



UNAP



**FACULTAD DE ENFERMERÍA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA**

TESIS

**EFICACIA TERAPÉUTICA DE CLOROQUINA MÁS PRIMAQUINA EN
MALARIA VIVAX NO COMPLICADA EN DOS COMUNIDADES
DE LA AMAZONÍA PERUANA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN SALUD
PÚBLICA**

PRESENTADO POR: MITCHEL ANTHONY GUZMÁN GUZMÁN

ASESOR: M.C. ELMER ALEJANDRO LLANOS CUENTAS, DR.

IQUITOS, PERÚ

2023



UNAP



**FACULTAD DE ENFERMERÍA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA**

TESIS

**EFICACIA TERAPÉUTICA DE CLOROQUINA MÁS PRIMAQUINA EN
MALARIA VIVAX NO COMPLICADA EN DOS COMUNIDADES
DE LA AMAZONÍA PERUANA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN SALUD
PÚBLICA**

PRESENTADO POR: MITCHEL ANTHONY GUZMÁN GUZMÁN

ASESOR: M.C. ELMER ALEJANDRO LLANOS CUENTAS, DR.

IQUITOS, PERÚ

2023



UNAP

Escuela de Postgrado
"Oficina de Asuntos
Académicos"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
N°061-2023-OAA-EPG-UNAP

En Iquitos, en el auditorio de la Escuela de Postgrado (EPG) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), a los veintidós días del mes de mayo de 2023 a horas 11:30 a.m., se dió inicio a la sustentación de la tesis denominada "EFICACIA TERAPÉUTICA DE CLOROQUINA MÁS PRIMAQUINA EN MALARIA VIVAX NO COMPLICADA EN DOS COMUNIDADES DE LA AMAZONÍA PERUANA", aprobado con Resolución Directoral N°0562-2023-EPG-UNAP, presentado por el egresado MITCHEL ANTHONY GUZMAN GUZMAN, para optar el Grado Académico de Maestro en Salud Pública, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria 30220 y el Estatuto de la UNAP.

El jurado calificador designado mediante Resolución Directoral N°0124-2023-EPG-UNAP, esta conformado por los profesionales siguientes:

M.C. Hugo Miguel Rodríguez Ferrucci, Mgr. (Presidente)
M.C. Jesús Jacinto Magallanes Castilla, Mgr. (Miembro)
Lic. Enf. Wilma Selva Casanova Rojas de Casapía, Mgr. (Miembro)


Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron respondidas: SATISFACTO PARCIALMENTE


Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al resultado siguiente:


La sustentación pública y la tesis ha sido: APROBADA con calificación Diecinueve.

A continuación, el Presidente del Jurado da por concluida la sustentación, siendo las 12:45 del veintidós de mayo de 2023; con lo cual, se le declara al sustentante APTO, para recibir el Grado Académico de Maestro en en Salud Pública.


M.C. Hugo Miguel Rodríguez Ferrucci, Mgr.
Presidente


M.C. Jesús Jacinto Magallanes Castilla, Mgr.
Miembro


Lic. Enf. Wilma Selva Casanova Rojas de Casapía, Mgr.
Miembro


M.C. Elmer Alejandro Llanos Cuentas, Dr.
Asesor

Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonía del Perú, rumbo a la acreditación

Calle Los Rosales cuadra 5 s/n, San Juan Bautista, Maynas, Perú
Teléfono: (5165) 261101 Correo electrónico: postgrado@unapiquitos.edu.pe www.unapiquitos.edu.pe



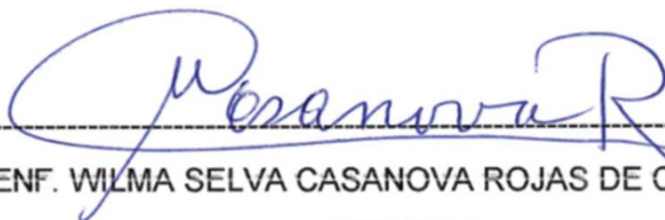
TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL DÍA 22 DE MAYO DEL 2023 EN EL AUDITORIO DE LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ



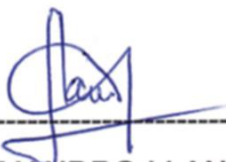
M.C. HUGO MIGUEL RODRIGUEZ FERRUCCI, MGR.
PRESIDENTE



M.C. JESÚS JACINTO MAGALLANES CASTILLA, MGR.
MIEMBRO



LIC. ENF. WILMA SELVA CASANOVA ROJAS DE CASAPÍA, MGR.
MIEMBRO



M.C. ELMER ALEJANDRO LLANOS CUENTAS, DR.
ASESOR



Nombre del usuario:
Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

Fecha de comprobación:
19.10.2022 08:49:20 CDT

Fecha del Informe:
19.10.2022 08:51:42 CDT

ID de Comprobación:
76027855

Tipo de comprobación:
Doc vs Internet

ID de Usuario:
Ocultado por Ajustes de Privacidad

Nombre de archivo: **Tesis Mitchel GUZMAN**

Recuento de páginas: **52** Recuento de palabras: **14195** Recuento de caracteres: **86571** Tamaño de archivo: **506.92 KB** ID de archivo: **87099266**

8.67% de Coincidencias

La coincidencia más alta: **1.66%** con la fuente de Internet (https://www.paho.org/col/dmdocuments/CLINICA_MALARIA.PDF)

8.67% Fuentes de Internet

648

Página 54

No se llevó a cabo la búsqueda en la Biblioteca

2.88% de Citas

Citas

7

Página 55

No se han encontrado referencias

0% de Exclusiones

No hay exclusiones

Modifind

Modificaciones del texto detectadas. Busque más detalles en el informe en línea.

Caracteres sustituidos

18

A mi madre, María, que me enseñó a ser perseverante y concienzudo.

A Viviana, mi soporte incondicional y fortaleza.

A Camila y Daniela, mi fuente de motivación infinita.

AGRADECIMIENTOS

A todos los participantes del estudio por su apoyo entusiasta y hospitalidad, su participación contribuye a entender mejor el comportamiento de la malaria, una enfermedad que los aqueja por años, pero aún sigue siendo desatendida.

Al Dr. Alejandro Llanos, por su orientación, paciencia y guía en el proceso y desarrollo del estudio.

A las autoridades comunitarias por su interés en el estudio y abrigarnos como parte de la comunidad.

A Daniel Wong Vela por su dedicación y empeño, su carisma e involucramiento con la comunidad fue importante en el estudio.

A Manuel Chumbe, trabajador comunitario de salud que nos brindó su ayuda. Gracias a su trabajo incansable por su comunidad.

Este estudio fue financiado por los siguientes acuerdos de cooperación del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de Norte América, Instituto Nacional de Salud: 1) U19AI089681, Proyecto Centro Internacional de Excelencia en la Investigación de la Malaria de la Amazonía (Amazonian ICEMR) y 2) D43TW007120, Proyecto Translational Research Development for Endemic Infectious Diseases of Amazonia – Fogarty International Center.

Este estudio fue financiado parcialmente por la Fundación Hipólito Unanue.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Páginas
Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Resultado de informe de similitud	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice de contenido	viii
Índice de tablas	ix
Índice de gráficos	x
Resumen	xi
Abstract	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	6
1.1 Antecedentes	6
1.2 Bases teóricas	9
1.3 Definición de términos básicos	19
CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS	21
2.1 Variables y su operacionalización	21
2.2 Formulación de la hipótesis	22
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	23
3.1 Tipo y diseño de la investigación	23
3.2 Población y muestra	23
3.3 Técnicas e instrumentos	26
3.4 Procedimientos de recolección de datos	26
3.5 Técnicas de procesamientos y análisis de los datos	29
3.6 Aspectos éticos	31
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	32
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	46
CAPÍTULO VI: PROPUESTA	49
CAPITULO VII: CONCLUSIONES	50
CAPITULO VIII: RECOMENDACIONES	51
CAPITULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia	
2. Instrumentos de recolección de datos	

ÍNDICE DE TABLAS

		Páginas
Tabla N°1.	Clasificación de la respuesta al tratamiento	16
Tabla N°2.	Características de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	33
Tabla N°3.	Características biofisiológicas de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	34
Tabla N°4.	Tabla de supervivencia de la respuesta parasitológica y clínica de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	35
Tabla N°5.	Análisis de supervivencia de la respuesta parasitológica y clínica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	37
Tabla N°6.	Proporción de falla terapéutica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	39
Tabla N°7.	Tasa de eliminación de parasitemia por días según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	40
Tabla N°8.	Tiempo de eliminación de la parasitemia por carga parasitaria en el día 0 según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	41
Tabla N°9.	Tiempo de eliminación de fiebre por día en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	42
Tabla N°10.	Prevalencia de parasitemia según microscopía y qPCR	43
Tabla N°11.	Capacidad predictiva de la microscopía comparada con el qPCR	44

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico N°1. Ubicación geográfica de las comunidades de estudio. Santa Emilia y San José de Lupuna, en el departamento de Loreto	23
Gráfico N°2. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier de la respuesta parasitológica y clínica de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	36
Gráfico N°3. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de la respuesta parasitológica y clínica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	38
Gráfico N°4. Curvas de eliminación de la parasitemia por días según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	40
Gráfico N°5. Curvas de eliminación de la parasitemia por carga parasitaria en el día 0 según microscopía (izquierda) y qPCR (derecha) en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana	42

RESUMEN

La resistencia y falla terapéutica del tratamiento de *Plasmodium vivax* son un problema por la recurrencia de parásitos que mantienen la transmisión. El objetivo fue evaluar la evolución clínica y parasitológica durante 28 días desde el inicio del tratamiento supervisado de cura radical en dos comunidades de la Amazonía peruana, usando métodos moleculares (qPCR) y microscopía. Se enroló 31 participantes con malaria vivax no complicada entre marzo del 2016 y enero del 2017 en Santa Emilia y San José de Lupuna, comunidades rurales endémicas accesibles sólo por vía fluvial. En el día de ingreso (día 0), se inició tratamiento con cloroquina 25mg/Kg en tres días más primaquina 0.5 mg/Kg/día por siete días (de acuerdo con las guías nacionales en Perú), luego se hizo evaluaciones clínicas y parasitológicas en los días 2, 3, 7, 14, 21 y 28. Si bien se detectó más fallas terapéuticas por qPCR (8) que por microscopía (4), con una incidencia acumulada de eficacia de 70.8% (95 IC, 55.5 – 90.3%) y 86.6% (95% IC, 75.2 – 99.8%) respectivamente, no se encontró diferencias estadísticas entre los 2 métodos ($p=0.14$). El qPCR demostró que el tiempo de eliminación de parásitos es mayor al reportado por microscopía (14 versus 7 días) ($p<0.01$), y también un mayor tiempo de eliminación con mayor parasitemia ($p<0.01$). Interpretar la parasitemia de *P. vivax* usando qPCR en estudios clínicos en áreas endémicas debería realizarse con precaución hasta contar con una prueba confiable que diferencie recaídas de reinfecciones.

Palabras clave: *Plasmodium vivax*; Cloroquina; Primaquina; Eficacia

ABSTRACT

Resistance and therapeutic failure to *Plasmodium vivax* treatment is an increasing problem due to parasite recurrences that sustain transmission. This study aimed to describe clinical and parasitological response after initiation of supervised radical cure treatment in two villages in the Peruvian Amazon follow up by both, molecular tools (qPCR) and thick smear, for 28 days. Thirty-one participants with uncomplicated vivax malaria were recruited from March 2016 to January 2017 in Santa Emilia and San José de Lupuna, river travel is the only way from these endemic rural villages to other places. At the recruitment (day 0), treatment was started with chloroquine 25mg/Kg in 3 days plus primaquine 0.5 mg/Kg/day for 7 days (according to national guidelines in Peru). Clinical and parasitological evaluations were done on days 2, 3, 7, 14, 21 and 28. Although more therapeutic failures were detected by qPCR (n=8) than by microscopy (n=4), such that cumulative incidence efficacy by microscopy was 86.6% (IC₉₅, 75.2 – 99.8%), and 70.8% (IC₉₅, 55.5 – 90.3%) by qPCR, no statistical difference was found between methods ($p=0.14$). Parasite clearance time by qPCR was longer than by microscopy (14 days vs. 7 days), and longer clearance time was also seen with higher parasitemia ($p<0.01$). Interpretation of *P. vivax* parasitemia by qPCR in clinical studies conducted in endemic areas should be done with caution until a reliable laboratory test that clearly distinguishes relapses from reinfections is available.

Keywords: *Plasmodium vivax*; Chloroquine; Primaquine; Efficacy

INTRODUCCIÓN

A pesar de los esfuerzos mundiales para el control y eliminación de la malaria, esta sigue siendo un importante problema de salud global, con repercusiones económicas directas sobre la productividad de quienes enferman y en el crecimiento económico de los países endémicos por el costo que demanda su intervención, disminuyendo la tasa de crecimiento hasta en un 1.3% del PBI¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la tasa de incidencia de malaria en el mundo disminuyó en un 18% desde el año 2010 al 2017, pero desde el 2015 esta tasa no ha cambiado y, por el contrario, entre 2015 y 2017 el número de casos se han incrementado, siendo mayor en la región de las Américas, donde a pesar que 17 de los 21 países endémicos hicieron progresos significativos reduciendo la incidencia de malaria, en toda la región la incidencia aumentó en 14% desde el 2010 al 2017. Esto se explica porque cuatro países determinaron un incremento de 72% entre 2015 y 2017. El 90% de este aumento fue en Venezuela (53%), Brasil (22%), Colombia (8%) y Perú (7%). La transmisión en estos 4 países es focalizada, siendo particularmente alta en Choco en Colombia, Loreto en Perú y Bolívar en Venezuela².

Asimismo, la tasa de mortalidad por malaria a nivel mundial también ha disminuido en el 2017 en comparación con el 2010, con excepción de las Américas donde hubo un incremento de 32%².

En el Perú, aun cuando se observa un incremento de 88% en los casos reportados al 2017 comparado con el 2010, se observa una reducción significativa de 30% entre el 2014 y el 2018 en que se presentaron 45,486 casos de malaria². Al igual que en el resto de la región la especie predominante es *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), con proporciones de 3 a 4 infecciones por cada *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*).

Las muertes atribuidas a malaria en el Perú oscilaron entre el 2010 y 2017 entre 4 muertes en el 2014, 10 para el 2017 y 4 en el 2018, 4 en 2019 y ninguna en el 2020³.

El departamento de Loreto, en la Amazonía peruana concentra el 97 % de los casos notificados y presenta una tendencia ascendente desde el 2011⁴. En Loreto, la malaria es altamente heterogénea a nivel geográfico y en el tiempo⁵ y está influenciada por múltiples factores ambientales, climatológicos y sociodemográficos⁶. Estudios desarrollados en comunidades periféricas de Iquitos muestran que las infecciones asintomáticas son frecuentes^{7,8}; es decir, personas aparentemente sanas son portadoras de *Plasmodium*. Además, la mayoría de estas infecciones asintomáticas no son detectables por los métodos diagnósticos de rutina como la microscopía óptica o las pruebas de diagnóstico rápido (PDR); sólo se detectan usando métodos moleculares como es el diagnóstico con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés); es decir, son infecciones asintomáticas con parasitemia submicroscópica, conocidas como infecciones subpatentes. La prevalencia de estas infecciones fluctúa entre 50 a 70% tanto para *P. vivax* como *P. falciparum*⁷⁻¹¹, que explicarían, en parte, el efecto transitorio de las intervenciones en el control porque se comporta como el reservorio que usualmente no es tratado.

