

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Prevalencia de *Plasmodium* spp. y del grupo sanguíneo Duffy en las comunidades de Mataje y Ricaurte del norte de la provincia de Esmeraldas y cuantificación del número de copias de *Pvdbp* en *P. vivax* ecuatorianos

Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga

BIBIANA ESTEFANÍA SALAZAR COSTA

Quito, 2019

Certifico que la Disertación de Microbiología de la Srta. Bibiana Estefanía Salazar Costa ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Fabián Ernesto Sáenz Calderón
Director de la Disertación
Quito, 22 de febrero de 2019

“Un poco de ciencia aleja de Dios, pero mucha ciencia devuelve a Él”.

Louis Pasteur

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a Dios, que es la base de mi vida y sin Él no tengo nada. A mis padres por haber estado conmigo en todo momento, inculcarme mi fe y valores, por darme un buen ejemplo de vida que me impulsa a ser mejor persona cada día. A mis hermanos, Galo Andrés, Paula y Gabriela por estar a mi lado apoyándome en mis decisiones e impulsarme a cumplir mis sueños, por siempre brindarme una sonrisa en momentos difíciles.

Al CISEAL, por poner a mi disposición lo necesario para la realización de esta investigación. A la Pontificia Universidad Católica y al TWAS por el financiamiento de este proyecto. A la Universidad de Florida del Sur, por proporcionar los materiales y reactivos para este estudio.

Al grupo malaria, especialmente al Dr. Fabián Sáenz, por haber confiado en mí, por toda su paciencia, tiempo y transmitirme sus conocimientos. A Claudia, Gabriela, Silvi y Andrés por su compañía y dedicarme un tiempo en sus vidas para enseñarme cosas de la vida y el trabajo. A Andrés por siempre sacarme una sonrisa y ser un apoyo en todo momento.

A mis amigas, Carolina y Alejandra, por siempre estar unidas en la fe, por enseñarme que la amistad verdadera existe, por brindarme un espacio en sus vidas y haber vivido tantos momentos.

A mi amigo, Eddie Valencia, por ser un gran apoyo durante toda la carrera, por haber vivido grandes experiencias. A Vero Vallejo por siempre sacarme una sonrisa y ser una amiga de verdad. A Robert Aldáz por preocuparse por mí y brindarme su apoyo para culminar mis estudios. Al Mtr. Cesar Yumiseva por la ayuda en la elaboración de mapas.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	1
2. <i>ABSTRACT</i>	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. MALARIA.....	3
3.2. MALARIA EN EL MUNDO.....	4
3.3. MALARIA EN ECUADOR	5
3.4. MALARIA ASINTOMÁTICA	6
3.5. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	6
3.6. VECTOR DE LA MALARIA, <i>Anopheles spp.</i>	8
3.7. <i>Plasmodium spp.</i> : PARÁSITO CAUSANTE DE LA MALARIA	9
3.7.1. CICLO DE VIDA DE <i>Plasmodium spp.</i>	9
3.7.2. <i>Plasmodium falciparum</i>	10
3.7.3. <i>Plasmodium vivax</i>	11
3.8. MECANISMOS DE INVASIÓN DEL PARÁSITO A LOS GLÓBULOS ROJOS	11
3.8.1. ANTÍGENO DUFFY RECEPTOR DE QUIMIOCINAS (DARC) EN GLÓBULOS ROJOS	12
3.8.2. PROTEÍNA DBP DE <i>P. vivax</i>	13
3.9. INVASIÓN DE <i>P. vivax</i> EN DUFFY NEGATIVOS.....	14
3.10. EL NÚMERO DE COPIAS DE <i>Pvdbp</i> DE <i>P. vivax</i> PODRÍA INFLUIR EN LA CAPACIDAD DE INVASIÓN A LOS RETICULOCITOS.....	15
3.11. ENCUESTAS EPIDEMIOLOGICAS DE CONOCIMIENTO, ACTITUDES, PRÁCTICAS Y CARACTERÍSTICAS SOCIO DEMOGRÁFICAS.....	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS	18
4.1. ÉTICA.....	18
4.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS.	18

4.3. DETERMINACIÓN DE FENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY	19
4.4. EXTRACCIÓN DE ADN	20
4.4.1. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE PAPEL FILTRO CON KIT	20
4.4.2. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE SANGRE TOTAL	21
4.5. GENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY	21
4.6. DETERMINACIÓN DE PARASITEMIA POR MICROSCOPIA	22
4.6.1. PCR EN TIEMPO REAL PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE <i>Plasmodium</i> spp.	23
4.6.2. PCR ANIDADA PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE <i>Plasmodium</i> spp.	23
4.7. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE COPIAS DEL GEN <i>Pvdbp</i>	24
4.8. ENCUESTA DE CONOCIMIENTO, ACTITUDES, PRÁCTICAS Y CARACTERÍSTICAS SOCIO-DEMOGRÁFICA (CAPs)	25
4.9. ANÁLISIS DE DATOS	25
4.9.1 VARIABLES DE ESTUDIO	26
5. RESULTADOS	27
5.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	27
5.2. PREVALENCIA DE <i>Plasmodium</i> spp. EN LAS COMUNIDADES DE ESTUDIO	27
5.3. UBICACIÓN DE CASAS DE LA POBLACIÓN POSITIVAS CON MALARIA	28
5.4. FENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY	28
5.5. GENOTIPO DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY	29
5.6. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE COPIAS DEL GEN <i>Pvdbp</i>	29
5.7. ANÁLISIS DE ENCUESTAS	30
5.7.1. Encuesta socio-demográfica	30
5.7.2. Encuesta de conocimientos	31

