los pacientes maláricos eran hombres quienes trabajaban en minas. Los resultados también muestran que el número de casos positivos aumentó 10 veces en 4 años (2014-2017) y 3 veces en solo 1 año (de 2016 a 2017). Por lo tanto, la tendencia de aumento de los casos de malaria es muy alta. La especie *Plasmodium vivax* fue responsable del 62,3% de las infecciones, *Plasmodium falciparum* del 30,9% y especies mixtas del 6,8%.

Debido a las diferentes patologías que ocasionan *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*, las dos principales especies del estado Bolívar, que llevan a tratamientos diferentes, es necesario conocer la prevalencia de tales

especies usando técnicas muy sensibles y específicas como es la PCR (Abou *et al.*, 2017).

Los autores mencionados propusieron varias razones que podrían explicar el aumento de la prevalencia de malaria en el estado Bolívar; entre estas se encuentran medicamentos antipalúdicos insuficientes, resistencia a los medicamentos antipalúdicos, aumento en los hábitats de reproducción de mosquitos y aumento de vectores secundarios de transmisión de la malaria atribuibles a la deforestación por actividades mineras.

Otro trabajo realizado en una muestra de 244 habitantes con síntomas maláricos de las comunidades indígenas del Bajo Caura, municipios Sucre y Cedeño, estado Bolívar, durante el periodo comprendido entre el año 2015 y el año 2016, se encontró una tasa de infección por malaria de 7% y las especies maláricas identificadas fueron: *Plasmodium vivax* con una frecuencia de 77,8% (14/17) y *Plasmodium falciparum* con 22,2% (Barrada *et al.*, 2019). La técnica empleada fue la visualización de las formas parasitarias por microscopía. Las diferencias halladas con respecto a la tasa de infección y prevalencias de las especies, podría deberse a diferencias entre las localidades estudiadas y a la técnica empleada para detectar la presencia del parásito.

Por otro lado, para el año 2015 se reportaron 136.402 casos de malaria en el foco noreste del país, donde el 73,95% lo representó *Plasmodium vivax*, el 17,6% para *Plasmodium falciparum*, 0,03% para *Plasmodium malariae* y 8,42% para infecciones mixtas (*Plasmodium vivax* + *Plasmodium falciparum*) (Wide *et al.*, 2016). Este estudio, usó la prueba rápida de diagnóstico para malaria (PRDxm) para la determinación de

antígenemia (OptiMAL®) y la técnica de biología molecular basada en la PCR, la Gota Gruesa y Extendido de Sangre (GGES). En tal sentido, el estudio encontró una prevalencia de infección de 1,33% por GGES y por prueba rápida de diagnóstico OptiMAL® y 8% mediante PCR. Los autores señalan que la técnica de PCR les permitió la detección de 10 casos asintomáticos con una sensibilidad y especificidad del 100% y 93,4% respectivamente.

El conocimiento de las frecuencias en un determinado período, de *P. vivax* y *P. falciparum* en pacientes maláricos del municipio Sifontes (municipio con el mayor número de casos) del estado Bolívar, es vital para el Programa de Malaria en su etapa de vigilancia porque daría una información del posible riesgo al que están sometidos la población a la malaria, sobre todo por *P. falciparum* la cual puede ser fatal. Además, es muy importante tener este conocimiento porque se tomarían decisiones más acertadas en cuanto a las medidas de prevención y a la atención médica de los pacientes o de una población.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Establecer la frecuencia de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en muestras provenientes de pacientes maláricos en el municipio Sifontes del estado Bolívar, durante la semana 15 del año 2021 analizadas mediante la técnica de PCR.

### **Objetivos específicos**

Determinar el porcentaje de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en pacientes maláricos el Municipio Sifontes, durante la semana 15 del año 2021.

Comparar los resultados de la detección de las especies obtenidos por PCR con los obtenidos por el método de Gota Gruesa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Tipo de Investigación**

Se realizó un estudio de tipo cuantitativo, con un diseño de campo, de corte transversal y de alcance descriptivo.

### **Población y muestra**

Se colectaron 96 muestras sanguíneas a pacientes con sospecha clínica de padecer paludismo en Tumeremo, municipio Sifontes, estado Bolívar, región que representa el foco más grande de malaria en el país; específicamente en el Centro de Investigaciones de Campo “Dr. Francesco Vitanza”, donde llegan los individuos con sospecha de padecer malaria de todo el estado, principalmente de las minas. La colecta se realizó desde el 12 al 16 de abril de 2021.

Del total de muestras colectadas, se consideraron 33 para el estudio, tomando en cuenta el diagnóstico positivo de malaria a través de microscopía óptica.

### **Tipo de muestreo**

No probabilístico de tipo intencional, ya que las muestras seleccionadas cumplieron con los criterios que se mencionan a continuación.

### **Criterios de inclusión**

- Pacientes residentes de Tumeremo en el municipio Sifontes del estado Bolívar.



- Pacientes que presenten sintomatología y diagnóstico de malaria positivo realizado a través de microscopía óptica, que accedan a participar en el estudio.

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes que no presenten sintomatología característica de malaria.
- Pacientes que no hayan obtenido un diagnóstico de malaria positivo a través de microscopía óptica.