La OMS recomienda el tratamiento con cloroquina (CQ) más primaquina (PQ) en las infecciones por *P. vivax* con el objetivo de lograr la eliminación tanto de los estadios sanguíneos como latente hepático, lo que se conoce como cura radical, previniendo de este modo la recaída a partir de los estadios hepáticos latentes del parásito conocidos como hipnozoítos¹². Asimismo, sugiere el monitoreo periódico de la eficacia terapéutica de los medicamentos antimaláricos que provea información mínima esencial que guíe las políticas de los programas nacionales de control de malaria (PNCM). Para esto, el patrón oro es el estudio de la eficacia terapéutica *in vivo*, que evalúa la respuesta clínica y parasitológica durante 28 días de seguimiento¹³.

La respuesta terapéutica en el día 28 es evaluada entonces usando la microscopía en conjunto con los signos y síntomas y se clasifica como respuesta clínica y parasitológica adecuada (RCPA) o como falla terapéutica (FT); pudiendo ser falla terapéutica temprana (FTT), falla clínica tardía (FCT) o falla parasitológica tardía (FPT)¹³. El uso de tasas de cura de RCPA

corregidas por PCR (o el complemento, tasas de falla) también son aceptadas como criterio de valoración primaria o secundaria, ya que mejoran la comparabilidad general entre ensayos clínicos¹⁴.

Alcanzar la cura radical tiene implicancias para el control, eliminación y erradicación de la malaria, pues si la proporción total de falla terapéutica de un medicamento es $\geq 10\%$ mediante la evaluación de la eficacia terapéutica *in vivo*, debería cambiarse el esquema terapéutico¹². Aunque, la resistencia a los antimaláricos esté ligada a la falla terapéutica, esta no es la causa más frecuente, pudiendo deberse a dosificación incorrecta, dosis total insuficiente, pobre adherencia, variación farmacocinética, disminución del metabolismo asociado a la genética del individuo o la tolerancia innata de algunas cepas^{12,15}.

En el Perú se han realizado pocos monitoreos de la eficacia terapéutica siguiendo el protocolo de OMS, no obstante, los ensayos realizados muestran tasas de recurrencia inferiores al 2% en los primeros 28 días de seguimiento contabilizados desde el inicio del tratamiento tanto para CQ sola como la combinación CQ más PQ¹⁶⁻¹⁹.

Por otro lado, las recurrencias después de los 30 días de tratamiento son frecuentes, así, en una revisión sistemática de ensayos clínicos controlados con seguimientos de 7 semanas a 15 meses se observó que la tasa mediana de recaída fue 12% (1-80%) para CQ sola y 8% (0-32%) para CQ más PQ²⁰.

Estos hallazgos cuestionan el concepto de cura radical clásico e implica profundizar los estudios para comprender mejor la respuesta a los medicamentos antimaláricos, utilizando métodos moleculares más sensibles para detectar parásitos circulantes, lo que nos conlleva a preguntarnos:

“¿Cuál es la evolución parasitológica y clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica supervisada de cloroquina más primaquina en malaria vivax no complicada utilizando métodos moleculares?”.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la evolución parasitológica y clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2016.

Asimismo, tuvo por objetivos específicos: (i) caracterizar clínicamente los pacientes con malaria vivax no complicada tratados con CQ más PQ supervisada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2016, (ii) comparar la evolución parasitológica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de CQ más PQ supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2016, utilizando PCR y microscopía, (iii) determinar la evolución clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de CQ más PQ supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2016 y (iv) determinar la sensibilidad y especificidad del gota gruesa en el seguimiento parasitológico durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de CQ más PQ supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2016.

La peculiaridad de la infección por *P. vivax* que incluso tras una única inoculación puede producir un reservorio de hipnozoítos y generar múltiples recurrencias cuyo mecanismo de activación es desconocido, es una de las razones principales para la transmisión de la malaria vivax a nivel mundial. Es por esta razón, que la comprensión y abordaje de la malaria por *P. vivax* es más difícil y crucial en comparación con otras especies para lograr el control de la malaria.

Frente al cuestionamiento del concepto de cura radical en pacientes infectados con *P. vivax* tratados con CQ más PQ en dosis recomendadas por la OMS, el siguiente paso es reestudiar, a nivel subpatente (utilizando técnicas moleculares como la PCR), la evolución de la parasitemia en los siguientes 28 días después que los pacientes diagnosticados de malaria no complicada por *P. vivax* inician tratamiento con CQ más PQ en la dosis estándar según la

Norma técnica de salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú del Ministerio de Salud del Perú (MINSA).

No se han reportado estudios en la Amazonía peruana que hayan evaluado la evolución de la parasitemia post tratamiento con CQ más PQ durante los primeros 28 días con métodos moleculares, por lo que esta propuesta es una innovación importante para entender la evolución de la parasitemia en las infecciones por *P. vivax* y futuros estudios podrían beneficiarse para monitorizar la aparición temprana de resistencia a los antimaláricos en mención.

En Loreto, aunque está normado el tratamiento supervisado²¹, la administración no es rutinariamente observada²², y las bajas dosis totales pueden proporcionar una importante presión de selección para la aparición de resistencia. Dado que los estudios de eficacia terapéutica *in vivo* evalúan la respuesta terapéutica posterior al cumplimiento del esquema de tratamiento, en condiciones de la vida real la tasa de eficacia terapéutica podría estar sesgada en lugares donde la adherencia al tratamiento es baja. Entonces, evaluar la adherencia como complemento al estudio de eficacia será importante en futuros estudio.

La determinación de la prevalencia de recurrencias se ve limitada por lo difícil y costoso del seguimiento de pacientes en el tiempo, por lo que el presente estudio se confinó a evaluar sólo el seguimiento dentro del mes de iniciado el tratamiento.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Ruebush et al, en 2003, realizaron ensayos de eficacia *in vivo* de CQ durante 28 días en tres establecimientos de salud de la región amazónica y uno de la costa norte del Pacífico. Enrolaron 242 pacientes (177 de la región amazónica y 65 de la costa norte) con malaria por *P. vivax*. Todos los sujetos recibieron una terapia de observación directa con CQ, 25mg/kg, durante un período de tres días. Un total de 212 (88%) de los 242 sujetos completaron su seguimiento de 28 días. Cuatro de los 177 pacientes de la región amazónica tuvieron una recurrencia de la parasitemia *P. vivax* en los días 21 y 28 después de iniciado el tratamiento. Basados en la PCR, el genotipo del polimorfismo conformacional de una sola hebra y los niveles de CQ- desetilcloroquina en sangre, que eran $\geq 97\text{ng/mL}$ en el momento de la reaparición de la parasitemia, dos de esos pacientes tuvieron infecciones resistentes a la CQ. Ninguno de los sujetos estudiados en la costa norte del Pacífico tuvo parasitemia recurrente. Quedando documentado los primeros casos de resistencia a CQ en Perú¹⁶.

Álvarez et al, en 2006, desarrollaron un ensayo clínico controlado aleatorio no ciego para evaluar la eficacia de 3 dosis de PQ de 45, 105, y 210mg administrados en dosis de 15mg/día en 210 adultos con malaria por *P. vivax* de la región noroeste de Colombia. La investigación encontró que la tasa de curación de los estadios sanguíneos de malaria por *P. vivax* en el día 28 de seguimiento fue de 100% en todos los grupos. Además, determinaron que la reaparición de la parasitemia después de los 6 meses de seguimiento fue de 45%, 36.6% y 17.6%, respectivamente para cada grupo, llegando a la conclusión que la administración de 210mg es un factor significativo de protección para la reaparición de parasitemia²³.

Van den Eede et al., en 2011, en una cohorte prospectiva de 51 pacientes de 4 comunidades del río Nanay, con malaria por *P. vivax* tratados de acuerdo con las directrices nacionales peruanas, colectaron mensualmente durante 1 año, muestras de sangre para microscopía y posterior genotipificación. Detectaron la presencia del anticuerpo contra la proteína del circumsporozoito de *P. vivax* (CSP) para estimar una exposición reciente a infección por *P. vivax*, además todas las infecciones por *P. vivax* confirmadas con PCR se genotipificaron usando 16 microsatélites polimórficos. Identificaron 84 infecciones recurrentes, siendo sólo el 26% detectable por microscopía y la mayoría (71%) fueron asintomáticas; tanto que, en 13 pacientes persistió indetectable por microscopía durante varios meses consecutivos. La mediana para la primera infección recurrente fue 203 días. El genotipo de la mayoría de las recurrencias difirió de la del día 0, mientras que entre una recurrencia y otra se observaron menos diferencias. Concluyeron que, en el Perú las infecciones recurrentes por *P. vivax* son comunes y muestran una alta rotación de genotipos en comparación con el día 0 y que, los pacientes de *P. vivax*, incluso cuando son tratados de acuerdo con las directrices nacionales, pueden seguir representando un importante reservorio de parásitos que pueden mantener la transmisión¹⁷.

Graf et al., en 2012, en una cohorte prospectiva de 540 participantes con malaria por *P. vivax* de 3 establecimientos de salud de la ciudad de Iquitos, divididos en 3 brazos de tratamiento, administraron CQ en la misma dosis estándar y aleatoriamente uno de tres regímenes de PQ: (1) 0.5mg/kg/día por 5 días, (2) 0.5 mg/kg/día por 7 días y (3) 0.25mg/kg/día por 14 días. Se realizó gota gruesa en los días 1, 2, 3, 7, 14, 21, y 28, después cada 2 semanas hasta los 6 meses, y en cada ocasión que los participantes retornaron al establecimiento con síntomas de malaria. En caso de recurrencia una muestra de sangre fue tomada para determinar niveles de CQ en sangre y genotipo para *P. vivax*. Cuatro de los 540 pacientes tratados con la combinación de CQ y PQ tuvieron una recurrencia sintomática por *P. vivax* en los 35 días siguientes al inicio del tratamiento.

El nivel total de CQ en sangre de uno de estos cuatro sujetos fue 95 ng/ml el día de la recurrencia. Reportando que, de acuerdo con los criterios de resistencia de *P. vivax* a CQ, se presentó una cepa de *P. vivax* en Perú con una tolerancia inusualmente alta a la combinación de CQ + PQ¹⁸. Los hallazgos de los tres grupos de PQ fueron publicados posteriormente.

Durand et al., en 2014, reportaron los hallazgos de los tres grupos de PQ: de la cohorte previamente descrita por Graf et al., 2012¹⁸, que enroló 180 casos en cada grupo. Todas las recurrencias después de los 35 días fueran catalogadas como recaídas. Encontraron que las tasas de recaída en los grupos (2) y (3) fueron similares ($16/156 = 10.3\%$ y $22/162 = 13.6\%$, $p=0.361$) y más alta en el grupo (3) ($48/169 = 28.4\%$, $p<0.001$ y $p=0.001$, respectivamente), concluyendo que el régimen de 0.5 mg/kg/día por 7 días de PQ usado en Perú es tan eficaz como el régimen recomendado de 0.25 mg/kg/día por 14²⁴.

Delgado-Ratto et al., en 2014, en una cohorte prospectiva de 37 pacientes infectados por *P. vivax* en una comunidad rural de la Amazonía peruana, administraron tratamiento con CQ más PQ siguiendo las guías nacionales para cura radical y realizaron seguimiento mensual por 2 años con muestreo para microscopía y sangre en papel filtro para PCR. En todas las muestras con infección por *P. vivax*, se determinó después el genotipo usando 15 microsatélites. La estructura y dinámica de la población de parásitos fue determinada mediante el cálculo de diferentes índices genéticos y el uso de estadísticas espaciotemporales. Después de la cura radical, todos los participantes fueron negativos por microscopía y PCR en el día 28, el 76% de los participantes del estudio experimentaron una o más infecciones recurrentes por *P. vivax* al final de los 2 años, la mayoría de ellas subpatentes y asintomáticas. La población de parásitos mostró una limitada diversidad genética y una estructura clonal, siendo la mayoría de las infecciones (84%) monoclonales y se observó la persistencia de haplotipos muy frecuentes durante varios meses dentro de los mismos participantes/hogares¹⁹.

1.2 Bases teóricas

Etiología de la malaria

La malaria es una enfermedad parasitaria transmitida por mosquitos del género *Anopheles* que compromete la salud de millones de personas cada año, principalmente en zonas tropicales y subtropicales. Es causada por protozoarios del género *Plasmodium*²⁵, del cual existen alrededor de 172 especies identificadas, pero solo 5 son de importancia médica en humanos: *P. vivax*, *P. falciparum*, *Plasmodium malariae* (*P. malariae*), *Plasmodium ovale* (*P. ovale*) y *Plasmodium knowlesi* (*P. knowlesi*)²⁶. Estas 5 especies difieren entre sí en morfología, ciclo de vida y presentación clínica.

Ciclo biológico del Plasmodium

El *Plasmodium* en su ciclo biológico involucra 2 huéspedes, en los que se desarrolla a través de 3 fases. El huésped definitivo es el mosquito *Anopheles* hembra, donde se produce la fase sexual o esporogónica, que dura de 8 a 16 días, la cual inicia con la picadura del mosquito tomando eritrocitos infectados con gametocitos que son la forma infectante para el mosquito, que al interior de su intestino maduran a gametos masculino y femenino para luego fusionarse formando un cigoto diploide, que se desarrolla en ooquinetos y se introduce en el epitelio intestinal convirtiéndose en ooquistes, el cual crece y se divide produciendo miles de esporozoitos haploides que migran a las glándulas salivales, desde donde serán inoculadas en el torrente sanguíneo del huésped intermediario, en este caso el hombre donde se realiza la reproducción asexual del parásito y se producen las fases exoeritrocítica y eritrocítica.

En la fase exoeritrocítica, los esporozoitos inoculados por el mosquito luego de 15 a 30 minutos llegan al hígado e invaden las células hepáticas, aquí en 6 a 8 días se diferencian en esquizontes (esquizogénesis) dando lugar a la formación de merozoitos que al quedar libres inician esta fase nuevamente, o pueden liberarse al torrente sanguíneo e invadir los hematíes iniciando la fase eritrocítica.

En el hígado, los esporozoitos de *P. vivax* y *P. ovale* se diferencian en un estadio latente llamado hipnozoíto, que persiste en el hígado y que al activarse causa recaídas semanas, meses y hasta años después de la eliminación de los estadios sanguíneos que causaron la infección aguda²⁷.

En la fase eritrocítica, el merozoito ingresa al hematíe y se diferencia en trofozoíto joven, luego adulto y finalmente en esquizonte al interior del cual se encuentran de 8 a 16 merozoitos que al romper el hematíe repiten el ciclo cada 1 a 3 días, y dependiendo de la especie, luego de 2 o 3 generaciones, algunos merozoitos desarrollan en gametocitos²⁵.

Biología de Plasmodium vivax

P. vivax tiene características biológicas únicas que hacen que su comprensión y abordaje sea más difícil en comparación con las demás especies²⁸.

- a) Estadio de hipnozoíto. El estadio quiescente hepático si falla la cura radical constituye un reservorio que puede activarse y sin haber picadura de un vector infeccioso, generar múltiples infecciones recurrentes tan pronto como 16 días o después de hasta 3 años, contribuyendo a la carga de la enfermedad y a la transmisión. El hipnozoíto es indetectable con los métodos diagnósticos actuales y el desencadenante que lo activa continúa siendo desconocido^{12,28}.
- b) Afinidad por los reticulocitos. Los merozoitos de *P. vivax* prefieren invadir, aunque no exclusivamente, células más jóvenes, esto limitaría las hiperparasitemias y su virulencia ya que solo 1 a 2% de los hematíes son reticulocitos. Sin embargo, pese a la baja carga parasitaria, la destrucción repetida de los nuevos hematíes puede causar anemia crónica. Las bajas parasitemias en sangre periférica dificultan su diagnóstico por microscopía y por PDR retrasando el inicio del tratamiento y posibilitan su transmisión al mosquito²⁸.