5.7.3. Encuesta de actitudes	33
5.7.4. Encuesta de prácticas	35
6. DISCUSIÓN	38
6.1. PREVALENCIA DE <i>Plasmodium</i> spp.	39
6.2. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DEL GRUPO SANGUINEO DUFFY	41
6.3. NÚMERO DE COPIAS DEL GEN <i>Pvdbp</i>	44
6.4. ANÁLISIS DE ENCUESTAS	45
6.4.1 ENCUESTA SOCIO-DEMOGRÁFICA	46
6.4.2. ENCUESTA DE CONOCIMIENTOS.....	48
6.4.3. ENCUESTAS DE ACTITUDES	50
6.4.4. ENCUESTAS DE PRÁCTICAS	51
7. CONCLUSIONES	54
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
9. FIGURAS	69
10. TABLAS	87
11. ANEXOS	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de las comunidades de estudio.....	69
Figura 2. Género de la población.....	69
Figura 3. Frecuencia de edades de los participantes.....	70
Figura 4. PCR anidada de muestras de las comunidades Mataje y Ricaurte.....	71
Figura 5. Prevalencia de <i>P. vivax</i> y <i>P. falciparum</i> en las comunidades de Mataje y Ricaurte.....	72
Figura 6. Ubicación geográfica de las casas encuestadas de Mataje.	72
Figura 7. Ubicación geográfica de las casas encuestadas de Ricaurte..	73
Figura 8. Curvas de genotipos del grupo sanguíneo Duffy..	74
Figura 9. Curva de la determinación de número de copias de <i>Pvdbp</i> en PCR en tiempo real.	75
Figura 10. Ocupación de los encuestados en la comunidad de estudio.....	75
Figura 11. Grado de escolaridad.....	76
Figura 12. Servicios públicos de las viviendas de la comunidad.	76
Figura 13. Tipo de vivienda en la que residen los encuestados.....	77
Figura 14. Ubicación del servicio sanitario por los encuestados.....	77
Figura 15. Tipo de servicio sanitario en las viviendas.....	78
Figura 16. Conocimiento de cómo se transmite la malaria.	78
Figura 17. Conocimiento de los síntomas de la malaria.	79
Figura 18. Conocimiento sobre qué es lo primero que se debe hacer al presentar síntomas de malaria.	79
Figura 19. Conocimiento del tratamiento de la malaria.	80
Figura 20. Conocimiento sobre lo que se debe hacer, dentro de la vivienda, para evitar la malaria..	80
Figura 21. Conocimiento sobre lo que se debe hacer, fuera de la vivienda, para evitar la malaria.....	81
Figura 22. Conocimiento sobre quién es responsable de controlar la malaria.	81
Figura 23. Actitudes con respecto a si enfermarse de malaria es algo común.	82
Figura 24. Actitud respecto si la malaria es una enfermedad que se transmite de una persona enferma a sana..	82
Figura 25. Actitud respecto si utilizar toldillo les parece molesto..	83

Figura 26. Actitud respecto si hacerse tomar la gota gruesa es necesario para saber si tiene malaria.....	83
Figura 27. Actitudes con respecto a comprar pastillas sin prescripción médica para aliviarse de la malaria..	84
Figura 28. Actitud respecto si la malaria puede dar más de una vez.....	84
Figura 29. Actividades realizadas dentro de la vivienda para evitar la malaria.	85
Figura 30. Actividades realizadas fuera de la vivienda para prevenir la malaria ...	85
Figura 31. Prácticas respecto a si la última vez que los encuestados o un miembro de su hogar tuvieron malaria se hicieron tomar la gota gruesa.....	86
Figura 32. Prácticas sobre el motivo por que no terminan el tratamiento contra la malaria..	86

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación del genotipo del grupo sanguíneo Duffy.	87
Tabla 2. Secuencias de cebadores y sondas utilizados para la determinación de parasitemia mediante PCR en tiempo real.	88
Tabla 3. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación de la parasitemia mediante PCR anidada.	89
Tabla 4. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación del número de copias del gen <i>Pvdbp</i> de <i>P. vivax</i>	90
Tabla 5. Variables del estudio.	91
Tabla 6. Expresión de los alelos FyA y FyB en la determinación del fenotipo del grupo sanguíneo Duffy.	92
Tabla 7. Fenotipo y genotipo del grupo sanguíneo Duffy de las comunidades de Mataje y Ricaurte.	93
Tabla 8. Porcentaje del genotipo del grupo sanguíneo Duffy de las comunidades de Mataje y Ricaurte.	94