### **Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Previo llenado de ficha epidemiológica, a los distintos pacientes, se les colectaron 5 mL de sangre y se les realizó el diagnóstico por gota gruesa. Las 33 muestras que resultaron positivas a la infección, fueron trasladadas al BIOMED-UC en Maracay, para llevar a cabo los estudios moleculares.

### **Consideraciones éticas**

El proyecto de investigación obtuvo el Aval del Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” de la Universidad de Carabobo (BIOMED-UC) (Anexo 1). Una vez identificados los pacientes que formaron parte del estudio, se les informó a ellos y a sus acompañantes del procedimiento a seguir durante la investigación, la aplicación del estudio, los objetivos a alcanzar y se obtuvo su consentimiento conservando el anonimato de los participantes del mismo. Los resultados fueron de uso académico y epidemiológico exclusivamente.

## Procedimiento experimental

### Extracción de ADN

El aislamiento de ADN del parásito se realizó mediante extracción con solventes orgánicos según la técnica de Fenol-Cloroformo-Alcohol isoamílico y precipitación con etanol (Rivero *et al.*, 2004). La sangre del paciente fue centrifugada a 4.000 rpm por 8 minutos para resuspender el precipitado enriquecido con glóbulos rojos, en 400  $\mu$ L de tampón (Tris 0,05 M, pH 8; EDTA 0,05 M; NaCl 0,1 M y 1% de SDS) y proteinasa K 0,2  $\mu$ g/ $\mu$ L; luego, se incubó cada muestra en baño María a 55°C por 1 hora. Posteriormente, se le agregó 300  $\mu$ L de fenol tamponado, pH 8, el cual se agitó por inversión y centrifugó a 6.200 x g por 5 min; luego se trasladó el sobrenadante a un microtubo nuevo y se añadió 300  $\mu$ L de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico en una proporción 25:24:1, se homogenizó la mezcla por inversión y se centrifugó a 6.200 x g por 5 min, lo cual separó la fase acuosa en un microtubo estéril al cual se le agregaron 300  $\mu$ L de cloroformo, se centrifugó nuevamente y el sobrenadante obtenido se llevó a un microtubo estéril para luego precipitar con dos volúmenes de isopropanol al 100% más 50 $\mu$ L de NaCl 5M, el cual se dejó a -20°C toda la noche. Posteriormente, se centrifugó a 18.800 x g por 15 min y se realizó el lavado del precipitado con 800  $\mu$ L de isopropanol al 70%, se centrifugó nuevamente a 18.800 x g por 15 min y se procedió a secar el precipitado en un concentrador de ADN (Speed Vac Thermo Savant DNA 120). Se resuspendió el ADN obtenido con 100  $\mu$ L de agua destilada libre de nucleasas estéril y se le adicionó 0,1  $\mu$ g/ $\mu$ L de ARNasa (Promega). Se incubó la muestra a 65°C por 10 min, luego se dejó en reposo por 10 min y se conservó a -20°C hasta su uso.

La integridad del ADN extraído de cada muestra se evaluó mediante una electroforesis en tampón Tris Borato EDTA (TBE) (Tris 0,089 M; ácido

bórico 0,089 M y EDTA 0,002 M) a un voltaje de 100 V por 50 min en un gel de agarosa al 1%, donde las muestras de ADN se añadieron en cada pozo con tampón de carga (xilen–cianol al 0,02%, azul de bromofenol al 0,02 % en glicerol al 50%) y SYBR® Green I (1X). Si el ADN está íntegro debe migrar en una banda de aproximadamente 20 kb sin degradación. Finalmente, se observaron y fotodocumentaron las bandas en un equipo BIO RAD Molecular Imager® Gel DOC™XR+ utilizando el Software de análisis de imagen Image Lab™ Software Versión 3.0, suministrado por el mismo fabricante.

### **Amplificación de fragmentos nucleotídicos correspondientes a *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum***

La detección de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* se llevó a cabo usando cebadores específicos para una región del ADN codificante del ARN ribosomal del género *Plasmodium* (rPLU6 y rPLU5) y para cada especie: *Plasmodium falciparum* (rFAL1 y rFAL2), *Plasmodium vivax* (rVIV1 y rVIV2) (Snounou *et al.*, 1993). Las características de los cebadores se especifican en la Tabla 1, ubicando su especificidad y tamaño del producto de amplificación.

**Tabla 1.** Características de los cebadores para detección de *Plasmodium sp.* empleados por Snounou *et al.* (1993)

Cebador	Secuencia (5' a 3')	Especificidad	Tamaño del producto (pb)
rPLU5	CCTGTTGTTGCCTTAACTTC	<i>Plasmodium</i>	1200
rPLU6	TTAAAATTGTTGCAGTTAAAACG		
rFAL1	TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAATATATT	<i>P. falciparum</i>	205
rFAL2	ACACAATGAACTCAATCATGACTACCCGTC		
rVIV1	CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC	<i>P. vivax</i>	120
rVIV2	ACTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAGTCCTTA		

Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen final de 25 µL con 20 ng/µL de concentración final de ADN, en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc., Watertown, MA). Los controles negativos (todos los reactivos excepto el ADN molde) se colocaron para detectar alguna posible contaminación.