- c) Fase sexual temprana. Los gametocitos de *P. vivax* se desarrollan pronto al inicio la infección, y están presentes en sangre periférica frecuentemente antes del inicio de síntomas, aumentando el riesgo de transmisión de la infección al vector^{28,29}.

Carga de la malaria para la salud pública

Aunque a nivel mundial se ha logrado progresos importantes en la reducción de la carga de enfermedad por malaria, esta continúa siendo un gran problema de salud pública global. En el informe mundial de malaria 2018, se estima que la tasa de incidencia de malaria en el mundo disminuyó en un 18%, de 72 a 59 casos por 1000 personas en riesgo desde el año 2010 al 2017, sin embargo, esta tasa se ha mantenido en 59 casos por 1000 personas en riesgo desde el 2015; y aunque hubo un estimado de 20 millones menos de casos de malaria en 2017 que en 2010, entre 2015 y 2017 los casos a nivel mundial se incrementaron, con un mayor incremento en la región de las Américas en contraste con la región de Asia sudoriental que disminuyó en 58% en este periodo².

En las Américas, los casos reportados se incrementaron en 14% desde el 2010 al 2017, más aún, este incremento fue de 72% entre 2015 y 2017. Sin embargo, 17 de los 21 países endémicos tuvieron una reducción significativa, tal es que 11 de estos tienen el objetivo de lograr una reducción de más del 40% en la incidencia de casos notificados para 2020, y otros 6 entre 20 a 40%, por el contrario, Panamá, Perú, Venezuela y Nicaragua tuvieron un incremento entre el 2010 y 2017².

En el 2017, el 90% de los casos estimados se dieron en cuatro países de la región amazónica (Venezuela [53%], Brasil [22%], Colombia [8%] y Perú [7%]; y la transmisión en estos países es focalizada, en particular, en Choco en Colombia, Loreto en Perú y Bolívar en Venezuela. Además, el 74% de los casos en la región son atribuibles a *P. vivax*².

La mortalidad por malaria a nivel mundial disminuyó en 28% en 2017 comparando con el 2010, con excepción de las Américas, donde se incrementó en 32%².

En el Perú, aun cuando se observa un incremento de 88% en los casos reportados al 2017 comparado con 2010, se ha presentado una reducción significativa de casos en 30% desde el 2014 al 2018. En el año 2018 se presentaron 45,486 casos de malaria, con 36,084 casos por *P. vivax* y 9,402 por *P. falciparum*. Al igual que en el resto de la región la especie predominante es *P. vivax*, con una razón de 4 a 1 frente a *P. falciparum*. Las muertes atribuidas a malaria en el Perú fueron fluctuantes, desde 8 casos en el 2012 a 4 casos en el 2014 y hasta 10 casos en el 2017³.

La malaria en el Perú está focalizada en el departamento de Loreto, que concentra 97% de los casos notificados el 2018. De tener el 40% de casos a nivel nacional en 2010 pasó a 96% en 2017. Asimismo, el número de casos mantuvo una tendencia a incrementarse hasta el 2014, posteriormente se mantuvo estable, y si comparamos el 2018 con 2017 hubo una reducción de 20%. En el último quinquenio Loreto notificó más del 99% de los casos de malaria por *P. falciparum* que el país reporta y el 95% de *P. vivax*^{2,4}.

El vector más común en la zona amazónica es *Anopheles darlingi*³⁰.

Espectro de la enfermedad por malaria

El espectro de la infección por malaria varía en función a la especie de *Plasmodium*, así como la carga parasitaria, el estado inmune y las comorbilidades en el huésped; pudiendo presentarse desde una parasitemia asintomática hasta un cuadro grave y mortal, pasando por una enfermedad febril inespecífica³¹.

En lugares donde la malaria es endémica y los individuos adultos han alcanzado un grado de inmunidad, son frecuentes las infecciones asintomáticas³².

Aunque el cuadro clínico inicial muchas veces puede simular una infección viral con síntomas inespecíficos como cefalea, astenia, fatiga, mialgias y artralgias, clásicamente la infección por malaria consiste en una triada: escalofríos preceden a un episodio febril intenso y sudoración. Posterior a la sudoración sigue un periodo asintomático de 24 o 48 horas hasta el siguiente acceso febril³³. Esta presentación periódica ocurre cada vez que una generación de merozoitos es liberada a la sangre por lisis del hematíe.

La afinidad de los merozoitos por los diferentes estadios de los hematíes es específica para cada especie. Mientras que *P. vivax* y *P. ovale* prefieren células jóvenes y *P. malariae* busca células maduras, en la infección por *P. falciparum* hay una multiplicación acelerada de parásitos que invaden rápidamente hematíes de todas las edades, alcanzando a ocupar más del 30% de ellos ocasionando altos niveles de hemólisis e incremento de las complicaciones de la enfermedad con esta especie³⁴. Aunque por mucho tiempo la infección por *P. vivax* fue considerada como benigna, actualmente se conoce que también está asociada a complicaciones pudiendo llevar a la muerte^{35,36}. Las manifestaciones de malaria vivax complicada incluyen la anemia grave, trombocitopenia, falla pulmonar, y en menor frecuencia paludismo cerebral, pancitopenia, ictericia, rotura esplénica, hemoglobinuria, falla renal y shock. La acidosis metabólica y el coma son raros en la enfermedad grave por *P. vivax*²⁹.

La letalidad de la malaria complicada puede llegar a ser de 10-20% incluso con tratamiento y si no se trata la malaria complicada es casi siempre fatal³⁷. Y el rango de la tasa de letalidad en enfermedad grave por *P. vivax* es de 0 a 9.3%²⁹.

Además, como ya fue mencionado, en las infecciones por *P. vivax* y *ovale* pueden producirse recaídas clínicas semanas, meses o años después de la infección inicial y los síntomas subclínicos como cefalea, dolor de espalda, náuseas y malestar general pueden ser muy leves o estar ausentes luego de múltiples infecciones²⁷.

Tratamiento de la malaria no complicada por Plasmodium vivax

Para el tratamiento de las infecciones por *P. vivax*, la OMS recomienda administrar CQ más PQ con el objetivo de lograr la eliminación tanto de los estadios sanguíneos como hepáticos, lo que se conoce como cura radical, previniendo de este modo las recrudescencias y las recaídas respectivamente¹².

De acuerdo con la Norma técnica de salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú del MINSA, el tratamiento para la malaria no complicada por *P. vivax* es: (i) CQ en una dosis inicial de 10 mg/Kg de peso corporal, seguido de 10 mg/Kg el segundo día y 5 mg/Kg el tercer día (dosis total de 25mg/Kg); y (ii) PQ por 7 días en una dosis de 0.5 mg/Kg de peso corporal por día (dosis total de 210mg/Kg)²¹.

Aunque la dosis recomendada de PQ por OMS es 0.25 mg/Kg de peso corporal por día por 14 días, En el Perú, Durand et al.²⁴, no encontraron diferencias entre ambos regímenes. Además, en una revisión reportaron que la dosis total de PQ es el principal determinante de su eficacia, más que la dosis diaria o el tiempo en que es administrada³⁸.

Vigilancia de la eficacia terapéutica de la cura radical

La OMS promueve que cada caso sospechoso de malaria sea diagnosticado oportunamente, que cada caso confirmado sea tratado con un medicamento de calidad garantizada y que se haga un seguimiento oportuno de la enfermedad con un sistema de vigilancia consolidado. Esta iniciativa es conocida en inglés como “*test, track, treat*”¹².

No se han descubierto nuevas moléculas para el tratamiento de la malaria en las últimas décadas, por lo que la vigilancia y el tratamiento basados en los casos confirmados evita que el uso inadecuado de medicamentos antimaláricos acelere el desarrollo de resistencia, con la consiguiente falla terapéutica de los medicamentos antimaláricos disponibles.

Alcanzar la cura radical tiene implicancias para el control, eliminación y erradicación de la malaria, por lo que la vigilancia de la eficacia terapéutica de los medicamentos antimaláricos es de gran importancia para la detección de falla terapéutica e identificar tempranamente la aparición de cepas resistentes. Para ello, la OMS preparó en 1996 un protocolo para evaluar la eficacia de los medicamentos antimaláricos para *P. falciparum*; sin embargo, ante la necesidad de una vigilancia sistemática de *P. vivax* cuyas características biológicas son diferentes, también fue incluido¹³.

Existen cuatro métodos para el estudio de la eficacia de los medicamentos antimaláricos: (i) estudio de eficacia terapéutica *in vivo*, (ii) prueba *in vitro* de sensibilidad, (iii) estudio de marcadores moleculares asociados a resistencia, y (iv) medición de las concentraciones de los medicamentos³⁹.

Los procedimientos de vigilancia de la eficacia terapéutica *in vivo* fueron estandarizados por primera vez por la OMS en 1964, y luego revisados periódicamente a la luz de nuevos conocimientos. El protocolo actual para el estudio de eficacia terapéutica *in vivo* elaborado en 2009 sigue siendo el patrón oro para evaluar la eficacia de los medicamentos antimaláricos⁴⁰.

El estudio de la eficacia terapéutica *in vivo* contempla la evaluación de las respuestas clínica y parasitológica. En protocolos previos, los criterios para evaluar la respuesta terapéutica de *P. falciparum* eran diferentes de *P. vivax*; sin embargo, debido a una alta prevalencia de falla terapéutica temprana reportada después del tratamiento de *P. vivax* con CQ, el protocolo actual sugiere la misma clasificación para ambos¹³.

El tiempo recomendado de seguimiento es de 28 días como mínimo a fin de capturar la mayoría de fallas para la mayoría de medicamentos basado en el tiempo de eliminación de estos. Durante el seguimiento, la respuesta terapéutica es evaluada usando la microscopía en conjunto con los signos y síntomas en los días 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 y 28¹³.

Finalmente, la respuesta terapéutica en el día 28 es clasificada en cuatro categorías: respuesta clínica y parasitológica adecuada, falla terapéutica temprana, falla clínica tardía y falla parasitológica tardía (Tabla 1)¹³.

Tabla 1. Clasificación de la respuesta al tratamiento

<p>Falla terapéutica temprana (FTT)</p> <ul style="list-style-type: none">• Signos de peligro o malaria grave en el día 1, 2 o 3, en presencia de parasitemia;• Parasitemia en el día 2 más alta que en el día 0, independientemente de la temperatura axilar;• Parasitemia en el día 3 con temperatura axilar $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$; y• Parasitemia en el día 3 $\geq 25\%$ del conteo en el día 0.
<p>Falla clínica tardía (FCT)</p> <ul style="list-style-type: none">• Signos de peligro o malaria grave en presencia de parasitemia en cualquier día entre el día 4 y el día 28 (día 42) en pacientes que no cumplen previamente ninguno de los criterios de falla terapéutica temprana; y• Presencia de parasitemia en cualquier día entre el día 4 y el día 28 (día 42) con temperatura axilar $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ en pacientes que no cumplen previamente ninguno de los criterios de falla terapéutica temprana.
<p>Falla parasitológica tardía (FPT)</p> <ul style="list-style-type: none">• Presencia de parasitemia en cualquier día entre el día 7 y el día 28 (día 42) con temperatura axilar $< 37,5^{\circ}\text{C}$ en pacientes que no cumplen previamente ninguno de los criterios de falla terapéutica temprana o falla clínica tardía.
<p>Respuesta clínica y parasitológica adecuada (RCPA)</p> <ul style="list-style-type: none">• Ausencia de parasitemia en el día 28 (día 42), independientemente de la temperatura axilar, en pacientes que no cumplen previamente ninguno de los criterios de falla terapéutica temprana, falla clínica tardía o falla parasitológica tardía.

El uso de tasas de cura de RCPA corregidas por PCR (o el complemento, tasas de falla) también son aceptadas como criterio de valoración primaria o secundaria, ya que mejoran la comparabilidad general entre ensayos clínicos¹⁴.

Esta corrección por PCR es realizada para el ajuste de las tasas de cura inicialmente basadas en la evaluación clínica y parasitológica por microscopía, porque ayuda a identificar si las fallas terapéuticas detectadas son debidas a reinfecciones o son producto de

recrudescencias y recaídas. Entonces el PCR es llevado a cabo para comparar la(s) cepa(s) presente(s) el día de la infección inicial y el día de la falla terapéutica al medicamento antimalárico¹⁴.

Sin embargo, no se ha reportado el uso de PCR como método para la evaluación de la eficacia terapéutica *in vivo*, además de lo antes descrito.

De acuerdo con la OMS, el monitoreo de la eficacia terapéutica debe ser realizado por todos los PNCM al menos una vez cada 2 años utilizando los protocolos estándar de la OMS, de manera que provea información mínima esencial que guíe las políticas de los PNCM sobre el uso de medicamentos antimaláricos^{12,13}.

Pues si la proporción total de falla terapéutica del tratamiento es $\geq 10\%$ luego de la evaluación de la eficacia terapéutica *in vivo*, el medicamento debería cambiarse. Incluso si se observa una tendencia ascendente en las tasas de falla debe llamar la atención de los PNCM para un posible cambio de medicamentos aunque no pasen el límite de 10% ¹².

Factores que influyen en la cura radical

Es importante diferenciar la resistencia a un antimalárico de una falla terapéutica. Mientras que la resistencia es la capacidad de una cepa de plasmodios de sobrevivir o multiplicarse a pesar de la dosificación, administración y absorción adecuadas de un medicamento antimalárico, la falla terapéutica consiste en la persistencia o reaparición de la parasitemia, o la no resolución de los síntomas clínicos a pesar de la administración de un antimalárico a dosis correcta¹².

Aunque, la resistencia a los antimaláricos esté ligada a la falla terapéutica, esta no es la única causa, pudiendo deberse a dosificación prescrita incorrecta, dosis total insuficiente, pobre adherencia, mala calidad de los medicamentos, interacciones farmacológicas, absorción disminuida, vómito del medicamento, mal diagnóstico de la especie de plasmodio, variación farmacocinética o la tolerancia innata de algunas cepas^{12,15}.

Algunos factores pueden ser controlados mediante un mejor diagnóstico, asegurando la calidad de los medicamentos, prescribiendo basado en el peso corporal y administrando tratamiento directamente observado.

La falla terapéutica también puede ocurrir por reinfección, sin embargo, en zonas endémicas donde la exposición a múltiples infecciones es frecuente y además las recaídas en el caso de *P. vivax* pueden ser el resultado de cepas heterólogas, resulta complicado distinguir entre ellas.

Genotipificación de Plasmodium vivax

La presencia de hipnozoítos en las infecciones por *P. vivax* representan un reto tanto para la evaluación de la eficacia terapéutica como para el establecimiento de medidas de control para la malaria.

En un estudio conducido en un área sin transmisión conocida de *P. vivax* y por lo tanto excluyendo razonablemente la probabilidad de reinfección, se encontró que más del 70% de las recaídas presentaron una nueva cepa junto a la detectada en la infección primaria, y que el 60% presentó una cepa diferente al momento de la recaída⁴¹.