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Distribución de la malaria en el mundo.	95
Anexo 2. Distribución de malaria en la región de las Américas.	95
Anexo 3. Reporte de los casos de malaria en el Ecuador entre el 2016 y el 2017. .	96
Anexo 4. Ciclo de vida del parásito <i>Plasmodium</i> spp.	96
Anexo 5. Distribución de <i>Plasmodium vivax</i> en el mundo.....	97
Anexo 6. Consentimiento informado.....	98
Anexo 7. Asentimiento del menor de edad.....	102
Anexo 8. Encuesta de Conocimientos, Actitudes, Prácticas y Socio-Demográficas.	104
Anexo 9. Cálculos en la determinación del número de copias de <i>Pvdbp</i>	112
Anexo 10. Frecuencias totales de la encuesta Socio-Demográfica	118
Anexo 11. Frecuencias totales de la encuesta de Conocimientos.....	120
Anexo 12. Frecuencias totales de la encuesta de Actitudes	123
Anexo 13. Frecuencias totales de la encuesta de Prácticas	125

1. RESUMEN

La malaria es una enfermedad que afecta a las zonas tropicales del mundo, siendo un importante problema de salud pública. En los últimos 18 años la incidencia en Ecuador ha disminuido, lo que lo ubicó entre los países con capacidad de eliminar la malaria hasta el 2020. Sin embargo, a partir del 2015 se ha presentado un incremento en el número de casos afectando principalmente a la población más vulnerable de las áreas fronterizas del país. El principal causante de la malaria en América Latina y Ecuador es *Plasmodium vivax*, el cual se caracteriza por presentar infecciones sub microscópicas y asintomáticas, y por lo tanto constituye un problema para la eliminación de la enfermedad. En la invasión de *P. vivax* a los eritrocitos, es necesaria la interacción específica entre la proteína de unión Duffy (DBP) del parásito y el receptor Duffy (DARC) en los eritrocitos de humanos. El grupo sanguíneo Duffy presenta cuatro fenotipos codificados por la mutación de los alelos FyA y FyB. El fenotipo Fy(a-b-) “Duffy negativo” tiene una mutación puntual que no permite que el receptor DARC se exprese inhibiendo el ingreso de *P. vivax* a los eritrocitos. En este trabajo se estudió la epidemiología de la malaria en las comunidades del norte de la provincia de Esmeraldas con muestras sanguíneas del 2017 y se aplicó una encuesta epidemiológica de conocimientos, actitudes y prácticas de malaria (CAP) a los jefes de familia. Además, se determinó el número de copias del gen *Pvdbp* de muestras sanguíneas que presentaban infección por *P. vivax* colectadas entre 2012-2015. La prevalencia total de malaria en las zonas de estudio obtenida mediante técnicas moleculares fue de 5,83%. Todas las infecciones fueron asintomáticas. Las comunidades de estudio presentaron alta heterogeneidad del grupo sanguíneo Duffy y todas las personas infectadas con *P. vivax* presentaron el genotipo “Duffy negativo”. Los *P. vivax* ecuatorianos estudiados presentaron una sola copia del gen *Pvdbp*. La población encuestada presentó un conocimiento básico respecto a la malaria, pero la falta de prácticas para prevenir la malaria es un factor importante que podría dificultar la eliminación de la malaria. Este estudio proporciona información sobre el estado de la malaria en las comunidades de estudio del norte de Esmeraldas que facilitará a la formulación de nuevas estrategias para el control y prevención de la enfermedad.

Palabras clave: Conocimiento, actitud y prácticas, Ecuador, Esmeraldas, grupo sanguíneo Duffy, malaria asintomática, *Plasmodium*, prevalencia.

2. ABSTRACT

Malaria is a disease that affects the tropical areas of the world, being a major public health problem. In the last 18 years, the malaria incidence in Ecuador has decreased and Ecuador has been placed among the countries with the capacity to eliminate malaria before 2020. However, in 2015 there has been an increase in the number of malaria cases affecting the most vulnerable population in the border areas of the country. The main causant of malaria in Latin America and Ecuador is *Plasmodium vivax*, It constitutes a problem for the elimination of the disease. In the invasion of *P. vivax* to erythrocyte, the specific interaction between the Duffy binding protein (DBP) of the parasite and the Duffy receptor (DARC) in erythrocyte is necessary. The Duffy blood group has four phenotypes encoded by mutations of the FyA and FyB alleles. The Fy (a-b-) "Duffy negative" phenotype has a point mutation that does not allow the DARC receptor to be expressed into the erythrocyte and inhibits the entry of *P. vivax*. In this work, we studied the epidemiology of malaria in the communities of the north of the province of Esmeraldas, with samples collected in 2017. An epidemiological survey of knowledge, attitudes and practices of malaria (KAP) was applied to household heads. In addition, the number of copies of the *Pvdbp* gene was determined for samples that had *P. vivax* infection collected between 2012-2015. The total prevalence of malaria in the study areas by molecular techniques was 5.83%. All infections were asymptomatic. The communities studied presented high heterogeneity of the Duffy blood group, and all the people infected with *P. vivax* presented the "Duffy negative" genotype. All *P. vivax* samples studied presented a single copy of the *Pvdbp* gene. The surveyed population presented a basic knowledge about malaria but the lack of prevention practices is an important factor that could hinder the elimination of the disease. This study provides information on the state of the disease in the communities of the north of Esmeraldas and will allow the implementation of new strategies of control and prevention of malaria.

Keywords: Asymptomatic malaria, Duffy blood group, Ecuador, Esmeraldas, knowledge, attitude and practice, *Plasmodium*, prevalence

3. INTRODUCCIÓN

3.1. MALARIA

La malaria o paludismo es una enfermedad presente en áreas tropicales y subtropicales, de gran impacto a nivel mundial, que presenta alta mortalidad y morbilidad (Bousema & Drakeley, 2011). Los principales factores que favorecen al incremento de la malaria son: el cambio climático, el nivel socioeconómico de la población, la expansión de la enfermedad por desplazamiento humano, los químicos agrícolas y la deficiencia de los servicios de salud (OPS/OMS, 2012).