No se usaron cebadores específicos para detectar *P. malariae*, por lo tanto, en dos de las infecciones mixtas por gota gruesa que tenían *P. malariae*, se excluyó este parásito y solo se tomaron en cuenta los otros que correspondieron uno a *P. vivax* y otro a *P. falciparum*.

### **Electroforesis en gel de agarosa**

Los productos amplificados se verificaron mediante electroforesis, la cual es una técnica que permite la separación de fragmentos de ADN y ARN

en función de su tamaño y su visualización mediante una tinción; de esta forma se puede determinar el contenido de ácidos nucleicos de una muestra, y se obtiene una estimación de su integridad y grado de pureza (Fierro *et al*, 2014). En todas las PCR realizadas se hizo un control negativo de reacción conformado sólo por los reactivos sin muestra y controles positivos constituido por ADN extraído a partir de muestras sanguíneas obtenidas de pacientes y que resultaron positivas para infecciones por cada parásito mediante pruebas de gota gruesa realizadas, de manera independiente, por dos microscopistas especializados en el Centro de Investigaciones de Campo Dr. Francesco Vitanza.

La electroforesis se realizó en geles de agarosa al 2% teñidos con SYBR®Green I con un marcador molecular de 100 pares de bases (100 pb DNA LADDER PROMEGA®) y se visualizaron en un equipo de fotodocumentación BIO RAD Molecular Imager® Gel DOC™XR+ utilizando el Software de análisis de imagen Image Lab™ Software Versión 3.0 suministrado por el mismo fabricante.

### **Análisis de los datos**

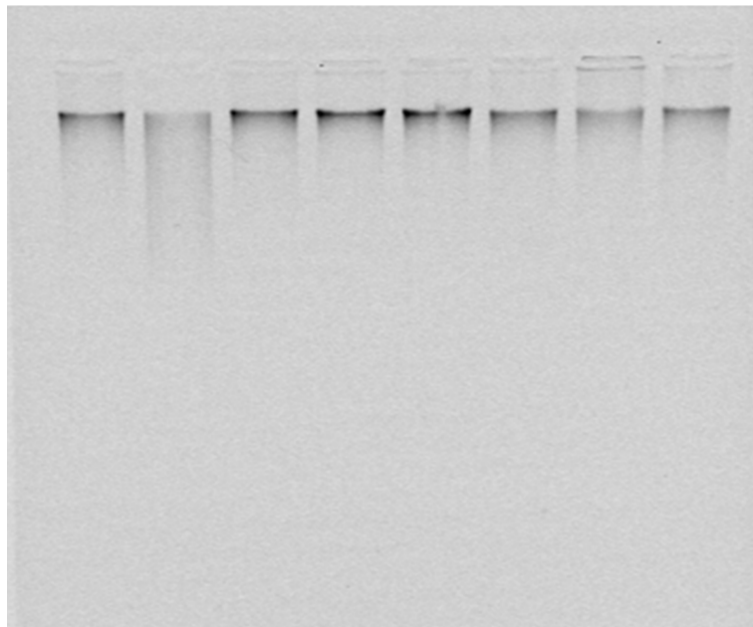
Los datos obtenidos se registraron y procesaron en el programa Microsoft Excel®. Se calcularon las distribuciones de frecuencias absolutas y relativas para los resultados de las pruebas de identificación de especies causantes de la malaria.

## RESULTADOS

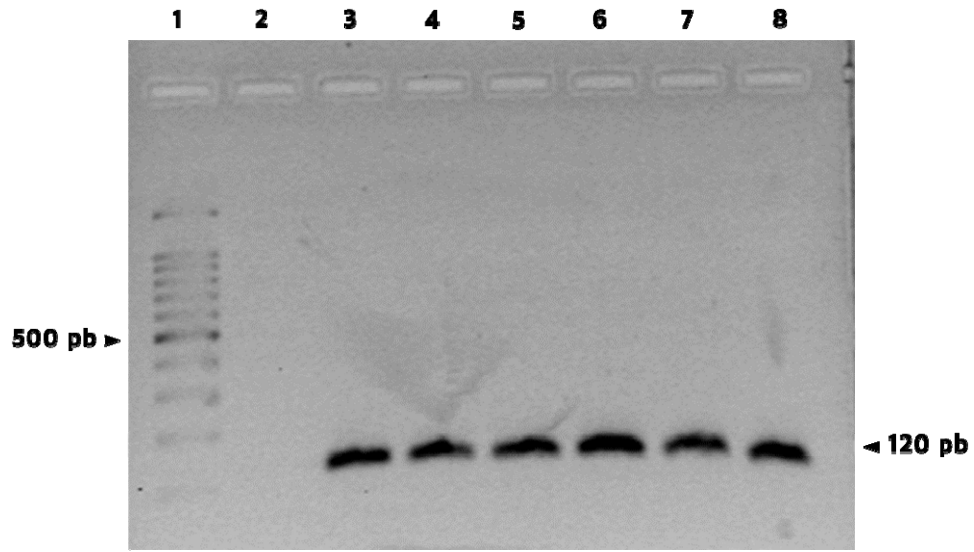
Se extrajo el ADN de las muestras de los pacientes provenientes del municipio Sifontes del estado Bolívar durante la semana 15 del año 2021. La relación  $A_{260/280}$  del ADN extraído de cada una de las 33 muestras fue de  $\approx 1,9$  y en promedio se obtuvo una concentración de  $100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ . El 95% de las muestras demostraron una buena integridad del ADN ya que se observó una sola banda sin degradación de la macromolécula (Figura 4).