Las poblaciones de parásitos que tras la inoculación e invasión hepática se diferencian en hipnozoítos y que ante la falla del tratamiento radical pueden permanecer latentes hasta que son activadas por un mecanismo todavía desconocido, representan un problema crítico para los ensayos de eficacia de nuevos medicamentos antimaláricos contra los hipnozoítos. Ya que la muestra de la infección inicial no nos proporciona información sobre los genotipos de los hipnozoítos ya presentes, la genotipificación de las recurrencias no podrá diferenciar si se trata de una nueva infección o de una recaída por la activación de los hipnozoítos que no fueron eliminados por el medicamento en evaluación¹⁴.

Actualmente, con las pruebas diagnósticas disponibles no es posible diferenciar entre recaídas, recrudescencias y reinfecciones de *P. vivax*²⁹.

1.3 Definición de términos básicos

Adherencia al tratamiento. Cumplimiento del esquema de tratamiento de la malaria a dosis recomendada prescrito por un profesional de la salud. Es decir, cuando el paciente cumple con todas las tomas de los medicamentos antimaláricos prescritos⁴².

Cura. Eliminación de los síntomas y de los parásitos de la malaria que causaron la enfermedad tratada¹².

Curado. Paciente que ha cumplido con el tratamiento y no presenta síntomas ni parasitemia de malaria en su último control de laboratorio²¹.

Cura radical. Comprende tanto la cura de los estadios sanguíneos, así como la prevención de las recaídas por eliminación de los hipnozoítos en infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*¹².

Eficacia de tratamiento para *P. vivax*. Capacidad del tratamiento de *P. vivax* para lograr la cura. Se mide por una tasa cuyo numerador es el número total de casos curados de malaria por *P. vivax* y el denominador es la suma del número total de casos curados más los casos de falla terapéutica de malaria por *P. vivax*²¹.

Falla terapéutica. Persistencia o reaparición de síntomas clínicos y/o parasitemia de malaria a pesar de cumplir el tratamiento antimalárico²¹.

Gota gruesa positiva. Hallazgo de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*, y *P. knowlesi* o formas mixtas en la prueba de gota gruesa²¹.

Hipnozoítos. Estadios de *P. vivax* y *P. ovale* que permanecen inactivos en los hepatocitos del huésped durante un intervalo antes de madurar en esquizontes hepáticos que luego liberarán merozoítos al torrente sanguíneo desencadenando la fase eritrocítica⁴².

Malaria no complicada. malaria sintomática sin signos de gravedad y/o signos de insuficiencia de un órgano vital⁴².

Parasitemia asintomática. Parasitemia de malaria sin síntomas de enfermedad¹².

Parasitemia subpatente. Parasitemia de malaria inferior al umbral de detección microscópica detectada sólo mediante pruebas moleculares⁴³.

Recaída. Reparición de la parasitemia asexual en la malaria por *P. vivax* y *P. ovale* derivada de los hipnozoítos; ocurre cuando los estadios sanguíneos han sido eliminados pero los hipnozoítos persisten en el hígado y son activados por un mecanismo no conocido madurando en esquizontes hepáticos que al liberar merozoitos al torrente sanguíneo desencadenan la fase eritrocítica¹².

Recrudescencia. Reparición de la parasitemia asexual después del tratamiento antimalárico con el mismo o los mismos genotipos que la infección inicial causado por la eliminación incompleta de los mismos. Debe distinguirse de la reinfección por el genotipo que generalmente es diferente que la enfermedad original¹².

Recurrencia. Reparición de la parasitemia asexual después del tratamiento antimalárico, debido a recrudescencia, recaída (solo en las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*) o una nueva infección¹².

Resistencia a medicamentos. capacidad de los parásitos (cepa o aislado) para sobrevivir o multiplicarse a pesar de la administración y de la absorción de medicamentos en dosis iguales o superiores a las que se prescriben habitualmente⁴².

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1 Variables y definiciones operacionales

Variable dependiente

Eficacia terapéutica

Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Ítem	Instrumento
Eficacia terapéutica	Capacidad de un medicamento antimalárico de lograr el objetivo terapéutico cuando es administrado a dosis recomendada, el cual es bien tolerado y tiene mínima toxicidad.	Es una tasa que resulta de evaluar durante 28 días la respuesta clínica y parasitológica del tratamiento antimalárico a dosis recomendada. Clasificándose la respuesta en respuesta clínica y parasitológica adecuada y en falla terapéutica.	Eficacia terapéutica. Cuando el sujeto en estudio durante los 28 días de seguimiento presenta una respuesta clínica y parasitológica adecuada (ausencia de signos clínicos y no presenta persistencia o reaparición formas asexuadas del parásito). Falla terapéutica. Cuando el sujeto en estudio durante los 28 días de seguimiento presenta persistencia o reaparición de formas asexuadas del parásito después del tercer día de tratamiento o durante el control	Síntomas presentes desde 7 días antes hasta el día 28 posterior al inicio de tratamiento recogidos en los cuestionarios diseñados por el Amazonia ICEMR que corresponde a la evaluación de 13 signos y síntomas clínicos relacionados a malaria más los resultados de microscopía. Además, de los resultados que se obtengan de las pruebas moleculares.	1. Ficha de registro de datos epidemiológicos por paciente. 2. Ficha de registro de datos de diagnóstico y tratamiento por paciente

			parasitológico posterior al tratamiento, así como la persistencia o reaparición de signos clínicos de malaria y formas graves.		
--	--	--	--	--	--

2.2 Formulación de la hipótesis

El tratamiento de cloroquina más primaquina en dosis estándar de acuerdo con la Norma Nacional de Malaria del Ministerio de Salud del Perú elimina los síntomas de los pacientes diagnosticados de malaria no complicada por *P. vivax* y produce una reducción importante de la parasitemia pero no elimina al parásito a nivel de los glóbulos rojos, y que permanece a niveles subpatentes por lo que serían capaces de continuar perpetuando la transmisión de malaria en los primeros 28 días de tratamiento.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Se realizó un estudio de tipo cuantitativo y exploratorio. El diseño del estudio es no experimental, de cohorte prospectiva, donde para evaluar la eficacia terapéutica del tratamiento recibido, fueron seleccionados individuos de las comunidades de Santa Emilia y San José de Lupuna que tuvieron gota gruesa positiva para *P. vivax* y diagnóstico clínico de malaria no complicada. El diseño del estudio se encuentra anidado en los Proyectos del “Centro Amazónico de Excelencia para la Investigación de Malaria” (Amazonian ICEMR por sus siglas en inglés)^{44,45}, que llevó a cabo cohortes poblacionales en los centros poblados San José de Lupuna y Santa Emilia. Se colectó información desde marzo del 2016 hasta enero del 2017.

3.2 Población y muestra

Descripción de la población

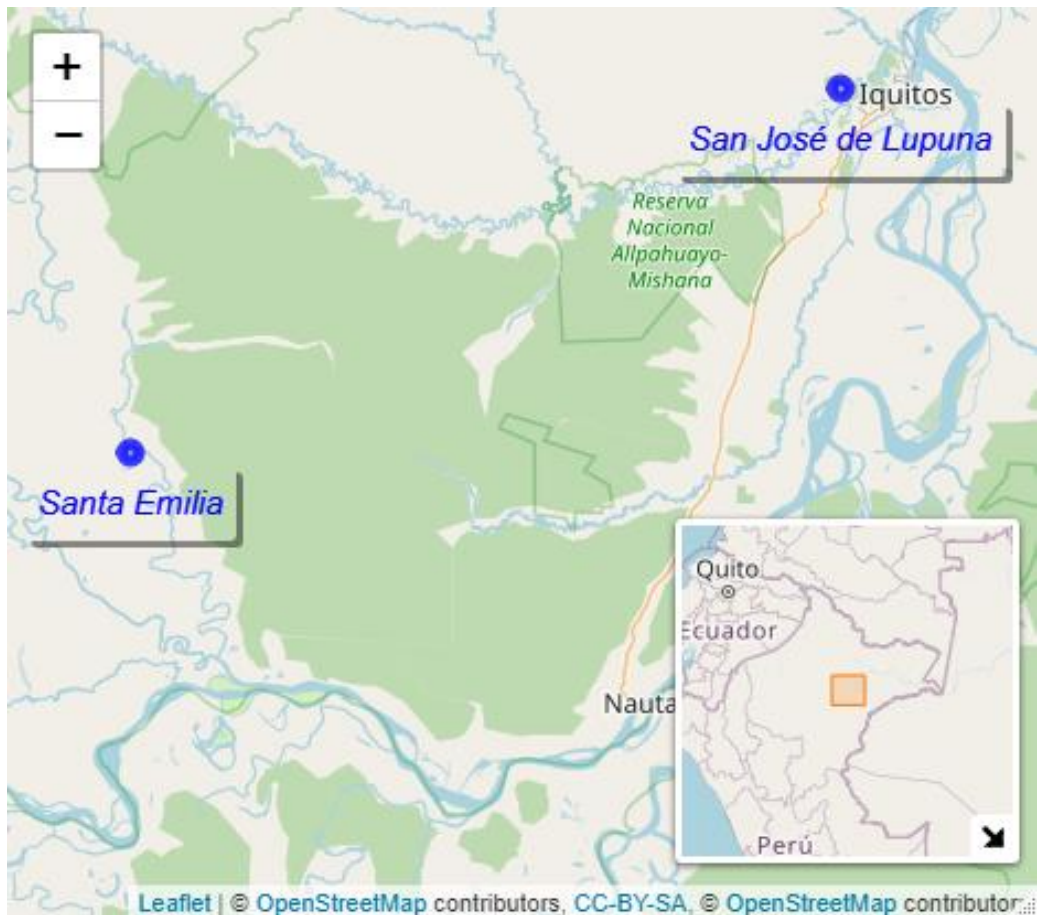
La población de estudio estuvo constituida por 669 individuos mayores de 3 años residentes en los sitios de estudio.

Ubicación geográfica

Las áreas de estudio incluyeron 2 comunidades endémicas de malaria de la Amazonía Peruana. San José de Lupuna (SJL), una comunidad a 500m de la orilla del río Nanay, localizada a 10 Km de Iquitos y accesible sólo por vía fluvial, cuenta con 95 viviendas y una población de 433 habitantes. Sus habitantes se dedican principalmente a actividades agrícolas.

Santa Emilia (SEM), es una comunidad en la quebrada Nahuapa, localizada a 144 Km de viaje por los ríos Marañón, Tigre y Nahuapa desde la ciudad de Nauta, tiene 236 habitantes distribuidos en 40 viviendas. Sus habitantes también se dedican principalmente a la agricultura.

Gráfico 1. Ubicación geográfica de las comunidades de estudio. Santa Emilia y San José de Lupuna, en el departamento de Loreto



Ambas comunidades están localizadas en el departamento de Loreto, en el Nororiente del Perú. Este departamento cubre el 30% del territorio peruano (368 851 km²) con una población de 883 510 habitantes (Censo Nacional 2017). Su clima es tropical lluvioso, la temperatura promedio anual es de 28°C, varía entre 17°C a 20°C de junio a julio y un máximo de 36°C en los meses de diciembre a marzo. La humedad promedio es 84% y la precipitación anual es de 4m. Presenta una estación lluviosa de noviembre a mayo y una estación seca de junio a octubre, aunque hay precipitaciones la mayor parte del año.

Criterios de selección

a. Criterios de inclusión. Se incluyó individuos con las siguientes características:

- a. Haber tenido 3 o más años al momento del enrolamiento.

- b. Haber proporcionado consentimiento y/o asentimiento informado.
- c. Haber tenido diagnóstico parasitológico de *P. vivax* por microscopía y diagnóstico clínico de malaria no complicada al momento del enrolamiento.

b. Criterios de exclusión. Fueron excluidos del estudio:

- a. Mujeres que hubieran estado gestando al momento del diagnóstico.
- b. Participantes que al reevaluar la microscopía y/o hacer el PCR tenían una infección inicial mixta o una mono infección con *P. falciparum*.

Tamaño muestral

La muestra se calculó usando la fórmula para estimar una proporción para poblaciones finitas:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p(1 - p)}{d^2(N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p(1 - p)}$$

Donde:

- n : muestra
- N : total de la población
- Z_α : coeficiente prefijado para el nivel de confianza
- p : proporción esperada del parámetro poblacional
- d : precisión deseada del muestreo

Se calculó que como mínimo, las muestras de 29 individuos serán necesarias, bajo el supuesto que CQ más PQ tienen una tasa de eficacia de 98%¹⁶⁻¹⁹, considerando un nivel de confianza de 95% y una precisión de 5% para una población censada de 669 habitantes. Se asumió una tasa de pérdida de 20% en el seguimiento, por lo que el tamaño ajustado de la muestra es 31 participantes.

Procedimiento de muestreo

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia o accidental y se seleccionó 31 individuos de acuerdo con los criterios de selección desde marzo del 2016 hasta enero del 2017.

3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnicas de recolección de datos

Se empleó 2 técnicas: i) registro de datos secundarios para la información clínica y epidemiológica de los individuos, y ii) pruebas estandarizadas para las mediciones biofisiológicas de los especímenes.

Instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron recolectados usando fichas de registro de datos (Anexo 2) tanto para la información de los individuos como para los resultados de los procedimientos de laboratorio que se describen a continuación.

3.4 Procedimientos de recolección de datos

Se realizó de la siguiente manera:

- Entre mayo del 2015 a septiembre del 2016 en SEM se realizaron visitas mensuales de detección activa intensiva de casos (DAIC) en toda la población, visitas semanales de detección activa de casos (DAC) en individuos febriles y visitas diarias al trabajador comunitario de salud para detección pasiva de casos (DPC). Además, entre agosto del 2016 y enero del 2017 se realizó DPC en el centro de salud de SJL.
- Desde marzo del 2016 hasta enero del 2017, cuando se obtuvo una gota gruesa positiva por cualquiera de los métodos de búsqueda de casos, antes del inicio del tratamiento se tomó 5 muestras de sangre en papel filtro (Whatman grado 3, Whatman, Springfield Mill, EE.UU.) para el diagnóstico y la cuantificación de la carga parasitaria por PCR en tiempo real (qPCR), y la segunda parte se almacenó en RNA Protect a -70°C para detección de gametocitos y confirmar la viabilidad de los parásitos cuantificados con qPCR de transcripción reversa (RTqPCR).

- Las muestras fueron codificadas, asignando el código de participante del estudio primario y un código de muestra propio del estudio.
- Estos individuos recibieron tratamiento directamente observado y con dosificación por peso de acuerdo con las guías nacionales por un miembro del estudio y si vomitaron dentro de los 30 minutos del tratamiento, una segunda dosis similar fue administrada. Además, se registró información de síntomas en los 7 días previos al diagnóstico.
- El día en que el individuo recibió su primera dosis de tratamiento antimalárico fue denominado día 0.
- Adicionalmente, los días 2, 3, 7, 14, 21 y 28 posteriores al inicio de la terapia antimalárica se colectaron muestras para microscopía y qPCR.
- Se recolectó la siguiente información a partir de las bases de datos anonimizadas del estudio primario: a) datos epidemiológicos en la Ficha de registro de datos epidemiológicos por paciente y, b) datos de síntomas, tratamiento y de laboratorio en la Ficha de registro de datos de síntomas, diagnóstico y tratamiento por paciente (Anexo 2).
- En las muestras de gota gruesa y sangre en papel filtro se realizaron los siguientes procedimientos:

Microscopía de diagnóstico. Todas las gotas gruesas fueron revisadas dos veces, la primera por un técnico en campo y la segunda por un técnico experto del MINSa para confirmar la presencia/ausencia de parásitos (asexuados y sexuados) y la especie de plasmodio. La densidad parasitaria fue estimada por cada 200 leucocitos asumiendo una concentración de 6000 leucocitos/ μ L. La gota gruesa fue considerada negativa si no se encontró ningún parásito después de revisar 100 campos⁴⁶.