La malaria es causada por los parásitos del género *Plasmodium* spp. y transmitida mediante la picadura del mosquito hembra del género *Anopheles* (Bousema & Drakeley, 2011). Cinco especies de *Plasmodium* causan la enfermedad en humanos, estos son: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malarie* y *Plasmodium knowlesi*. De estos, las especies que causan el mayor número de casos en el mundo son *P. falciparum* y *P. vivax* (Herrera et al., 2015).

Las infecciones causadas por *Plasmodium* spp pueden provocar diversos cuadros clínicos, los cuales varían desde asintomáticos, malaria con síntomas leves, malaria grave y la muerte. Los síntomas que presenta el paciente permiten clasificar la malaria en: asintomática, no complicada o complicada (severa). Estos síntomas pueden aparecer entre los 10 y 15 días a partir de la picadura del mosquito infectado (WHO, 2018). Las infecciones más comunes son las de malaria asintomática y sub-microscópica, siendo un problema para la eliminación de la enfermedad porque son un reservorio en la transmisión de la malaria en todas las zonas endémicas. La prevalencia de casos asintomáticos es alta especialmente en infecciones de *P. vivax* (Laishram et al., 2012; Lin, Saunders, & Meshnick, 2014; Vallejo et al., 2015).

Los síntomas más frecuentes, como parte de la malaria no complicada, son: fiebre, sudor, dolor de cabeza, náusea, vómitos y malestar en general. Estos se manifiestan cada 2 o 3 días dependiendo de la especie de *Plasmodium* spp. La malaria severa ocurre cuando las infecciones se complican por fallas o anomalías graves en los órganos, en la sangre o en el metabolismo del paciente; se presenta entonces la malaria cerebral, anemia severa por

hemólisis, hemoglobinuria, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), insuficiencia renal entre otras (CDC, 2018a).

A nivel mundial, anualmente se presenta gran número de casos. En 2016, se estimaron alrededor de 216 millones de casos años que provocaron 445 000 muertes (OMS, 2017a). Las regiones donde más casos de la enfermedad y muertes se registran son: África Subsahariana; seguidas por Asia Suroriental, Mediterráneo Oriental, Pacífico Occidental y Latinoamérica (WHO, 2018).

En la región de las Américas, en el 2016, se reportaron 875 000 casos de malaria produciéndose cerca de 650 muertes. La población en riesgo de presentar manifestaciones graves son: lactantes, niños menores de cinco años, embarazadas, pacientes con VIH/SIDA, migrantes no inmunes y viajeros (OMS, 2018b; OPS/OMS, 2017b).

3.2. MALARIA EN EL MUNDO

La malaria está presente en zonas tropicales del mundo como: África subsahariana, Asia, América Central y del Sur, Oriente Medio y en ciertos lugares de Europa. Actualmente, 91 países son considerados endémicos para esta enfermedad (OMS, 2017a; OPS/OMS, 2017b) (Anexo 1).

La incidencia de la malaria en el mundo ha disminuido entre el 2010 y el 2016, en un 18%. Presentando un mayor descenso con 48% Asia sudoriental, seguido por 22% en América y 20% en África. Sin embargo, a partir del 2014, las regiones de Asia Sudoriental, Pacífico Occidental, África y la región de las Américas reportaron incrementos elevados de casos. La especie *P. falciparum* es más prevalente en la región de África y *P. vivax* es predominante en la región de las Américas (WHO, 2017).

En la región de las Américas, entre los años 2015 y 2017, se reportó un incremento de casos en Colombia, Brasil, Ecuador, México, Nicaragua, Guyana, El Salvador, Haití, Nicaragua, Panamá, Venezuela, Costa Rica y Honduras encontrando, en ciertos países, casos endémicos y en lugares que no se había reportado anteriormente (PAHO, 2018) (Anexo 2).

En la región Amazónica de Brasil, la malaria incrementó 48%, Costa Rica y Honduras notificaron casos autóctonos de malaria, Nicaragua reportó que la mayoría de los casos estuvieron presentes en la región autóctona de la Costa del Caribe norte, los casos reportados en México estuvieron presentes en territorios que no habían tenido transmisión reciente y en Venezuela, en el 2017, se reportaron más casos que los reportados en los últimos 29 años (PAHO, 2018). La costa pacífica de Colombia y la región amazónica de Perú presentaron mayor transmisión de malaria en el 2017 (PAHO/WHO, 2018). Colombia notificó 55 117 casos de malaria (Salas Botero, 2017) y Perú reportó 4 723 casos de malaria (Centro Nacional de Epidemiología, 2018).

3.3. MALARIA EN ECUADOR

En el Ecuador, la malaria está presente en la Costa y Amazonía, especialmente en cuatro provincias: Morona Santiago, Pastaza, Orellana y Esmeraldas. La especie *P. vivax* está presente con mayor frecuencia en la región Amazónica, mientras que la especie *P. falciparum* está presente, principalmente, en la provincia de Esmeraldas (OPS/OMS, 2017).