Seguidamente, se identificaron las muestras infectadas por *P. vivax* y/o *P. falciparum* mediante dos ensayos de PCR realizados a cada una de las muestras. Uno de los ensayos amplificaba una región génica específica para *P. vivax* (Figura 5) y en el otro una para *P. falciparum* (Figura 6).

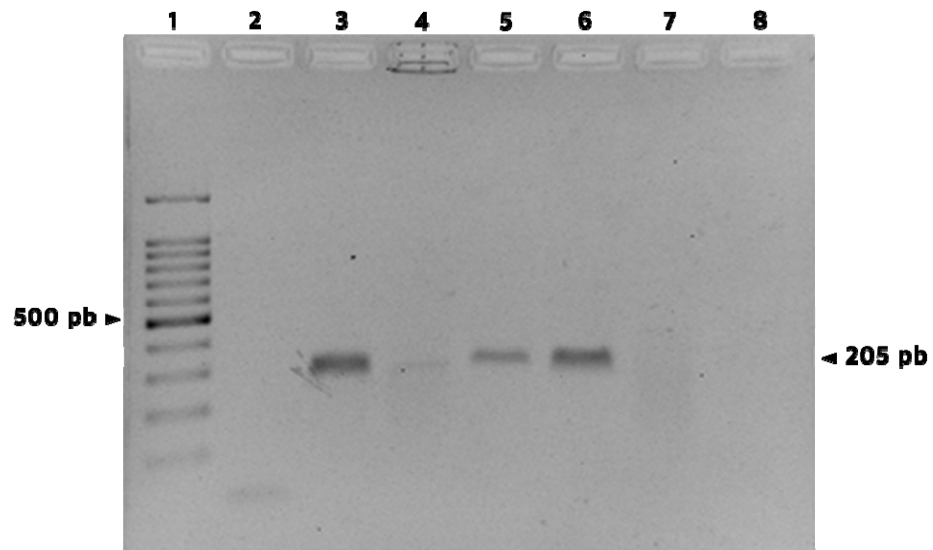
Los resultados obtenidos relacionados con la positividad de las muestras se presentan en la Tabla 2. Cuando se comparan los resultados por ambos métodos se observó que la PCR no detectó infecciones mixtas.



**Figura 4.** Verificación de ADN en gel de agarosa al 1%.



**Figura 5.** Producto PCR de muestras positivas para *Plasmodium vivax* en gel de agarosa al 2%. Carril 1: marcador de 100 pb DNA LADDER PROMEGA®; carril 2: control negativo; carril 3: control positivo de *Plasmodium vivax*; carriles 4-8: muestras 028, 029, 030, 032, 033



**Figura 6.** Producto PCR de muestras positivas para *Plasmodium falciparum*, en gel de agarosa al 2%. Carril 1: marcador de 100 pb DNA LADDER PROMEGA®; Carril 2: control negativo; carril 3: control positivo de *Plasmodium falciparum*; carriles 4-6: muestras 007, 012, 014

**Tabla 2.** Frecuencia de pacientes del municipio Sifontes, estado Bolívar que fueron identificados con *Plasmodium* spp empleando las técnicas PCR y gota gruesa.

<b>Técnica diagnóstica</b>	<b><i>P. vivax</i> N(%)</b>	<b><i>P. falciparum</i> N(%)</b>	<b>*Mixtas N(%)</b>	<b>Negativas N(%)</b>
<b>PCR</b>	26 (78,78)	4 (12,12)	0	3 (9,09)
<b>Gota gruesa</b>	26 (78,78)	5 (15,15)	2 (6,06)	0

\**P. vivax* + *P. falciparum*

La frecuencia relativa de *P. vivax* con respecto a *P. falciparum*, esto es, la relación  $P. vivax/P. falciparum$ , fue 6,5 por PCR (78,78%/12,12%) y 5,2 (78,78%/15,15%) por gota gruesa; es decir 1,25 veces mayor en PCR.



## DISCUSIÓN

La mayor frecuencia relativa de PCR con respecto a la gota gruesa se debe a que el número de casos de *P. falciparum* por PCR fue 3 puntos porcentuales menor que el obtenido por la gota gruesa, realizado de forma rutinaria por las microscopistas de la Dirección de Epidemiología del estado Bolívar en Tumeremo.

La técnica usada en este estudio fue previamente puesta a punto en el laboratorio, obteniéndose una especificidad y sensibilidad, en comparación con el método de referencia, de 100 y 97%, respectivamente y el grado de acuerdo entre ambas pruebas ( $\kappa$ ) fue de 0,8355 (IC95= 0,7197-0,9513), dando un porcentaje de concordancia entre la PCR múltiple y el examen microscópico mediante gota gruesa de 90,4%, lo cual indica que la concordancia en los resultados obtenidos mediante ambas pruebas es óptimo (Abou Orm *et al.*, 2017). En este último trabajo y en otros se ha concluido que la prueba de PCR es más sensible que la de la gota gruesa (Cortés *et al.*, 2020). Por esta razón, la discrepancia obtenida entre los resultados podría explicarse por errores en el diagnóstico por microscopía, óptica ya sea por bajas parasitemias o que haya ocurrido degradación de la morfología del parásito o problemas de coloración que promueva la observación de artefactos que se pudieran confundir con formas parasitarias por parte de los microscopistas.