Extracción de ADN. El ADN de las muestras de sangre en papel filtro fue extraído mediante el uso del kit comercial E.Z.N.A.® Blood DNA Mini Kit. Para ello se cortó una tira de 3x6mm de papel filtro impregnado con sangre el cual se colocó en un tubo Eppendorf de 1.5 ml y se le agregó 250 μ l de buffer TEN 2X (0.1 M Tris-HCl pH 8.0, 10 mM EDTA pH 8.0, 1 M NaCl), 50 μ L de SDS (Dodecilsulfato sódico) al 10%, y 180

µL de agua ultrapura. Se incubó por una hora a 65°C con agitación constante. Luego se procedió a la extracción de ADN siguiendo las indicaciones del manual del kit. Finalmente, la muestra fue eluida en 50 µl de buffer de elución o buffer tris EDTA (buffer TE) precalentado a 65°C, y se almacenó a -20°C hasta su posterior uso en los procesos moleculares.

Confirmación de mono infección. La presencia de infecciones mixtas de *P. vivax* y *P. falciparum* pueden generar resultados erróneos en el análisis, por ello todas las muestras gota gruesa positiva por *P. vivax* en el día 0 fueron confirmadas por qPCR.

Cuantificación de carga parasitaria por qPCR. Todas las muestras de sangre en papel filtro de los individuos seleccionado fueron cuantificadas por qPCR. La identificación y cuantificación de la especie de plasmodio fue realizada de acuerdo con el protocolo adaptado de Mangold et al.⁴⁷. El método está dirigido a detectar la subunidad 18S del ácido ribonucleico ribosomal utilizando los siguientes cebadores 5-TAACGAACGAGATCTTAA-3 and 5-GTTCCTCTAAGAAGCTTT-3. La reacción de PCR fue realizada a un volumen final de 25 µL la cual incluyó 12.5 µL de PerfeCTa SYBR Green FastMix (Quantabio, EE.UUU.), 300 nM de cada primer y 5 µL de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador Real-Time PCR CFX Connect TM Bio-Rad (Bio-Rad, EE. UU.), y las condiciones de ciclado consistieron en una desnaturalización inicial a 95°C por 2 minutos, seguido por una amplificación por 40 ciclos de 20 segundos a 95°C, 20 segundos a 52°C, y 30 segundos a 68°C con adquisición continua de imagen, luego una extensión a 68°C por 3 minutos. Terminada la amplificación se realizó una curva de hibridación que consistió en un incremento de 0.5°C y adquisición de imagen cada 5 segundos a partir de 65°C hasta 90°C y finalmente las especies fueron identificadas por análisis de la curva de temperatura de *melting* (T_m), con una T_m de 73°C (±1°C) para *P. falciparum* y 77°C (±1°C) para *P. vivax*. La cuantificación absoluta de la concentración de ADN (moléculas/µL) y la carga parasitaria

(parásitos/ μL) se realizó en base a una curva estándar elaborada a partir de un constructo del plásmido pGEM-PV-18srRNA (desde 2×10^6 a $2 \text{ mol}/\mu\text{L}$) y una muestra de alta concentración de *P. vivax* (desde 3×10^3 a $3 \text{ parásitos}/\mu\text{L}$).

Confirmación de la viabilidad del parásito en la muestra de sangre.

Debido a la degradación del ARN no se pudo realizar este procedimiento, ni cuantificar los gametocitos.

3.5 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos epidemiológicos, clínicos, de diagnóstico y tratamiento fueron ingresados por doble digitación en una hoja de Microsoft Excel 365 (Microsoft Corp., Redmond, Washington) y luego los análisis fueron realizados usando el software R versión 3.60 (Equipo Central de Desarrolladores R, Fundación R, Austria). Los datos parasitológicos y clínicos fueron registrados además en el Formulario de entrada de datos para la evaluación de la eficacia terapéutica 28d-v.84-2019.xlsx, desarrollado por el Programa Global de Malaria de la OMS⁴⁸.

Las características de los pacientes en el día 0 fueron resumidas en tablas, las variables categóricas se resumieron como frecuencias con proporción y se compararon entre comunidades usando la prueba chi - cuadrado, mientras que las variables continuas se resumieron como medias \pm desviación estándar (DE) o medianas con rango intercuartil (RIC) y fueron comparadas con pruebas paramétricas (t de Student) o no paramétricas (U de Mann-Whitney).

Para evaluar la evolución parasitológica y clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de CQ más PQ supervisada en malaria vivax no complicada, las guías para el estudio de la eficacia terapéutica *in vivo* de la OMS fueron empleadas¹³. Los datos fueron analizados con el Formulario de entrada de datos para estudios de 28 días de OMS mediante dos métodos:

- a) Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. Donde fueron incluidos todos los individuos enrolados en el estudio (incluyendo los retirados y los que abandonaron el estudio).
- b) El método tradicional. En este análisis, no se incluyeron a los individuos retirados del estudio o los que abandonaron el estudio.

Un individuo que abandonó el estudio fue definido como aquel con ausencia de muestra en alguno de los días de seguimiento. Un individuo retirado del estudio fue aquél que presentó una infección mixta o una mono infección por *P. falciparum* durante el seguimiento.

Se evaluó la tasa de eficacia usando qPCR para la evaluación de la respuesta parasitológica, se llevó a cabo un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y se utilizó la prueba de rango logarítmico de Mantel-Haenszel para comparar la incidencia acumulativa de eficacia terapéutica entre la evaluación parasitológica por microscopía y por qPCR.

Las tasas de prevalencia fueron dadas con un intervalo de confianza binomial exacto de 95% (95% IC). De este modo, se calculó la frecuencia y proporción de individuos que tuvieron FTT, FCT, FPT o RCPA, según se define en la Tabla 1.

Las tasas de eliminación de la parasitemia por *P. vivax* fueron expresadas como el número de casos que eliminaron los parásitos los días 2, 3, 7, 14, 21 y 28 días, sobre el total de pacientes incluidos en el estudio. Se realizó el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y se elaboraron curvas de eliminación en función del tiempo y la prueba de rango logarítmico de Mantel-Haenszel se utilizó para comparar la incidencia acumulativa de eliminación de la parasitemia entre los métodos de evaluación.

Las tasas de eliminación de la fiebre fueron expresadas como el número de casos que dejaron de reportar fiebre en los días 2, 3, 7, 14, 21 y 28 días, sobre el total de pacientes que reportaron o presentaron fiebre en el

día 0. No se realizó curvas ni análisis de supervivencia para el tiempo de eliminación de la fiebre.

Adicionalmente, se calcularon tasas de prevalencia de parasitemia asintomática y subpatente de las muestras del día 0 y durante los seguimientos. Se definió como asintomático a la ausencia de síntomas de malaria (fiebre, cefalea, escalofríos).

Finalmente, se realizó una tabla de contingencia con los resultados el seguimiento parasitológico para evaluar el desempeño de la gota gruesa teniendo como referencia el qPCR.

3.6 Aspectos éticos

La aprobación ética del estudio primario se obtuvo del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (código 64024) y del Programa de Protección de Sujetos Humanos de la Universidad de California en San Diego (Proyecto 100765), y la aprobación ética del presente estudio fue obtenida de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (código 100466).

Se obtuvo además autorización de la Dirección Regional de Salud de Loreto y permisos de las autoridades comunales locales.

Se obtuvo el consentimiento / asentimiento de todos los participantes con los documentos de consentimiento aprobados. Todos los métodos se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices aprobadas.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Caracterización clínica de los pacientes

Un total de 31 pacientes fueron seleccionados. En general y por cada lugar de estudio, más de la mitad de los participantes fueron del sexo masculino, además, dos tercios de los pacientes fueron menores de 15 años.

Las características sociodemográficas, la historia de episodios previos de malaria y antecedentes relacionados al episodio actual se muestran en la Tabla 2. No hubo diferencias entre las comunidades relacionadas al sexo o edad. La proporción de participantes que residían más de 10 años en su comunidad fue significativamente mayor en SJL (100%) que en SEM (20.8%). La diferencia se mantuvo respecto al tiempo residiendo en el hogar, mayor en SJL (50.7%) que en SEM (8.3%). Para los participantes mayores de 18 años, la proporción de quienes terminaron secundaria fue 100% en SJL y 0% en SEM, aunque las diferencias podrían estar influenciadas por la menor proporción de mayores de edad en ambas comunidades.

La proporción de individuos que tuvieron 4 o más episodios de malaria en su vida fue de 75% y 100% en SEM y SJL respectivamente. Alrededor del 70% presentó 2 o más episodios de malaria en el último año, 66.7% en SEM y 71.4% en SJL. Más del 70% de participantes presentaron al menos un episodio de malaria vivax en el último año, 70.8 en SEM y el 100% en SJL. La proporción de participantes que tuvieron al menos un episodio de malaria falciparum en el último año fue mayor en SEM (66.7%) que en SJL (28.6%) pero sin diferencia significativa. La presencia de un familiar en el hogar con antecedente de malaria en el último mes fue baja en ambas comunidades, 20.8% en SEM y 42.9% en SJL.

Más del 80% de los pacientes presentaron algún síntoma de malaria (fiebre o dolor de cabeza al momento del diagnóstico de malaria, sin diferencias entre comunidades.

Tabla 2. Características de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana comunidad

		Santa Emilia		San José de Lupuna		Total	
		n	%	n	%	n	%
Sexo	Masculino	15	62.5	4	57.1	19	61.3
	Femenino	9	37.5	3	42.9	12	38.7
Edad (En años)	< 5	2	8.3	0	0	2	6.5
	5 a 15	16	66.7	3	42.9	19	61.3
	> 15	6	25.0	4	57.1	10	32.3
Tiempo en la comunidad (En años) *	< 2	5	20.8	0	0	5	16.1
	2 a 9	14	58.3	0	0	14	45.2
	≥ 10	5	20.8	7	100.0	12	38.7
Tiempo en el hogar (En años) **	< 2	5	20.8	0	0	5	16.1
	2 a 9	17	70.8	3	42.9	20	64.5
	≥ 10	2	8.3	4	57.1	6	19.4
Grado de instrucción (mayores de 18 años) *	sin instrucción	0	0	0	0	0	0
	Primaria completa	3	50.0	0	0	3	30.0
	Secundaria completa	0	0	4	100.0	4	40.0
	Estudios superiores	3	50.0	0	0	3	30.0
Episodios de malaria en su vida	< 4	6	25.0	0	0	6	19.4
	≥ 4	18	75.0	7	100.0	25	80.6
Episodios de malaria en último año	0	3	12.5	0	0	3	9.7
	1	5	20.8	2	28.6	7	22.6
	2 a 3	6	25.0	4	57.1	10	32.3
	≥ 4	10	41.7	1	14.3	11	35.5
Malaria vivax en el último año	Si	17	70.8	7	100.0	24	77.4
	No	7	29.2	0	0	7	22.6
Malaria falciparum en el último año	Si	16	66.7	2	28.6	18	58.1
	No	8	33.3	5	71.4	13	41.9
Familiar con malaria en el último mes	Si	5	20.8	3	42.9	8	25.8
	No	19	79.2	4	57.1	23	74.2
Presencia de síntomas de malaria	Si	20	83.3	7	100.0	27	87.1
	No	4	16.7	0	0	4	12.9
Uso de mosquiteros	Si	24	100.0	7	100.0	31	100.0

* Diferencia significativa entre comunidades ($p < 0.01$)

** Diferencia significativa entre comunidades ($p < 0.05$)

El 100% de los pacientes reportaron uso de mosquitero la noche anterior al diagnóstico en ambas comunidades.

Tabla 3. Características biofisiológicas de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

	Santa Emilia	San José de Lupuna	Total
Edad (En años)			
media (DE)	16.3 (19.1)	20.4 (13.7)	17.2 (17.9)
mín – máx	4 – 87	10 – 49	4 – 87
Temperatura axilar (°C)			
media (DE)	37.6 (0.8)	37.8 (0.8)	37.6 (0.8)
mín – máx	36.2 – 39.6	37.2 – 39.2	36.2 – 39.6
Parasitemia por microscopía (parásitos/ μ L) *			
mediana (RIC)	1120 (3572)	6790 (9400)	1620 (5710)
mín – máx	32 – 9920	2800 – 90980	32 – 90980
Parasitemia por qPCR (parásitos/ μ L)			
mediana (RIC)	403.5 (3193.5)	1613.8 (15149.6)	641.7 (5620.6)
mín – máx	2.3 – 70470.7	101.2 – 21735.8	2.3 – 70470.7
Gametocitemia por microscopía (gametocitos/ μ L)			
mediana (RIC)	24 (148.5)	320 (1320)	48 (320)
mín – máx	0 – 2920	0 – 1800	0 – 2920

* Diferencia significativa entre comunidades ($p < 0.01$)

En la Tabla 3, se resumen las características biofisiológicas de los pacientes. La edad media fue similar entre comunidades, y los participantes tuvieron entre 4 y 87 años. La temperatura media de los pacientes fue de 37.6°C al momento del diagnóstico, no hubo diferencias entre comunidades.

La gota gruesa positiva de cada participante fue confirmada para este estudio y se realizó la cuantificación de parásitos asexuales y gametocitos. Las diferencias observadas en las parasitemias entre SEM y SJL fueron estadísticamente significativas ($p=0.004$). El qPCR fue realizado para confirmar la monoinfección el día del diagnóstico y cuantificar la parasitemia, mas, debido a la degradación del ARN no se pudo cuantificar gametocitos. No hubo diferencias entre comunidades en las parasitemias por qPCR.

Gametocitos fueron encontrados por microscopía en 18 pacientes, no hubo diferencias en la gametocitemia entre comunidades.