En los últimos 18 años el Ecuador ha experimentado una reducción de casos de malaria de alrededor del 99%, considerando al país en la fase de pre-eliminación según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2013 (OPS/OMS, 2014).

A pesar de la disminución del número de casos, a partir del 2015, Ecuador presentó un incremento de casos de malaria. En el 2016, se notificaron 926 casos de malaria, 69% de estos correspondientes a *P. vivax* y 31% a *P. falciparum*. En el 2017, se reportó un incremento de casos de malaria a 1279, el 72% de los cuales fue ocasionado por *P. vivax* y el 28% por *P. falciparum*. La mayoría fueron reportados en las provincias de: Morona Santiago, Orellana, Pastaza y Esmeraldas (OMS, 2017a; OPS/OMS, 2017) (Anexo 3).

Los factores que han producido el aumento en el número de casos son los fenómenos naturales, cambios climáticos, nivel socio económico de la población, desplazamiento humano, exposición al parásito, inmunología del humano, genética del parásito, entre otras (PAHO, 2018). Se ha observado que en épocas de lluvia y de presencia del fenómeno de El Niño aumentan los casos, debido a que mejora las condiciones para la propagación del vector (Herrera et al., 2015). El incremento de casos en el Ecuador en los últimos años podría

deberse además al flujo migratorio desde Venezuela, Colombia y Perú al Ecuador provocando la reintroducción de los parásitos (OPS/OMS, 2017a; Sáenz et al., 2017).

3.4. MALARIA ASINTOMÁTICA

La prevalencia de malaria es difícil de estimar debido a la presencia de infecciones asintomáticas y sub-microscópicas, porque la detección de estos casos es complicada debido a sus bajas parasitemias. Las infecciones asintomáticas son más comunes en el parásito *P. vivax*. Las infecciones de malaria asintomática pueden ser consideradas como reservorios en la transmisión de la malaria en lugares endémicos (Duarte de Barrios, Russomando, & del Puerto, 2016).

En América Latina se ha reportado presencia de infecciones asintomáticas y sub-microscópicas en Brasil, Perú, Colombia y Venezuela. (Recht et al., 2017). En Colombia, las infecciones sub-microscópicas prevalecen en áreas de transmisión baja, siendo importante la vigilancia de estos casos para determinar la incidencia de malaria (Vallejo et al., 2015). La Amazonía peruana presenta una alta prevalencia de asintomáticos en lugares de difícil acceso a un laboratorio (Serra-Casas et al., 2017).

En el Ecuador se ha reportado una proporción alta de infecciones asintomáticas en comunidades de El Pedregal, Ricaurte, La Boca y El Guadual en el cantón San Lorenzo (7.4% de prevalencia, de las cuales todas fueron asintomáticas), lo que lleva a pensar que existe una sub-estimación de los casos de malaria en esta zona (Sáenz et al., 2017). Veloz (2015), se enfocó en comunidades de El Pedregal, Ricaurte, La Boca y El Guadual del cantón San Lorenzo y obtuvo una prevalencia de 97% de malaria asintomática de la prevalencia total del estudio y en el estudio de Torres (2016), determinó un 93,02% de casos sub-microscópicos de los casos positivos obtenidos de las comunidades de El Guadual, Mataje, Palma Real, San Francisco y Tobar Donoso ubicadas en el cantón San Lorenzo.

3.5. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Los principales métodos que se utilizan para el diagnóstico de la malaria son: examen microscópico, pruebas rápidas y métodos moleculares (OMS, 2017a).

El examen microscópico es el método más utilizado para la detección de la malaria, se realiza mediante la observación de gota gruesa o frotis de sangre con tinción de Giemsa. Este método presenta un límite de detección de aproximadamente 50 parásitos/ μL de sangre con una sensibilidad superior al 80% y especificidad de 76% que permite, a través de los diferentes estadios del parásito en la sangre, reconocer el género *Plasmodium* y con una mayor experticia distinguir entre las especies *P. falciparum* y *P. vivax* y estimar densidad parasitaria. Por esto es considerado un método eficaz en el diagnóstico de la enfermedad (OMS, 2017a).

Las pruebas de diagnóstico rápido (RDT) son utilizadas en casos sospechosos para malaria. Esta prueba es conocida comercialmente como: “tiras reactivas” o “dispositivos de diagnóstico rápido de la malaria”, se basa en la detección de proteínas del parásito, específicas para cada especie, presentes en la sangre humana. La mayoría de RDT son específicas para *P. falciparum*, detectando la proteína rica en histidina 2 (HRP2) o lactato deshidrogenasa (pLDH). Las RDT presentan una sensibilidad de $\geq 95\%$ y especificidad de 88%, con parasitemias ≥ 100 parásitos/ μL de sangre (OMS, 2006).

Por otro lado, existen otras herramientas que permiten detectar casos con parasitemias bajas como las pruebas moleculares, que presentan una sensibilidad del 99,6% y especificidad del 100% en la detección del parásito utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para la identificación de *Plasmodium* spp y sus especies. Dentro del diagnóstico molecular; la PCR multiplex, PCR anidada, PCR en tiempo real y PCR PET (transferencia de electrones fotoinducidos) permiten la detección de la especie del parásito, infecciones mixtas o parasitemias submicroscópicas, permitiendo un diagnóstico eficaz al observar infecciones asintomáticas (Baird, Valecha, Duparc, White, & Price, 2016). Las pruebas moleculares presentan una alta sensibilidad de hasta 1 parásito/ μL de sangre. Sin embargo, el principal limitante es el costo del método (Muñoz et al., 2014).