Al analizar el resultado obtenido por PCR se observa que hubo cuatro muestras negativas y ninguna mixta; por el contrario, la detección por gota gruesa evidenció cuatro mixtas y ninguna negativa. Tres de las muestras negativas por PCR fueron reportadas por gota gruesa como *P. falciparum* y 1 mixta (*P. falciparum* + *P. vivax*). Aparentemente, hubo una confusión (4/33 x

100 = 12%) en la detección de formas parasitarias por microscopía, sobre todo para *P. falciparum*. Si se analiza, similarmente, a las muestras mixtas halladas por microscopía, se observa que dos tuvieron *P. malariae* como uno de los parásitos y por PCR no se detectaron (no se tenían los cebadores específicos para esta especie), lo cual significa que las formas parasitarias de *P. malariae* no son fáciles de visualizar inequívocamente.

Un punto importante de este estudio es que, a pesar de las discrepancias en los resultados entre los métodos de prueba, ambos métodos establecen firmemente la presencia de *P. vivax* y/o *P. falciparum* en los pacientes maláricos del Municipio Sifontes, así como la mayor prevalencia de *P. vivax* con respecto al *P. falciparum*. Esto significa que *P. vivax* es el principal agente causal de la malaria en la zona.

Los datos reportados por la Dirección Regional de Salud Ambiental del estado Bolívar, en el Boletín de Epidemiología del Ministerio del Poder Popular para la Salud (2021) desde la semana epidemiológica número 1 a la número 52 del año 2021 fueron los siguientes: un total de 171.056 casos de malaria en dicho estado, de los cuales 25.097 casos provenían del municipio Sifontes. De estos últimos, 18.907 correspondieron a infecciones ocasionadas por *P. vivax* y 5.233 de *P. falciparum* lo cual representa el 75,33% y el 20,85% de todos los casos, respectivamente y se reportó un caso de *P. malariae*, representando el 0,003%. Las infecciones mixtas fueron un total de 956 casos, es decir el 3,80%

De aquí se desprende que la especie predominante en el año 2021 fue la *P. vivax*, similar a la encontrada en los resultados presentados aquí. Sin embargo, la relación entre *P. vivax*/*P. falciparum* (3,61) fue menor a la encontrada en ambas pruebas comparadas en este estudio, lo cual se debió,

fundamentalmente, a la mayor frecuencia de *P. falciparum* reportada durante todo el año 2021. Es de hacer notar que sólo se informó de una infección por *P. malariae* en 25.097 casos reportados ese mismo año, mientras que en las 33 muestras habría habido dos casos de este parásito en muestras mixtas, lo cual fortalece la idea que *P. malariae* es difícil visibilizar y genera dudas acerca de los resultados hallados de este parásito por gota gruesa, en las muestras usadas en este estudio.

Los métodos parasitológicos directos siguen siendo la primera opción diagnóstica en las zonas endémicas debido a su bajo costo, facilidad y rapidez en su realización que, junto con la clínica del paciente, brindan información necesaria para el diagnóstico y la aplicación del tratamiento correcto. Ahora bien, los estudios moleculares brindan la oportunidad de monitorear y detectar fallas que puedan existir en el proceso de diagnóstico a través de la técnica microscópica, y que permita la corrección de las mismas, sobre todo humanas, a través del reentrenamiento del personal con microscopistas muy experimentados. Por ello es necesario realizar periódicamente estas comparaciones entre los métodos para corroborar que los resultados ofrezcan información de la situación de la malaria en el país, lo más cercana a la realidad (Galvis *et al.*, 2014).

## CONCLUSIONES

- El porcentaje de *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* en pacientes maláricos el Municipio Sifontes, durante la semana 15 del año 2021 fue de 78,78 y 12,12 respectivamente.
- La frecuencia relativa de *P. vivax* con respecto a *P. falciparum*, fue mayor por PCR que por gota gruesa en las muestras analizadas en Tumeremo, para la semana 15 del año 2021.
- Los resultados obtenidos coinciden plenamente con los datos epidemiológicos de la región en cuanto a la especie predominante que fue *P. vivax*, aunque la frecuencia relativa de *P. vivax* con respecto a *P. falciparum* fue menor a la obtenida por PCR.

## RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos adicionales en los que se incremente el número de muestras, en diferentes semanas epidemiológicas, así como la incorporación de cebadores específicos para otras especies menos prevalentes pero que se han reportado presentes en las regiones endémicas, con el propósito de aumentar la especificidad y, posiblemente, detectar subregistros de casos.
- Realizar ensayos con muestras provenientes de otras zonas endémicas para evaluar la distribución de los parásitos.
- Usar la PCR para tratar de detectar la presencia de parásitos en pacientes que no presenten un diagnóstico confirmado de malaria y comparar con los datos epidemiológicos proporcionados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abou Orm, S., Moreno, J. E., Carrozza, M., Acevedo, P., & Herrera, F. (2017). Tasas de infección de *Plasmodium* spp. para algunos *Anopheles* spp. del municipio Sifontes, Estado Bolívar, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 57(1), 17-25.