Comparación de la evolución parasitológica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica utilizando PCR y microscopía

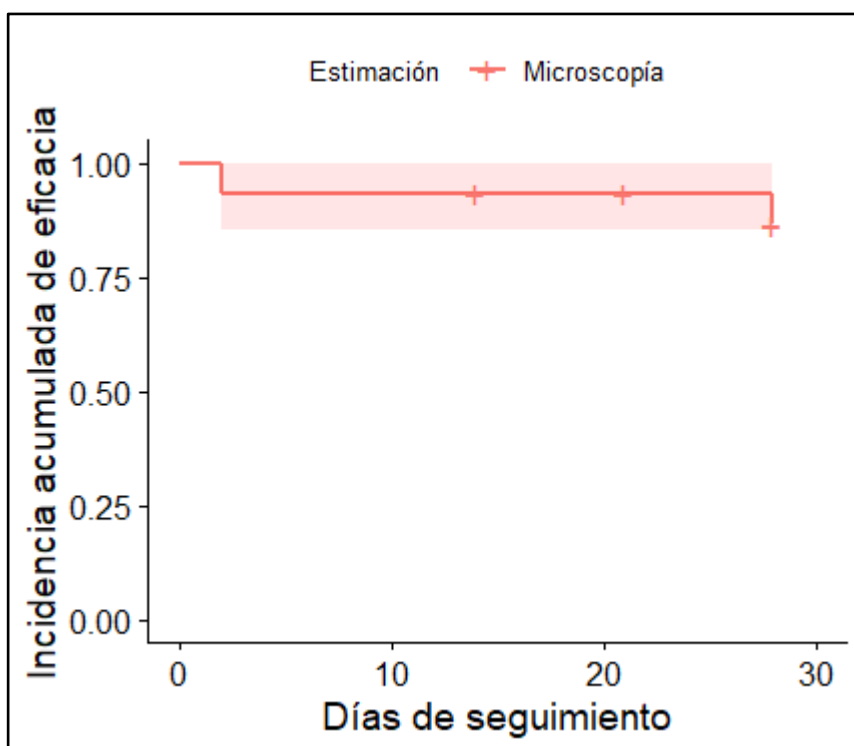
Tabla 4. Tabla de supervivencia de la respuesta parasitológica y clínica de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

Día	Casos en riesgo	Evento (FT)	Abandonos y retirados	Eventos acumulados	Incidencia acumulada de eficacia	Incidencia acumulada de falla
0	31	Ausente	.	0	.	.
2	31	FTT	.	1	.	.
2	30	FTT	.	2	0.935	0.065
14	29	Censurado	Abandonó	2	.	.
21	28	Censurado	Abandonó	2	.	.
28	27	FPT	.	3	.	.
28	26	FPT	.	4	0.866	0.134
28	25	Ausente	.	4	.	.
28	24	Ausente	.	4	.	.
28	23	Ausente	.	4	.	.
28	22	Ausente	.	4	.	.
28	21	Ausente	.	4	.	.
28	20	Ausente	.	4	.	.
28	19	Ausente	.	4	.	.
28	18	Ausente	.	4	.	.
28	17	Ausente	.	4	.	.
28	16	Ausente	.	4	.	.
28	15	Ausente	.	4	.	.
28	14	Ausente	.	4	.	.
28	13	Ausente	.	4	.	.
28	12	Ausente	.	4	.	.
28	11	Ausente	.	4	.	.
28	10	Ausente	.	4	.	.
28	9	Ausente	.	4	.	.
28	8	Ausente	.	4	.	.
28	7	Ausente	.	4	.	.
28	6	Ausente	.	4	.	.
28	5	Ausente	.	4	.	.
28	4	Ausente	.	4	.	.
28	3	Ausente	.	4	.	.
28	2	Ausente	.	4	.	.
28	1	Ausente	.	4	.	.
28	0	Ausente	.	4	.	.

Para evaluar la evolución parasitológica y clínica de los pacientes incluidos en el estudio, se elaboró una tabla de supervivencia (Tabla 4) tal que permitiera visualizar los eventos por caso durante los 28 días de seguimiento.

Como puede observarse, fueron incluidos 31 pacientes en el día 0, y se realizó la evaluación de acuerdo con la guía para el estudio de la eficacia terapéutica *in vivo* de la OMS. De aquellos, 2 pacientes no completaron el seguimiento de 28 días, pues abandonaron el área de estudio por razones laborales en los días 14 y 21. Ningún participante fue retirado del análisis. En el día 2 de seguimiento, 2 pacientes presentaron una falla terapéutica y fueron clasificados como FTT por un incremento de la parasitemia con respecto al día 0. Finalmente, 2 pacientes presentaron una recurrencia en el día 28, clasificándose como FPT acumulando 4 pacientes con FT y por consiguiente 25 pacientes con RCPA.

Gráfico 2. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier de la respuesta parasitológica y clínica de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana



La incidencia acumulada de falla terapéutica en el día 28 fue 13.4% (95% IC, 1.2% – 25.6%). En el Gráfico 2, puede observarse la curva de la incidencia acumulada de la eficacia terapéutica evaluada en 28 días de seguimiento.

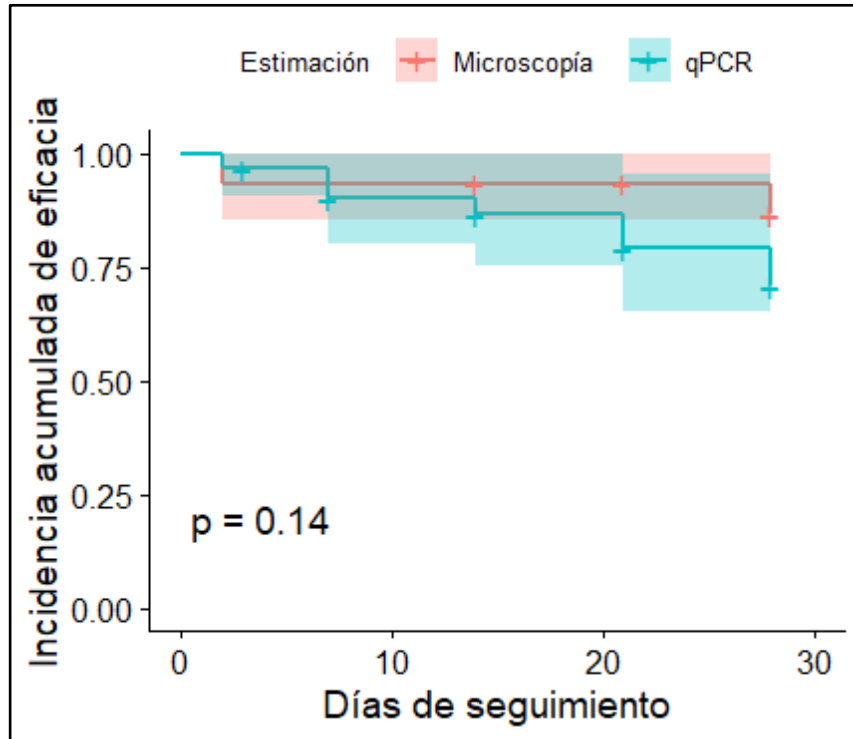
Tabla 5. Análisis de supervivencia de la respuesta parasitológica y clínica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

	Tiempo (en días)	Casos en riesgo (n)	Fallas (n)	Incidencia acumulada de eficacia	ES	95% IC
Microscopía	2	31	2	0.935	0.044	0.853 – 1.000
	28	27	2	0.866	0.062	0.752 – 0.998
qPCR	2	31	1	0.968	0.032	0.908 – 1.000
	7	29	2	0.901	0.054	0.801 – 1.000
	14	26	1	0.866	0.062	0.752 – 0.997
	21	23	2	0.791	0.076	0.655 – 0.956
	28	19	2	0.708	0.088	0.555 – 0.903

En la Tabla 5, se resume la comparación entre las 2 pruebas diagnósticas. En general, con el qPCR se identificaron más muestras con plasmodios detectables y a diferencia de la evaluación realizada con la metodología estándar usando microscopía, al hacer uso del qPCR en el seguimiento, se identificaron infecciones por *P. falciparum* que fueron censuradas del análisis de Kaplan-Meier y retiradas del análisis por tasas de prevalencia de acuerdo con el protocolo para retiro de pacientes. Es decir, además de los 2 pacientes que abandonaron el área de estudio, fueron retirados 4 pacientes en los días 3 (1), 7 (1) y 21 (2) por infección con otra especie de plasmodio. Se presentaron 8 FT durante el seguimiento (1 FTT y 7 FPT) y luego de 28 días se identificaron 17 RCPA, de acuerdo con el análisis de supervivencia, la incidencia acumulada de eficacia fue de 70.8% (95% IC, 55.5% – 90.3%).

Si bien el qPCR detectó más fallas terapéuticas que la microscopía, en este estudio no se encontraron diferencias estadísticas entre los dos métodos diagnósticos ($p=0.14$) como puede observarse en el análisis con la prueba de rango logarítmico (Gráfico 3).

Gráfico 3. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de la respuesta parasitológica y clínica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana



Tal como sugiere la OMS, también es presentado en la Tabla 6 el análisis por tasas de prevalencia. Para este análisis no fueron considerados los pacientes que abandonaron el estudio o que fueron retirados, teniendo como denominador para las tasas de falla y eficacia detectados por microscopía a 29 pacientes y por q PCR a 25.

La tasa de RCPA o tasa de eficacia terapéutica en el día 28 fue 86.2% (95% IC, 68.3% – 96.1%) para el régimen de CQ más PQ en pacientes con malaria vivax no complicada. La tasa de FT global luego de 28 días de seguimiento fue 13.8% (95% IC, 3.9% – 31.7%) y las tasas de FTT y FPT fueron 6.9% (95% IC, 0.8 – 22.8) cada una.

Tabla 6. Proporción de falla terapéutica según microscopía y qPCR de pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

	n	%	95% IC
Microscopía			
FT	4	13.8	3.9 – 31.7
FTT	2	6.9	0.8 – 22.8
FCT	0	0	0 – 11.9
FPT	2	6.9	0.8 – 22.8
RCPA	25	86.2	68.3 – 96.1
Total de pacientes evaluados	29		
Retirados	0	0.0	
Abandonos	2	6.5	
Total de pacientes seguidos	31		
qPCR			
FT	8	32.0	14.9 – 53.5
FTT	1	4.0	0.1 – 20.4
FCT	0	0	0 – 13.7
FPT	7	28.0	12.1 – 49.4
RCPA	17	68.0	46.5 – 85.1
Total de pacientes evaluados	25		
Retirados	4	12.9	
Abandonos	2	6.5	
Total de pacientes seguidos	31		

FT: falla terapéutica, **FTT:** falla terapéutica temprana, **FCT:** falla clínica tardía, **FPT:** falla parasitológica tardía, **RCPA:** respuesta clínica y parasitológica adecuada.

En el análisis de prevalencia por qPCR, la tasa de RCPA fue 68.0% (95% IC, 46.5% - 85.1%), la tasa de FTT fue 4.0% (95% IC, 0.1% - 20.3%) y la tasa de FPT fue 28.0% (95% IC, 12.1% - 49.4%).

El tiempo de eliminación de la parasitemia fue comparada entre las observaciones de microscopía y qPCR. Las tasas de eliminación de parásitos por día se muestran en la Tabla 7.

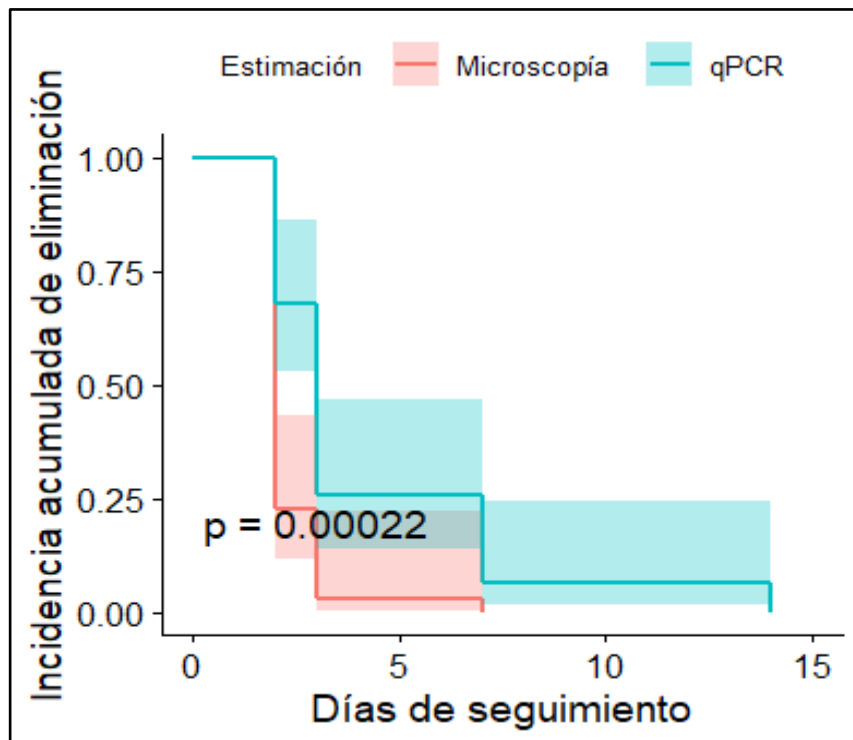
En el día 2, 24 pacientes presentaron una gota gruesa negativa (77.4% [95% IC, 58.9% – 90.4%]), mientras que por qPCR solo 10 de ellos habían resultado negativo en la prueba (32.3% [95% IC, 16.7% – 51.4%]) en este mismo periodo.

Tabla 7. Tiempo de eliminación de parasitemia por día según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

	microscopía		qPCR		<i>p</i> -valor*
	n (%)	95% IC	n (%)	95% IC	
Tiempo de eliminación de parásitos					
Día 2	24 (77.4)	58.9	10 (32.3)	16.7	51.4
Día 3	6 (19.4)	7.5	13 (41.9)	24.5	60.9
Día 7	1 (3.2)	0.1	6 (19.4)	7.5	37.5
Día 14	-		2 (6.4)	0.8	21.4

* Prueba de rango logarítmico

Gráfico 4. Curvas de eliminación de la parasitemia por días según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana



Sólo 1 paciente permaneció con gota gruesa positiva en el día 3 de seguimiento (3.2% [95% IC, 0.1% – 16.7]), alcanzándose el 100% de eliminación de parásitos en el día 7. En tanto que por qPCR, en el día 3 parásitos detectables en sangre fueron observados en 8 pacientes y para el día 7, todavía podían identificarse parásitos en 2 pacientes (6.4% [95% IC, 0.8% – 21.4%], alcanzando el 100% de eliminación de parásitos en el día 14.

En el Gráfico 4 se muestran las curvas de eliminación en función del tiempo. El tiempo en que los parásitos de plasmodio fueron detectables en sangre fue significativamente mayor cuando fueron observados por qPCR (día 7) que por microscopía (día 3) ($p=0.00022$).

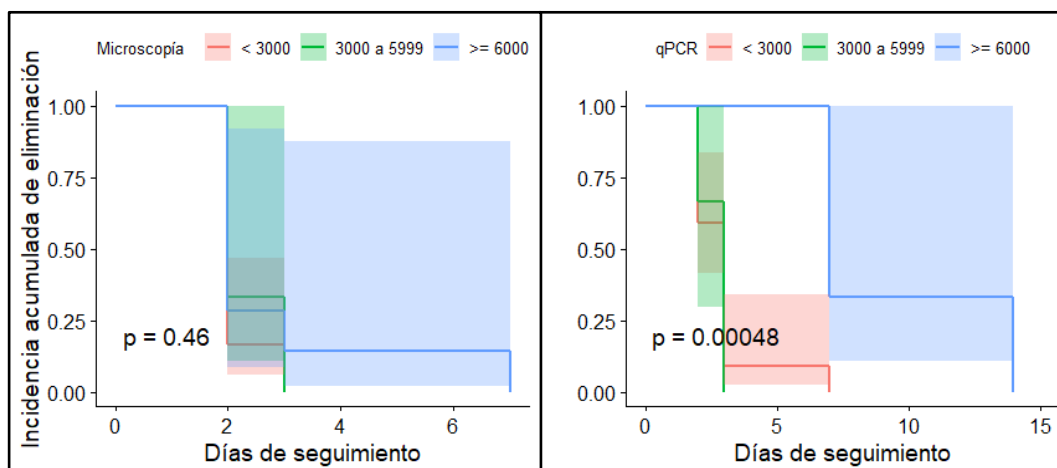
Tabla 8. Tiempo de eliminación de la parasitemia por carga parasitaria en el día 0 según microscopía y qPCR en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

Parasitemia en el día 0 (parásitos/μL)	n	tiempo de eliminación de parásitos (mediana)	<i>p</i>-valor*
Por microscopía			
< 3000	18	2.0	0.46
3000 a 5999	6	2.0	
\geq 6000	7	2.0	
Por qPCR			
\leq 3000	22	3.0	0.00048
3001 a 5999	3	3.0	
\geq 6000	6	7.0	

* Prueba de rango logarítmico

Se comparó el tiempo de eliminación de parásitos de acuerdo con la carga parasitaria en el día 0 (Tabla 8). El tiempo de eliminación de parásitos fue significativamente mayor con una carga parasitaria ≥ 6000 en el día 0 ($p=0.00048$) cuando se evaluó por qPCR, en tanto que por microscopía no hubo diferencias en el tiempo de eliminación como se observa en las curvas de eliminación del Gráfico 5.