Otras pruebas utilizadas, principalmente para estudios epidemiológicos son las técnicas serológicas, las cuales están basadas en la detección de anticuerpos producidos por el parásito presente en la sangre. Entre estas técnicas están inmunofluorescencia indirecta y el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés). Ambos ensayos presentan una alta sensibilidad (84,2%) y especificidad (99,6%) y son utilizados para la identificación de la exposición previa del parásito (Muñoz et al., 2014).

La malaria es una enfermedad que se puede prevenir y tratar. El tratamiento permite reducir la transmisión de la infección a otras personas mediante la eliminación del reservorio y evitar la aparición a la resistencia de los antimaláricos. Los antimaláricos más comunes utilizados para el tratamiento de la malaria son: Quinina (QN), cloroquina (CQ), mefloquina (MQ), artemisininas (ARTs) y sulfadoxina-pirimetamina (SP) (OMS, 2018a).

P. falciparum ha desarrollado resistencia a la mayoría de antimaláricos como: CQ, SP y ARTs entre otros. Debido a la aparición de resistencia a los diferentes antimaláricos en *P. falciparum*, se ha desarrollado una combinación de derivados de ARTs con un antimalárico asociado como MQ, lumefantrina (L) o primaquina (PQ), siendo arteméter-lumefantrina (AL) el medicamento actual para tratar infecciones con *P. falciparum* en Ecuador. En el país *P. falciparum* presenta resistencia a CQ, pero presenta sensibilidad a SP (Sáenz et al., 2017; Valenzuela, 2018; WHO, 2016c). *P. vivax* no presenta resistencia a CQ en el Ecuador, pero sí en diferentes partes del mundo como Nueva Guinea, India y Myanmar. A pesar de la resistencia a CQ, *P. vivax* aún presenta sensibilidad a MQ y piperquina (Chotivanich et al., 2009).

La OMS recomienda, antes de administrar el tratamiento, la confirmación parasitológica mediante pruebas de microscopía o pruebas de diagnóstico rápido (OMS, 2018a). El tratamiento de malaria en el país para casos de malaria no complicada por *P. falciparum* es AL durante tres días y PQ en el cuarto día; y en casos complicados QN. En infecciones provocadas por *P. vivax* se utiliza el antimalárico CQ durante los tres primeros días y, posteriormente, PQ durante siete días. La utilización de CQ y PQ brinda un efecto sinérgico tratando de eliminar los estadios de la sangre humana y PQ elimina los parásitos en el estadio de dormancia “hipnozoíto” (OMS, 2017a).

3.6. VECTOR DE LA MALARIA, *Anopheles* spp.

El vector que transmite los parásitos de la malaria es el mosquito hembra del género *Anopheles*. El mosquito presenta cuatro etapas en su ciclo de vida: huevo, larva, pupa y adulto. Las tres primeras etapas son acuáticas y tienen una duración de 5 a 14 días y en la etapa de adulto vive alrededor de 1-3 semanas en la naturaleza (CDC, 2017a).

El mosquito *Anopheles* spp. es el único vector de la malaria para los humanos. Existen 444 especies de *Anopheles* que difieren en la capacidad de transmitir el parásito *Plasmodium* spp (Artemov et al., 2018). Aproximadamente 70 especies han demostrado ser vectores competentes de la malaria en humanos (Hay et al., 2010). Un importante vector de malaria en América Latina es *Anopheles albimanus* (Lecona-Valera et al., 2016). Esta especie está distribuida en el continente americano desde las regiones del sur de México hasta el norte de Perú y es considerado un vector primario de malaria en América Latina (Vallejo et al., 2016).

3.7. *Plasmodium* spp: PARÁSITO CAUSANTE DE LA MALARIA

El género *Plasmodium* pertenece al filo Apicomplexa, orden Haemosporida, familia Plasmodiidae (Van As, Cook, Netherlands, & Smit, 2016). Existen alrededor de 200 especies de *Plasmodium* spp. que afectan a mamíferos, aves y reptiles (Luo, Sullivan, & Carlton, 2015). Las especies de *Plasmodium* spp. que causan la enfermedad en humanos son: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malarie* y *P. knowlesi* (CDC, 2017b).

P. falciparum es la especie que está asociada con la infección de mayor mortalidad y morbilidad, mientras que *P. vivax* presenta una amplia distribución geográfica porque podría estar en mosquitos que están en temperatura menores, además esta especie puede entrar en una fase de dormancia en su ciclo de vida (Howes et al., 2016; ISGlobal, 2014; Russo et al., 2017).

3.7.1. CICLO DE VIDA DE *Plasmodium* spp.

El ciclo de vida de *Plasmodium* spp. presenta dos hospederos: el mosquito hembra del género *Anopheles* y el humano. El ciclo del parásito incluye dos tipos de reproducciones: la reproducción sexual que ocurre dentro del mosquito y la reproducción asexual en los humanos, siendo el humano un hospedero intermediario (Mistarz et al., 2017) (Anexo 4).

En humanos, el ciclo de vida de *Plasmodium* spp. empieza por la picadura del mosquito, el mismo que introduce los parásitos en el estadio de esporozoíto al torrente sanguíneo.