Angulo, A. G., De Pablos, E., Navarro, P., Haro, Y., de la Parte, M. A., & Chacón, N. (2014). Paludismo, Endemia Rural Venezolana del Pasado y del Presente. [Artículo en línea] *Informe Médico* 16(2), 51-58.

Disponible

en:

[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[libre.pdf?1417788910=&response-content-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo\\_Endemia\\_Rural\\_Vene-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[zolana\\_del\\_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsB](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[ozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[Sdop5iHqPO26~6uD-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34H](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[ymN1CugQhn-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpP](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[d~K6DjIERsvbDEey0~dx3A\\_\\_&Key-Pair-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

[Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35836828/Paludismo-libre.pdf?1417788910=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPaludismo_Endemia_Rural_Venezolana_del_P.pdf&Expires=1690167881&Signature=dB78oT1ig8uYsBozDEfmxDfF7U0K2WKDYtKHuUDra2EA1~bmQQbHabDBeJPL0Yge6A3y-bq5knQhrk1Mwl2umuWpxclrGq-GnyA0FcwJ7wR3yMaAWqn6aG4wcZaNA0u-KS~pQOaKXORH0I1BFStZbjgwBQha~9zAc~0GadP28XXGZQjeXP3Sdop5iHqPO26~6uD-Nlt553hjNTQvylnY7K6N2mFPImNFKX9la63q2rX2giVgPgEj7nSTn34HymN1CugQhn-NTpil3q~530hV2KILM4CAhdYGDrc6tfNu7XrmwfWAzg3b5zJVlpHLpPld~K6DjIERsvbDEey0~dx3A__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA) [Consulta: julio 12, 2023]

Barrada, Y., Castillo, P., Mata Orozco, M., Rojas, G., Mejía, R., Pérez Ybarra, L., Ortega Rondón, R. (2019). Malaria en indígenas del Bajo Caura, municipios Sucre y Cedeño, estado Bolívar, Venezuela. [En línea] *Revista Venezolana De Salud Pública*, 7(1), 17-25. Disponible en:

<https://revistas.uclave.org/index.php/rvsp/article/view/2184> [Consulta: mayo 3, 2022]

Bartlett, J. & Stirling, D. (2003). A Short History of the Polymerase Chain Reaction. [En línea] PCR Protocols. Methods in Molecular Biology. Vol. 226. DOI: <https://doi.org/10.1385/1-59259-384-4:3> [Consulta: junio 16, 2022]

Botero, D. & Restrepo, M. (2012). Parasitología humana. 5ta edición. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB).

Campuzano Zuluaga, G. & Blair Trujillo, S. (2010). Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. [En línea] Medicina & Laboratorio. Vol. 16 N° 81. Editora Médica Colombiana S.A. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl107-8b.pdf> [Consulta: junio 17, 2022]

Cáceres, L., De La Cruz, M., Torres, R., García, A., Calzada, J. & Rovira, J. (2012). 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. [En línea] Biomédica, Vol. 32, N°4. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84324951011> [Consulta: junio 17, 2022]

Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. (2023). Pruebas de Diagnóstico de Malaria. [Artículo en línea]. Disponible en: [https://www.cdc.gov/malaria/diagnosis\\_treatment/diagnostic\\_tools.html](https://www.cdc.gov/malaria/diagnosis_treatment/diagnostic_tools.html) [Consulta: julio 2, 2023]

Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. (2020). Ciclo de Vida de la Malaria [Artículo en línea]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/> [Consulta: junio 2, 2022]

- Cortés, L. J., & Guerra, Á. P. (2020). Análisis de concordancia de tres pruebas para el diagnóstico de malaria en la población sintomática de los municipios endémicos de Colombia. *Biomédica*, 40(1), 117-128.
- Dirección General de Salud Ambiental (2015) Ministerio del poder popular para la salud. [En línea] Disponible: [https://www.paho.org/es/file/40808/download?token=o89f\\_gxX](https://www.paho.org/es/file/40808/download?token=o89f_gxX)
- Dirección General de Salud Ambiental (2021) Ministerio del poder popular para la salud. Boletín de Epidemiología.
- Fierro, F. F. (2014). Electroforesis de ADN. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*, 27.
- Galvis, F. S., Hernández, M. C., & Quintero, F. A. (2014). Comparación de la PCR anidada y PCR convencional en el diagnóstico de Plasmodium vivax y P. falciparum. *BISTUA REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS*, 11(1), 21-28.
- Gething, P., Patil, A., Smith, D., Guerra, C., Elyazar, I., Johnston, J., Tatem, J. & Hay, S. (2011). A new world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2010. *Malaria journal [Revista en línea]*10(1), 1-16. Disponible: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-10-378#citeas> [Consulta: marzo 15, 2022] ODI: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-378>
- Grillet, M. E., Moreno, J. E., Hernández-Villena, J. V., Vincenti-González, M. F., Noya, O., Tami, A. & Conn, J. E. (2021). Malaria in Southern Venezuela: the hottest hotspot in Latin America. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(1), e0008211.
- Herrador, Z. (2021). Epidemiología de la Malaria. [En línea] Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Alcalá. [En línea]



[Consulta: abril 25, 2022] DOI:  
<https://doi.org/10.37536/RIECS.2021.6.S1.243>

Iqbal, J., Sher, A., Hira, P. & Al-Owaish, R. (1999). Comparison of the OptiMAL test with PCR for diagnosis of malaria in immigrants. [En línea] *Journal of clinical microbiology*. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.37.11.3644-3646.1999> [Consulta: octubre 30, 2022]

Jiménez, J. N., Muskus, C. E., & Vélez, I. D. (2005). Diversidad genética de *Plasmodium falciparum* y sus implicaciones en la epidemiología de la malaria. *Biomédica*, 25(4), 588-602.