Gráfico 5. Curvas de eliminación de la parasitemia por carga parasitaria en el día 0 según microscopía (izquierda) y qPCR (derecha) en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana



Evolución clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica

Tabla 9. Tiempo de eliminación de fiebre por día en pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina en dos comunidades de la Amazonía peruana

	n (%)	95% IC	
Tiempo de eliminación de fiebre			
Día 2	15 (65.2)	42.7	83.6
Día 3	4 (17.4)	5.0	38.8
Día 4	4 (17.4)	5.0	38.8
Total de febriles	23		

El tiempo de eliminación de la fiebre, se realizó en base al auto reporte del síntoma debido a que solo se obtuvo el registro de temperatura en el día 0. Así tenemos en la Tabla 9, que de 23 pacientes con fiebre o que reportaron haber tenido fiebre en el día 0, el 65.2% no presentaron fiebre desde el día 2,

es decir, solo 8 pacientes permanecieron febriles, 4 persistían febriles en el día 3 y el 100% de pacientes se reportaron sin fiebre en el día 4.

La evaluación de la evolución clínica de los pacientes durante los 28 días de seguimiento no reportó síntomas de malaria grave o presencia de reacciones adversas al tratamiento recibido.

Tabla 10. Prevalencia de parasitemia según microscopía y qPCR

	Microscopía				qPCR			
	N	%	95% ICs		n	%	95% ICs	
<i>Muestras día 0</i>	31				31			
Parasitemia positiva	31	100.0	86.3	99.7	31	100.0	86.3	99.7
<i>P. vivax</i>	31	100.0	86.3	99.7	31	100.0	86.3	99.7
Parasitemia Asintomática	4	12.9	4.2	30.8	4	12.9	4.2	30.8
Parasitemia Sintomática	27	87.1	69.2	95.8	27	87.1	69.2	95.8
<i>Muestras seguimiento</i>	181				181			
Parasitemia positiva	10 ^a	5.5	2.8	10.2	42	23.2	17.4	30.2
<i>P. vivax</i>	10 ^a	5.5	2.8	10.2	37	20.4	15.0	27.2
<i>P. falciparum</i>	0	0.0	0.1	2.6	5	2.8	1.0	6.7
Parasitemia Asintomática	9	5.0	2.4	9.5	34	18.8	13.5	25.4
Parasitemia Sintomática	1	0.6	0.0	3.5	8	4.4	2.1	8.8
Parasitemia Subpatente	-	-	-	-	34	18.8	13.5	25.4
Parasitemia Asintomática subpatente	-	-	-	-	27	14.9	10.2	21.1

^a 2 muestras fueron negativas por qPCR

Un total de 212 muestras fueron obtenidas para este estudio que fueron examinadas por microscopía y qPCR. Fueron realizadas 31 muestras en el día 0 y 181 durante los seguimientos, para las cuales se calcularon tasas de prevalencia de parasitemia (Tabla 10).

En el día 0, los pacientes que reportaron síntomas solo presentaron fiebre o cefalea y ningún paciente presentó vómitos o diarrea. La prevalencia de infecciones sintomáticas fue de 87.1% (95% IC, 69.2% - 95.8%) (Tabla 10).

La prevalencia de asintomáticos en el día 0 fue 12.9% (95% IC, 4.2% – 30.8%). La prevalencia de parasitemia asintomática en el seguimiento fue

5.0% (95% IC, 2.4% – 9.5%) por microscopía y 18.8% (95% IC, 13.5% – 25.4%) por qPCR.

La prevalencia de parasitemia subpatente fue 18.8% (95% IC, 13.5% – 25.4%) y la prevalencia de parasitemia subpatente asintomática fue 14.9% (95% IC, 10.2% – 21.1%).

Sensibilidad y especificidad de la gota gruesa en el seguimiento parasitológico durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica

Tabla 11. Capacidad predictiva de la microscopía comparada con el qPCR

		95% IC	
Prevalencia de la enfermedad	23.2%	17.4%	30.2%
Diagnósticos concordantes	80.1%	73.4%	85.5%
Sensibilidad	19.0%	9.1%	34.6%
Especificidad	98.6%	94.4%	99.8%
Valor predictivo positivo	80.0%	44.2%	96.5%
Valor predictivo negativo	80.1%	73.2%	85.7%
Cociente de probabilidades positivo	13.2	2.9	60.0
Cociente de probabilidades negativo	0.8	0.7	1.0

La microscopía sigue siendo el método de referencia o la prueba oro para la detección e identificación de plasmodios⁴⁹. En este estudio, se realizó una tabla de contingencia con los resultados de los seguimientos para comparar su desempeño teniendo como referencia el qPCR (Tabla 11).

La prevalencia de parasitemia por qPCR fue 23.2% (95% IC, 17.4% - 30.2%).

Se encontró una concordancia diagnóstica en 145 de las muestras (80.1%, [95% IC, 73.4% – 85.5%]). Del total de muestras discordantes con parasitemia identificada por qPCR, 23 muestras fueron por *P. vivax* y 4 por *P. falciparum*. Además, 2 muestras con parasitemia por *P. vivax* detectada por microscopía fueron negativas por qPCR, estas fueron reportadas y confirmadas con bajas parasitemias por un microscopista experto del MINSa (16 y 48 parásitos/ μ L).

La sensibilidad de la gota gruesa teniendo como prueba de referencia el qPCR fue 19.0% (95% IC, 9.1% – 34.6.0%) y el valor predictivo positivo fue 80.0% (95% IC, 44.2% – 96.5%).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En el Perú, se han realizado escasos estudios que evalúen la eficacia terapéutica del tratamiento antimalárico en la última década¹⁶⁻¹⁹, el último de ellos realizado por Delgado-Ratto et al. en el 2014. Estos estudios, evaluaron clásicamente la proporción de recurrencias posterior al tratamiento de malaria, reportando proporciones de falla terapéutica inferiores al 2%.

En este estudio se reporta la tasa de falla terapéutica al tratamiento antimalárico basado en la evolución clínica y parasitológica de los pacientes, de acuerdo con la clasificación para estudios de eficacia terapéutica *in vivo*¹³, habiéndose encontrado una incidencia acumulada de 13.3% de falla terapéutica durante el seguimiento de 28 días. Excluyendo los sujetos que no completaron los 28 días de seguimiento, la tasa de falla terapéutica fue 13.8%.

En el protocolo previo de OMS del 2002⁵⁰, no eran consideradas las FTT para la evaluación de eficacia terapéutica *in vivo* del tratamiento de malaria vivax no complicada. Sin considerar la FTT, la incidencia de falla terapéutica hubiera sido 7.1% y la tasa de falla 6.9% a los 28 días.

Al individualizar cada caso de FTT, observamos que por microscopía ambos presentaron un incremento de la parasitemia en el día 2 respecto al día 0, criterio para FTT según OMS de acuerdo con los hallazgos de Ratcliff et al¹³, sin embargo, en los seguimientos posteriores no se intensificó y se resolvió, en tanto que al comparar con la parasitemia por qPCR, ésta no presentó incremento ni se detectó recurrencias durante el seguimiento.

Aun así, la tasa de falla terapéutica reportada en este estudio, superior al 10% sugerido por OMS como límite de alerta para determinar la eficacia terapéutica de un medicamento o un esquema de tratamiento antimalárico, debe llamar la atención sobre los posibles factores asociados que estarían influenciando su baja respuesta.

Las principales causas de falla terapéutica como dosificación prescrita incorrecta, dosis total insuficiente, pobre adherencia, absorción disminuida por presencia de vómitos o diarreas^{12,15} fueron controladas, pues todos los pacientes incluidos en el análisis recibieron tratamiento directamente observado por un personal de salud que dosificó y prescribió basado en el peso de cada paciente, además de observar por media hora y ante la presencia de vómitos administrar una dosis suplementaria.

El mal diagnóstico de la especie de plasmodio, fue controlado por revisión de cada muestra de gota gruesa por un microscopista experto, y la mono infección en el día 0 fue confirmada por qPCR. Aunque en el seguimiento de 28 días con qPCR fueron detectadas infecciones por *P. falciparum*, ninguno de estos pacientes fue clasificado como falla terapéutica al final del seguimiento.

Otras posibles causas de falla terapéutica, como el efecto de la deficiencia enzimática de la CYP2D6 que reduce la actividad de la primaquina no pudieron ser evaluadas. También debe contemplarse la posibilidad de cepas resistentes, pero para evaluar se requiere dosificar la concentración de cloroquina en sangre¹².

En el análisis exploratorio se buscó asociación entre falla terapéutica y algunos factores del huésped y su interacción con el parásito tales como la comunidad de procedencia, el sexo, la edad, episodios previos de malaria vivax en el último año, la carga parasitaria en el día 0 y el tiempo de eliminación de los parásitos, no encontrándose ninguna relación significativa.

La mayor frecuencia de detección de falla terapéutica, el mayor tiempo observado en la eliminación de parásitos, así como la mayor frecuencia de detección de parásitos por el qPCR estuvo ligada a su mejor desempeño para detectar bajas parasitemias comparado con la microscopía.

En general un buen microscopista en condiciones de campo puede identificar hasta 50 parásitos/ μL ⁵¹, en contraste el qPCR tiene un límite de detección de

0.02 parásitos/ μ L. En este estudio, de las 34 parasitemias subpatentes detectadas por qPCR, 29 tuvieron parasitemias inferiores a 50 parásitos/ μ L.

Estas características del qPCR respecto a la microscopía, sugieren una mejor utilidad de esta herramienta. Sin embargo, no hubo diferencia significativa para la evaluación de la eficacia terapéutica.

Aunque el uso del PCR no mostró beneficios para la evaluación de la eficacia terapéutica en un mes de seguimiento, su utilidad en la detección y tratamiento de infecciones secundarias, en el seguimiento a largo plazo y mediante otros métodos debe todavía ser explorado.

Por otro lado, la interpretación de la parasitemia medida por qPCR en estudios realizados en áreas endémicas de *P. vivax* debe ser realizada con precaución, ya que actualmente no se dispone de una prueba de laboratorio confiable que pueda distinguir recaídas de reinfecciones²⁹.

Las limitaciones de este estudio incluyen la evaluación de la eficacia terapéutica del esquema CQ más PQ más allá de los 28 días de seguimiento para la determinación de recurrencias a largo plazo.

También es importante señalar que, aunque la muestra fue calculada basada en los reportes previos de recurrencia inferior al 2% dentro de los 28 días, el mayor número de fallas terapéuticas reportadas en este estudio sugieren que para implementar otro estudio similar, una proporción de 10% de falla terapéutica debe ser considerada en el cálculo de la muestra.

La aparición de parasitemias de *P. falciparum* después que el día 0 todas las infecciones fueron declaradas mono infecciones de *P. vivax*, sugiere la posibilidad de que reinfecciones por *P. vivax* durante el seguimiento también podrían haber ocurrido, esto no puede controlarse cuando los sujetos viven en lugares endémicos y debe evaluarse a nivel molecular si las recurrencias se tratan de recaídas o de reinfecciones.

CAPÍTULO VI: PROPUESTAS

La tasa de falla terapéutica reportada en este estudio, superior al 10% sugerido por OMS como límite de alerta para determinar la eficacia terapéutica del tratamiento antimalárico y considerando que en Loreto la administración de antimaláricos no es rutinariamente observada y la adherencia al esquema de CQ más PQ es de 62.2%²², debe llamar la atención para implementar un estudio a mayor escala.

Se propone realizar un estudio clínico prospectivo de un brazo para evaluar la eficacia terapéutica del esquema de tratamiento actual de malaria vivax no complicada en el Perú. El tamaño de muestra de la cohorte debe considerar la proporción de falla terapéutica de 13% y una proporción esperada de pérdidas de 20% considerando los pacientes que abandonan el estudio o podrían ser retirados.

Para el seguimiento de los participantes, además del esquema empleado en este estudio, aunque no existe un consenso del periodo de seguimiento para evaluar recaídas a largo plazo, debe realizarse un seguimiento mensual por 6 meses adicionales. Por otro lado, debe incluirse una evaluación adicional cuando los participantes reporten un episodio febril.

Para evaluar la posibilidad de cepas resistentes como causa de falla terapéutica en el primer mes, debe incluirse una muestra de sangre en el día de la recurrencia para dosificar los niveles de CQ y sus metabolitos activos.

Para asegurar que los parásitos detectados por el qPCR son viables y no trazas de ADN, debe considerar métodos de toma de muestra que preserven el ARN para realizar PCR por transcriptasa reversa (RT-PCR).

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

La eficacia terapéutica del esquema de tratamiento CQ más PQ para malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana CQ más PQ fue 86.6%.

La incidencia acumulada de eficacia con el uso de qPCR para evaluar la respuesta parasitológica fue 70.8%.

La prevalencia de parasitemias detectadas por qPCR fue alta. La prevalencia de subpatencia fue 18.8% y de subpatencia asintomática 14.4%.

La mayor frecuencia de detección de falla terapéutica, el mayor tiempo observado en la eliminación de parásitos, así como la mayor frecuencia de detección de parásitos por el qPCR en este estudio, sugeriría una mejor utilidad de este método comparado con la microscopía, sin embargo, la diferencia para evaluar eficacia terapéutica no fue significativa.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

1. El Programa nacional de malaria del Ministerio de Salud en conjunto con el Plan Malaria Cero deberían implementar un estudio de eficacia terapéutica *in vivo* para los esquemas de tratamiento vigentes de malaria no complicada tanto por *P. vivax* como por *P. falciparum* en la región Loreto en puntos centinelas ubicados en lugares de alta transmisión.
2. Considerando que en condiciones controladas la eficacia terapéutica fue menor a la esperada, es importante asegurar que la prescripción del tratamiento sea la correcta, deben implementarse estudios que evalúen la prescripción adecuada de tratamiento antimalárico de esa manera se reduce la presión de selección sobre las cepas de parásitos y se retrasa la aparición de resistencia y falla terapéutica.
3. La sensibilidad mayor del qPCR para la detección de bajas parasitemias y de infecciones secundarias que no fueron tratadas, sugieren que su utilidad en la vigilancia de malaria sería importante, sin embargo, implementar su uso es complicado por las condiciones de personal y equipos que requiere. Debe estudiarse otras técnicas moleculares que al igual que la microscopia o las PDR puedan implementarse en distintos niveles de resolución diagnóstica.

CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sachs J, Malaney P. The economic and social burden of malaria. *Nature*. el 7 de febrero de 2002;415(6872):680–5.
2. World Health Organization. World malaria report 2018. WHO. Geneva; 2018.
3. Centro Nacional de Epidemiología P y C de E. Sala Virtual de Situación de Salud [Internet]. Ministerio de Salud del Perú. [citado el 4 de marzo de 2019]. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/salasisituacional/sala/index/2_TablaCasostotal/81
4. Chapilliquén F. Situación epidemiológica de la malaria en el Perú. *Boletín Epidemiológico del Perú*. 2019;28(1):4–7.
5. Soto-Calle V, Rosas-Aguirre A, Llanos-Cuentas A, Abatih E, Dedeken R, Rodriguez H, et al. Spatio-Temporal analysis of malaria incidence in the Peruvian Amazon Region between 2002 and 2013. *Sci Rep*. el 16 de febrero de 2017;7(1).
6. Rosas-Aguirre A, Erhart A, Llanos-Cuentas A, Branch O, Berkvens D, Abatih E, et al. Modelling the potential of focal screening and treatment as elimination strategy for *Plasmodium falciparum* malaria in the Peruvian Amazon Region. *Parasit Vectors*. el 7 de diciembre de 2015;8(1):261.
7. Roshanravan B, Kari E, Gilman RH, Cabrera L, Lee E, Metcalfe J, et al. Endemic malaria in the Peruvian Amazon region of Iquitos. *Am J Trop Med Hyg*. el 1 de julio de 2003;69(1):45–52.
8. Rosas-Aguirre A, Guzman-Guzman M, Gamboa D, Chuquiyauri R, Ramirez R, Manrique P, et al. Micro-heterogeneity of malaria transmission in the Peruvian Amazon: A baseline assessment underlying a population-based cohort study. *Malar J* [Internet]. el 4 de diciembre de 2017;16(1):312. Disponible en: <http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12936-017-1957-y>
9. Rosas-Aguirre A, Speybroeck N, Llanos-Cuentas A, Rosanas-Urgell A, Carrasco-Escobar G, Rodriguez H, et al. Hotspots of Malaria Transmission in the Peruvian Amazon: Rapid Assessment through a Parasitological and Serological Survey. Carvalho LH, editor. *PLoS One*. el 10 de septiembre de 2015;10(9):e0137458.
10. Parekh FK, Hernandez JN, Krogstad DJ, Casapia WM, Branch OH. Prevalence and risk of *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria among pregnant women living in the hypoendemic communities of the Peruvian Amazon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. el 1 de septiembre de 2007;77(3):451–7.

11. Branch OL, Casapia WM, Gamboa D V., Hernandez JN, Alava FF, Roncal N, et al. Clustered local transmission and asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria infections in a recently emerged, hypoendemic Peruvian Amazon community. *Malar J.* el 23 de junio de 2005;4(1):27.
12. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. Third. WHO. Geneva: World Health Organization; 2015. 316 p.
13. World Health Organization. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. WHO. Geneva; 2009. 90 p.
14. World Health Organization. Methods and techniques for clinical trials on antimalarial drug efficacy: genotyping to identify parasite populations. WHO. Geneva; 2008.
15. Baird JK. Resistance to therapies for infection by *Plasmodium vivax*. *Clin Microbiol Rev.* julio de 2009;22(3):508–34.
16. Ruebush TK, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, Pillai DR, et al. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* el 1 de noviembre de 2003;69(5):548–52.
17. Van den Eede P, Soto-Calle VE, Delgado C, Gamboa D, Grande T, Rodriguez H, et al. *Plasmodium vivax* Sub-Patent Infections after Radical Treatment Are Common in Peruvian Patients: Results of a 1-Year Prospective Cohort Study. Gruner AC, editor. *PLoS One.* el 28 de enero de 2011;6(1):e16257.
18. Graf PCF, Durand S, Alvarez Antonio C, Montalvan C, Galves Montoya M, Green MD, et al. Failure of supervised chloroquine and primaquine regimen for the treatment of *Plasmodium vivax* in the Peruvian Amazon. *Malar Res Treat [Internet].* 2012;2012(936067):1–5. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/mrt/2012/936067/>
19. Delgado-Ratto C, Soto-Calle VE, Van den Eede P, Gamboa D, Rosas A, Abatih EN, et al. Population structure and spatio-temporal transmission dynamics of *Plasmodium vivax* after radical cure treatment in a rural village of the Peruvian Amazon. *Malar J.* el 6 de diciembre de 2014;13(1):8.
20. Galappaththy GNL, Tharyan P, Kirubakaran R. Primaquine for preventing relapse in people with *Plasmodium vivax* malaria treated with chloroquine. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* el 26 de octubre de 2013;2013(10).
21. Dirección General de Salud de las Personas. Norma Técnica de Salud para la atención de la malaria y malaria grave en el Perú. NTS N° 054-MINSA/DGSP-V.01. RM N° 116-2015/MINSA. Ministerio de Salud del Perú. Lima; 2015.
22. Grietens KP, Soto V, Erhart A, Ribera JM, Toomer E, Tenorio A, et al. Adherence to 7-day primaquine treatment for the radical cure of *P. vivax*

- in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* el 1 de junio de 2010;82(6):1017–23.
23. Álvarez G, Piñeros JG, Tobón A, Ríos A, Maestre A, Blair S, et al. Efficacy of three chloroquine-primaquine regimens for treatment of *Plasmodium vivax* malaria in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* el 1 de octubre de 2006;75(4):605–9.
 24. Durand S, Cabezas C, Lescano AG, Galvez M, Gutierrez S, 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. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [Internet]. el 2 de julio de 2014;91(1):18–26. Disponible en: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.13-0053>
 25. Botero D. Parasitosis tisulares por protozoos. En: Corporación para investigaciones biológicas, editor. *Parasitosis Humanas*. Quinta. Medellín; 2012. p. 215–6.
 26. Chiodini P, Bain BJ. *Plasmodium knowlesi*. Vol. 92, *American Journal of Hematology*. John Wiley & Sons, Ltd; 2017. p. 716.
 27. Hanf M, Stéphani A, Basurko C, Nacher M, Carme B. Determination of the *Plasmodium vivax* relapse pattern in Camopi, French Guiana. *Malar J.* el 4 de diciembre de 2009;8(1):278.
 28. Mueller I, Galinski MR, Baird K, Carlton JM, Kochar DK, Alonso PL, et al. Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. Vol. 9, *The Lancet Infectious Diseases*. 2009.
 29. Organización Mundial de la Salud. Control y eliminación del paludismo por *Plasmodium vivax*: Informe técnico. Organización Mundial de la Salud. 2016.
 30. Conn JE, Ribolla PE. Ecology of *Anopheles darlingi*, the Primary Malaria Vector in the Americas and Current Nongenetic Methods of Vector Control. En: *Genetic Control of Malaria and Dengue*. First. Elsevier; 2016. p. 81–102.
 31. Anstey NM, Douglas NM, Poespoprodjo JR, Price RN. *Plasmodium vivax*: Clinical Spectrum, Risk Factors and Pathogenesis. *Adv Parasitol.* 2012;80:151–201.
 32. Organización Mundial de la Salud. Paludismo [Internet]. 2018 [citado el 29 de enero de 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
 33. Mwangi TW, Mohammed M, Dayo H, Snow RW, Marsh K. Clinical algorithms for malaria diagnosis lack utility among people of different age groups. *Tropical Medicine and International Health.* junio de 2005;10(6):530–6.
 34. Carlton J. The *Plasmodium vivax* genome sequencing project. *Trends Parasitol.* el 1 de mayo de 2003;19(5):227–31.

35. Price RN, Tjitra E, Guerra CA, Yeung S, White NJ, Anstey NM. Vivax malaria: Neglected and not benign. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007;77(SUPPL. 6):79–87.
36. Quispe AM, Pozo E, Guerrero E, Durand S, Baldeviano GC, Edgel KA, et al. Plasmodium vivax hospitalizations in a monoendemic malaria region: Severe vivax malaria? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. el 2 de julio de 2014;91(1):11–7.
37. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. Second. WHO. Geneva; 2010.
38. John GK, Douglas NM, Von Seidlein L, Nosten F, Baird JK, White NJ, et al. Primaquine radical cure of Plasmodium vivax: A critical review of the literature. *Malar J*. 2012;11(1):280.
39. Maji AK. Drug susceptibility testing methods of antimalarial agents. *Trop Parasitol*. 2018;8(2):70–6.
40. Tools for surveillance of anti-malarial drug resistance: an assessment of the current landscape. 2018;17(75).
41. Imwong M, Snounou G, Pukrittayakamee S, Tanomsing N, Kim JR, Nandy A, et al. Relapses of *Plasmodium vivax* Infection Usually Result from Activation of Heterologous Hypnozoites. *J Infect Dis*. el 1 de abril de 2007;195(7):927–33.
42. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Pautas de tratamiento en casos de malaria [Internet]. República Bolivariana de Venezuela. 2017. p. 216. Disponible en: http://www.paho.org/ven/index.php?option=com_docman&view=download&alias=105-pautas-de-tratamiento-de-casos-de-malaria&category_slug=malaria-pautas-de-tratamiento&Itemid=466
43. Galatas B, Bassat Q, Mayor A. Malaria Parasites in the Asymptomatic: Looking for the Hay in the Haystack. *Trends Parasitol*. el 1 de abril de 2016;32(4):296–308.
44. Rao MR. Foreword: International Centers of Excellence for Malaria Research. Vol. 93, *The American journal of tropical medicine and hygiene*. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2015. p. 1–4.
45. Amazonian ICEMR | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases [Internet]. [citado el 14 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.niaid.nih.gov/research/amazonia-icemr>
46. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de malaria. Lima; 2003. p. 100.
47. Mangold KA, Manson RU, Koay ESC, Stephens L, Regner M, Thomson RB, et al. Real-Time PCR for Detection and Identification of Plasmodium spp. *J Clin Microbiol*. 2005;43(5):2435–40.

48. World Health Organization, Global Malaria Programme. Standardized data entry for therapeutic efficacy tests. Geneva: World Health Organization;
49. Organización Mundial de la Salud. Manual de aseguramiento de la calidad del diagnóstico microscópico del paludismo. Segunda Ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2018.
50. World Health Organization. Monitoring Antimalarial Drug Resistance – Report of a WHO Consultation. WHO. Geneva; 2002.
51. World Health Organization. Policy brief on malaria diagnostics in low-transmission settings September 2014. Global Malaria Programme. 2014.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Título de la Investigación	Pregunta de Investigación	Objetivos de la Investigación	Hipótesis	Tipo y diseño de estudio	Población de estudio	Instrumento de recolección
Eficacia terapéutica de cloroquina más primaquina en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana	¿Cuál es la evolución parasitológica y clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica supervisada de cloroquina más primaquina en malaria vivax no complicada?	<p>Objetivo general. Evaluar la evolución parasitológica y clínica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2015.</p> <p>Objetivos específicos. 1. Caracterizar los pacientes con malaria vivax no complicada tratados con cloroquina más primaquina supervisada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2015. 2. Comparar la evolución parasitológica durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2015, utilizando PCR y gota gruesa. 3. Evaluar la evolución clínica en 28 días desde el inicio de la administración de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2015. 4. Determinar la sensibilidad y especificidad de la gota gruesa en el seguimiento parasitológico durante 28 días desde el inicio de la administración terapéutica de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada en dos comunidades de la Amazonía peruana, en el año 2015.</p>	El tratamiento de cloroquina más primaquina supervisada en malaria vivax no complicada elimina los síntomas de los pacientes y produce una reducción importante de la parasitemia pero no elimina al parásito a nivel de los glóbulos rojos, y que permanece a niveles subpatentes por lo que serían capaces de continuar perpetuando la transmisión de malaria.	Tipo de estudio. Cuantitativo. Diseño. Cohorte retrospectiva	Población. Todos los habitantes de las comunidades de San José de Lupuna y Santa Emilia mayores de 3 años. Muestra. Muestreo no probabilístico. Se seleccionarán 30 pacientes con diagnóstico parasitológico de P. vivax por gota gruesa.	Datos secundarios Bases de datos del Amazonía ICERM.

Anexo 2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de registro de datos epidemiológicos por paciente

Dato a coleccionar	variable que relaciona las bases de datos del Amazonian ICEMR
Número orden correlativo	variable numérica continua
edad	en años
sexo	1=masculino 2=femenino
Comunidad donde viven	Lugar donde se detectó la infección
Diagnóstico por gota gruesa en la admisión	1= <i>P. vivax</i> 2= <i>P. falciparum</i>
Especie en la muestra admisión	1= <i>P. vivax</i> 2= <i>P. falciparum</i>
fecha del diagnóstico de malaria por gota gruesa	Fecha dd/mm/aa
Revisión gota gruesa inicio	1= <i>P. vivax</i> 2= <i>P. falciparum</i> 3=mixta
Fecha que firmó consentimiento informado	Fecha dd/mm/aa
fecha que firmó el consentimiento	Fecha dd/mm/aa. 99/99/99= No firmó
Código casa	Utilizar código vivienda de ficha de censo
Tiempo comunidad	En años
Tiempo en el hogar	En años
Relación con jefe familia	Usar códigos de ficha de censo, casillero 21
Grado de instrucción	Usar códigos de ficha de censo, casillero 22.1
Número episodios malaria en su vida	Usar códigos de ficha de censo, casillero 26
Número episodios malaria en último año	Usar códigos de ficha de censo, casillero 24
Número episodios malaria vivax en último año	Usar códigos de ficha de censo, casillero 25
Número episodios malaria falciparum en último año	Usar códigos de ficha de censo, casillero 26
Otro familiar con malaria en los 30 días previos	Usar códigos de ficha de febriles, casillero 52
Uso de mosquitero	Usar códigos de ficha de censo, casillero 66

Ficha de registro de datos de síntomas, diagnóstico y tratamiento por paciente

Dato a coleccionar	variable que relaciona las bases de datos del Amazonian ICEMR
Código muestra gota gruesa (gg)	tiene código identificación del paciente + g (gota gruesa) + día de la toma de muestra
Fecha que se procesó el examen gg	dd/mm/aa
Resultado lectura gg por especie	0= negativo, 1=P. vivax, 2=P. falciparum, 3= mixta
Resultado cantidad parásitos asexuales	variable numérica
Resultado cantidad parásitos gametocitos	variable numérica
Resultado de la revisión de la gg asexuados	variable numérica
Resultado de la revisión de la gg gametocitos	variable numérica
Síntomas de malaria	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Tipo de síntoma	0= no, 1= fiebre, 2= cefalea, 4=otro
Código de la muestra por PCR	tiene código identificación del paciente + día de la muestra
Fecha de proceso por PCR	Fecha dd/mm/aa
Resultado muestra por especie por PCR	0= negativo, 1=P. vivax, 2=P. falciparum, 3= mixta
Resultado muestra CT por PCR	variable numérica
Número de parásitos por PCR	variable numérica
Esquema tratamiento	0= no tratamiento, 1=CQ+PQ (estándar)
Tratamiento supervisado (los 7 días en <i>P. vivax</i>)	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 1	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 2	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 3	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 4	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 5	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 6	0= no, 1=si, 9=desconocido
Tratamiento supervisado día 7	0= no, 1=si, 9=desconocido
Seguimiento día 14	0= no, 1=si, 9=desconocido
Seguimiento día 21	0= no, 1=si, 9=desconocido
Seguimiento día 28	0= no, 1=si, 9=desconocido
Síntomas de malaria seguimiento día 02	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Síntomas de malaria seguimiento día 03	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Síntomas de malaria seguimiento día 04	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Síntomas de malaria seguimiento día 05	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Síntomas de malaria seguimiento día 06	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.
Síntomas de malaria seguimiento día 07	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día.

Dato a coleccionar	variable que relaciona las bases de datos del Amazonian ICEMR
Síntomas de malaria seguimiento día 14	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día. Sirve síntomas 2 días antes o 2 días después de fecha que corresponde
Síntomas de malaria seguimiento día 21	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día. Sirve síntomas 2 días antes o 2 días después de fecha que corresponde
Síntomas de malaria seguimiento día 28	1=si 2=no 9=desconoce. Sacar de ficha F2 (seguimiento y/o febriles) según día. Sirve síntomas 2 días antes o 2 días después de fecha que corresponde