En el ciclo exo-eritrocítico, los parásitos maduran y se acumulan en las células hepáticas formando estructuras llamadas esquizontes. Una vez que los esquizontes maduran liberan merozoítos al torrente sanguíneo que infectan a los eritrocitos, iniciando el ciclo eritrocítico (OMS, 2017b). En el ciclo exo-eritrocítico, *P. vivax* y *P. ovale* presentan un estadio de dormancia llamado “hipnozoíto” que provoca que la enfermedad se manifieste después de meses o años tras la primera infección, lo que lo convierte en la especie de más difícil eliminación (OMS, 2017a). Los merozoítos liberados se introducen en los eritrocitos, transformándose en trofozoítos que se convierten en esquizontes que al romper el eritrocito liberan merozoítos, tomando cualquiera de los dos caminos como: infectar a otros eritrocitos o diferenciarse en gametocitos (CDC, 2017b).

Los mosquitos, al momento de alimentarse, ingieren los parásitos en el estadio de gametocitos sexuados, masculinos (microgametocitos) y femeninos (macrogametocitos), permitiéndole al parásito el crecimiento y multiplicación en el mosquito (ciclo esporogónico). En el estómago del mosquito, los microgametos penetran a macrogametos formando un cigoto u ooquinete, que le permite atravesar el epitelio del intestino del mosquito para desarrollarse en un ooquiste tardando entre 10 y 18 días en madurar y los esporozoítos se forman y maduran dentro de los ooquistes que migran a las células de las glándulas salivales del mosquito, desde donde el mosquito podrá transmitir los parásitos a otro ser humano (CDC, 2017a).

3.7.2. *Plasmodium falciparum*

P. falciparum es el responsable del 80% de casos de malaria en el mundo y presenta mayor prevalencia en África. Esta especie provoca los síntomas más severos en humanos y es el causante de la mayoría de muertes en todo el mundo (Duffy & Avery, 2017).

Este parásito, en su ciclo asexual, tiene la capacidad de causar que los glóbulos rojos infectados se adhieran a los revestimientos de los vasos sanguíneos, además, presenta una rápida multiplicación y tiene la capacidad de invadir glóbulos rojos de todas las edades (Vásquez & Tobón, 2012). *P. falciparum* puede causar muchas complicaciones como malaria cerebral, hipoglicemia, acidosis metabólica y estrés respiratorio (Miller, Baruch, Marsh, & Doumbo, 2002).

3.7.3. *Plasmodium vivax*

P. vivax es la segunda especie que causa más infecciones de malaria en humanos (Changrob et al., 2017; OMS, 2017a) (Anexo 5). Este parásito presenta hasta 90-100% de infecciones asintomáticas y sub-microscópicas en lugares endémicos. Los casos asintomáticos permiten contribuir con la transmisión de *P. vivax* (Changrob et al., 2017; Wirth & Alonso, 2017).

P. vivax es la especie más predominante en la región de las Américas, en el sur y este de Asia y en la región del Mediterráneo Este (WHO, 2016b). Se calcula que en el año 2015 se reportaron aproximadamente 13.8 millones de casos de *P. vivax* en todo el mundo (WHO, 2016b). En la región de las Américas, las infecciones por *P. vivax* representan más del 70% de los casos notificados (WHO, 2016b).

P. vivax, siendo un parásito intracelular, presenta una morfología distinta de las otras especies. Presenta gránulos en el citoplasma de los reticulocitos (glóbulos rojos inmaduros) denominados puntos de Schüffner, formando caveolas que son complejos de vesículas de origen parasitario exportados al citoplasma de los reticulocitos infectados (Aikawa, Miller, & Rabbege, 1975; Udagama et al., 1988). En su ciclo sexual, *P. vivax* presenta una morfología redonda que es similar a la de su ciclo asexual. Una de las características principales de este parásito es que puede entrar en una fase de dormancia “hipnozoíto” en el hígado que le permite reactivarse y provocar que la infección se manifieste después de meses o años tras la primera infección (OMS, 2017a).

Además, *P. vivax* se caracteriza por invadir, especialmente, reticulocitos mediante la interacción específica entre el antígeno Duffy receptor de quimiocinas (DARC, por sus siglas en inglés) localizado en la membrana de los glóbulos rojos en los humanos y la proteína de unión Duffy (DBP, por sus siglas en inglés) presente en la superficie del parásito (Flores et al., 2014).

3.8. MECANISMOS DE INVASIÓN DEL PARÁSITO A LOS GLÓBULOS ROJOS

La invasión a los glóbulos rojos por los parásitos de la malaria es un proceso complejo que implica la interacción entre los ligandos del parásito y receptores del huésped

durante un proceso rápido y dinámico. En este proceso están involucrados diferentes pasos: contacto inicial, reorientación, unión irreversible e invasión (Prajapati & Singh, 2013; Weiss et al., 2015).

En el contacto inicial de los merozoítos en la invasión a los glóbulos rojos están presentes una serie de ligandos. La primera interacción es producida por las MSP (proteínas de superficie del merozoíto), que son abundantes en la superficie del parásito y permiten la unión a los glóbulos rojos (Weiss et al., 2015).