Kitchen, A. D., Chiodini, P. L., & Tossell, J. (2014). Detection of malarial DNA in blood donors—evidence of persistent infection. *Vox Sanguinis*, 107(2), 123-131.

Louzada, J., Coelho, N., Pereira de Araujo, J., Silva, J., Carvalho, T., Escalante, A. & Oliveira-Ferreira, J. (2020). El impacto de la malaria importada por los mineros de oro en Roraima: caracterizando la dinámica espacial de la malaria autóctona e importada en una región urbana de Boa Vista. [En línea] *Artículos en Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760200043> [Consulta: junio 17, 2022]

Moody, A. (2002). Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clinical microbiology reviews*, 15(1), 66-78.

Navarro, E., Grillet, M. E., Menare, C., Gonzalez, J., & Frontado, H. (2015). Inventario preliminar de anofelinos (Díptera: Culicidae) en áreas endémicas de malaria, municipios Atures y Autana, estado Amazonas, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 55(2), 194-198.

- Organización Mundial de la Salud. (2023). Paludismo: Datos y cifras. [Documento en línea]. Disponible: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria> [Consulta: julio 12, 2023]
- Pabón, A., Álvarez, G., Yáñez, J., Céspedes, C., Rodríguez, Y., Restrepo, Á., & Blair, S. (2007). Evaluación de la prueba rápida inmunocromatográfica Binax NOW® ICT Pf/Pv para el diagnóstico del paludismo en un área endémica de Colombia. *Biomédica*, 27(2), 225-235.
- Pacheco, C., Moreno, J. y Herrera, F. (2019). Molecular detection and species determination of malaria parasites, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases*. [Artículo en línea]. 25(2), 355. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6346456/> [Consulta: marzo 2, 2022] ODI: 10.3201/eid2502.181279
- Poostchi, M., Silamut, K., Maude, R.J., Jaeger, S., & Thoma, G.R. (2018). Image analysis and machine learning for detecting malaria. *Translational Research*, 194, 36–55.
- Rodríguez-Morales, A. J., López-Zambrano, M. A., Harter-Griep, R., Vilca-Yengle, L. M., & Cárdenas, R. (2008). Aspectos sociales de la malaria importada en Latinoamérica. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25(2), 208-216.
- Ríos A., Sierra V., Holguín-Rocha A., Zuluaga-Idárraga L. & Lopera T. (2019). Baja concordancia entre microscopia y PCR para el diagnóstico de malaria mixta en Quibdó, Chocó 2018-2019. [En línea] Universidad de Antioquia - Colombia. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Andres-Holguin-Rocha/publication/340412669\\_Baja\\_concordancia\\_entre\\_microscopia\\_y\\_PCR\\_para\\_el\\_diagnostico\\_de\\_malaria\\_mixta\\_en\\_Quibdo\\_Choco\\_2018-2019/links/5e8744eb299bf13079763d43/Baja-concordancia-](https://www.researchgate.net/profile/Andres-Holguin-Rocha/publication/340412669_Baja_concordancia_entre_microscopia_y_PCR_para_el_diagnostico_de_malaria_mixta_en_Quibdo_Choco_2018-2019/links/5e8744eb299bf13079763d43/Baja-concordancia-)

entre-microscopia-y-PCR-para-el-diagnostico-de-malaria-mixta-en-Quibdo-Choco-2018-2019.pdf [Consulta: marzo 20, 2023]

- Rivero J, Urdaneta L, Zoghbi N, Pernalete M, Rubio-Palis Y, Herrera F 2004. Optimization of extraction procedure for mosquito DNA suitable for PCR-based techniques. *Intern J Trop Insect Sci* 24: 266-269
- Sinka, M., Rubio-Palis, Y., Manguin, S., Patil, A., Temperley, W., Gething, P., Van Boeckel, T., Kabaria, C., Harbach, R. 6 Hay, S. (2010). The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. [En línea] *Parasites Vectors*. Vol. 3. DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-72>
- Sinka, Marianne; Bangs, Michael; Manguin, Silvy; Rubio-Palis, Yasmin; Chareonviriyaphap, Theeraphap; Coetzee, Maureen (2012). «A global map of dominant malaria vectors». *Parasites and Vectors* 5: 69. doi:10.1186/1756-3305-5-69.
- Sint, D., Raso, L., & Traugott, M. (2012). Advances in multiplex PCR: balancing primer efficiencies and improving detection success. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(5), 898-905.
- Snounou, G., Pinheiro, L., Gonçalves, A., Fonseca, L., Dias, F., Brown, K. N., & do Rosario, V. E. (1993). The importance of sensitive detection of malaria parasites in the human and insect hosts in epidemiological studies, as shown by the analysis of field samples from Guinea Bissau. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(6), 649-653.
- Spencer, L., Gómez, G., Collovini, E. (2016). Mecanismos de invasión del esporozoito y merozoito de *Plasmodium*. [En línea] *Revista Bionatura*. 1(2):89-94. Disponible en: <http://revistabionatura.com/files/plasmodium-2.pdf>

Ta, T., Hisam, S., Lanza, M., Jiram, A., Ismail, N., Rubio, J. (2014). First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malaria Journal*. 13(1):68. DOI: 10.1186/1475-2875-13-68.

Tobón, A. (2009). Signos de peligro en el paciente con malaria. *Revista Biomédica* [Revista en línea] 29(2), 320-329. Disponible: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/33>  
[Consulta: marzo 2, 2022] ODI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i2.33>

White, N., Pukrittayakamee, S., Hien, T., Faiz, M., Mokuolu, O., Dondorp, A. (2014). Malaria. [En línea] *Lancet*. 383(9918):723-35. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60024-0. [Consulta: mayo 2, 2022]

Wide, A., Pabón, R., De Abreu, N., Bargues, M., Salcedo, A., Capaldo, J., Zepa, N. & Noya, O. (2016). Prevalencia de infecciones asintomáticas por *Plasmodium vivax* en el foco nororiental de malaria de Venezuela. [En línea] *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. Vol. 56, N° 2. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482016000200006&lng=es&tlng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482016000200006&lng=es&tlng=en). [Consulta: junio 16, 2022]

## ANEXOS

**Ficha Epidemiológica** (Fuente: Centro de Investigaciones de Campo “Dr. Francesco Vitanza”)

Fecha	N° tubo	#paciente	EDAD	SEXO	Dx1	Dx2	Clasificación	Procedencia	Lat	Lon	Parroquia	Municipio
26-4-2021	1	1852	40	M	Pv	0	Recaída	El Encanto			Tumeremo	Sifontes
26-4-2021	2	1841	20	M	Pv	0	CasoNuevo	El Tigre			Tumeremo	Sifontes
26-4-2021	3	1853	18	F	Pv	0	CasoNuevo	Caño Negro	6,80608	-61,21367	Dalla Costa	Sifontes
27-4-2021	4	1864	20	M	Pv	0	Recaída	La Paragua, Morrichal	6,841083	-63,33341	Barceloneta	Angostura
27-4-2021	5	1878		M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
28-4-2021	6	1882	42	M	Pv	0	CasoNuevo	Cabo de Vela	6,328839	-61,49186	San Isidro	Sifontes
28-4-2021	7	1885	22	M	Pv	Pf	Recaída	Imataca			Tumeremo	Sifontes
28-4-2021	8	1881	35	M	Pv	0	Recaída	Caño Negro	6,80608	-61,21367	Dalla Costa	Sifontes
28-4-2021	9	1887	32	M	Pv	Pm	Recaída	Imataca			Tumeremo	Sifontes
28-4-2021	10	1880	18	F	Pv	0	CasoNuevo	Las Malmas	7,449931	-62,53332	El Manteco	Piar
29-4-2021	11	1900	30	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
3-5-2021	12	1928	31	M	Pf	Pm	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
4-5-2021	13	1949	28	F	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
5-5-2021	14	1957	43	M	Pf	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
5-5-2021	15	1953	23	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
6-5-2021	16	1972	18	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
6-5-2021	17	1964	27	M	Pf	0	CasoNuevo	Cabo de Vela	6,328839	-61,49186	San Isidro	Sifontes
6-5-2021	18	1966	38	M	Pv	Pf	CasoNuevo	Cabo de Vela	6,328839	-61,49186	San Isidro	Sifontes
7-5-2021	19	1995	13	M	Pv	0	CasoNuevo	Cabo de Vela	6,328839	-61,49186	San Isidro	Sifontes
7-5-2021	20	1982	49	M	Pv	0	CasoNuevo	Sua Sua	7,037201	-61,5911	Tumeremo	Sifontes
7-5-2021	21	1983	24	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
11-5-2021	22	2029	26	M	Pf	0	CasoNuevo	El Caruto	6,382773	-61,7896	San Isidro	Sifontes
24-5-2021	23	2202	34	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	24	2219	25	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca, Las Cocuizas			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	25	2212	24	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	26	2220	34	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca, Las Cocuizas			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	27	2218	33	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca, La Primavera			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	28	2207	29	F	Pv	0	CasoNuevo	La Pelota	6,3894	-61,50355	San Isidro	Sifontes
24-5-2021	29	2208	30	F	Pv	0	CasoNuevo	La Pelota	6,3894	-61,50355	San Isidro	Sifontes
24-5-2021	30	2205	18	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca, La Primavera			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	31	2204	27	M	Pf	0	CasoNuevo	Imataca			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	32	2216	30	M	Pv	0	CasoNuevo	Imataca, La Primavera			Tumeremo	Sifontes
24-5-2021	33	2206	34	M	Pv	0	CasoNuevo	Cafetal	7,049641	-61,448026	Dalla Costa	Sifontes