En el segundo paso, el merozoíto genera una unión directa más estable donde orienta el extremo apical a la membrana de los glóbulos rojos. En este proceso están involucrados varios ligandos, principalmente, DBP (proteína de unión Duffy) que se une a su receptor DARC (antígeno Duffy receptor de quimiocinas) y RBP 1 (proteína de unión a reticulocitos 1a) que se une a un receptor aún desconocido en la superficie del glóbulo rojo, que permitirá reorientar al parásito (Paul, Egan, & Duraisingh, 2015).

En el tercer paso, el merozoíto forma una unión irreversible o unión cerrada por medio de la proteína AMA 1 (antígeno de la membrana apical 1). AMA 1 es secretada en la superficie del parásito en la etapa de la invasión. Una vez que la proteína se une a su receptor RON2, el merozoíto es trasladado a la superficie del glóbulo rojo (Weiss et al., 2015).

A partir de la unión irreversible, el merozoíto invade a los glóbulos rojos mediante la vacuola parasitófora, que es formada a partir de los contenidos ricos en lípidos que son liberados desde las roptrias a medida que el parásito se introduce en el eritrocito (Paul et al., 2015).

3.8.1. ANTÍGENO DUFFY RECEPTOR DE QUIMIOCINAS (DARC) EN GLÓBULOS ROJOS

La proteína DARC se encuentran en la superficie de los reticulocitos de los humanos, presenta un dominio N-terminal externo glicosilado, siete dominios transmembranales y un dominio C-terminal citosólico corto (Cavasini et al., 2007; Wurtz et al., 2011). DARC es receptor de quimiocinas de las familias CXC (quimiocina alfa, que actúan principalmente sobre los neutrófilos) y CC (quimiocina beta, que actúan sobre los monocitos), expresándose

también en células endoteliales, epiteliales de los conductos colectores del riñón, células de Purkinje y neuronas (Smolarek et al., 2010).

DARC juega un papel importante en la regulación de niveles de quimiocina y a su vez puede unirse a las quimiocinas y absorberlas actuando como reservorio en la superficie de los glóbulos rojos (De Brevern, Autin, Colin, Bertrand, & Etchebest, 2009). Benson y colaboradores (2018) identificaron a la proteína DARC como uno de los antígenos del grupo sanguíneo Duffy. Este antígeno está implicado en la respuesta inflamatoria frente a fracturas óseas e infecciones bacterianas, siendo también un receptor para el ingreso de los parásitos *P. vivax* y *P. knowlesi* (Ansel et al., 2017; Edderkaoui, Sargsyan, Hetrick, & Li, 2018).

La proteína DARC está codificada por el gen *Fy* que está localizado en la región 1q22-q23 del cromosoma 1. El gen *Fy* está compuesto por la región promotora, seguido por el exón 1 de 21 pb que es corto, un único intrón de 480 pb y el exón 2 de 990 pb (Ansel et al., 2017). La mutación de esta región promotora produce la clasificación del grupo sanguíneo Duffy (Langhi & Bordin, 2006).

La proteína DARC presenta dos principales antígenos FyA y FyB codificados por los alelos co-dominantes Fy*A, Fy*B y Fy*B^{es} (es: significa eritrocitos silenciosos) presentando cuatro fenotipos que están determinados por la mutación de sus alelos que son: Fy (a + b +), Fy (a + b -), Fy (a - b +) y Fy (a - b -) (Zimmerman, Ferreira, Howes, & Mercereau-Puijalon, 2013). El fenotipo “Duffy negativo” Fy (a - b -) es el resultado de una mutación puntual en la región promotora del gen, generando la sustitución de T por C en el nucleótido -33 impidiendo la unión del factor de transcripción eritroide h-GATA-1, en otras palabras bloquea la expresión de la proteína DARC en los glóbulos rojos, lo que impediría la invasión del parásito al huésped Duffy negativo (King et al., 2011; Wurtz et al., 2011).

3.8.2. PROTEÍNA DBP DE *P. vivax*

El parásito *P. vivax*, en sus micronemas, presenta una proteína denominada proteína de unión Duffy (DBP por sus siglas en inglés) que son llevados a la superficie para cumplir la función de unión y reorientación para la invasión a los reticulocitos del huésped. La proteína DBP está codificada por el gen *Pvdbp* (Ntumngia, King, & Adams, 2012).

Esta proteína de 140 kDa es expresada en los micronemas y está compuesta por siete dominios o regiones. El segundo dominio (DBPII), compuesto por 170 amino ácidos y comprendido entre los residuos 291 y 460, es el sitio exacto donde se une al receptor DARC de los reticulocitos del huésped (Adams et al., 1990). Se ha visto que este dominio presenta un alto porcentaje de polimorfismos (Singh, Hora, Belrhali, Chitnis, & Sharma, 2006; VanBuskirk et al., 2004).

3.9. INVASIÓN DE *P. vivax* EN DUFFY NEGATIVOS

Anteriormente, se observó que *P. vivax*, en la invasión a los glóbulos rojos, requiere de la interacción específica entre la proteína DBP del parásito y el receptor DARC del huésped. Las personas con el fenotipo Duffy negativo que no presentan el receptor DARC en la superficie de los glóbulos rojos, restringen la entrada del parásito *P. vivax* a sus eritrocitos (Zimmerman et al., 1999). Miller, Mason, Clyde, & McGinniss (1976) en su estudio *in vivo*, demostraron que individuos de descendencia africana y afro americanos, genotipo/ fenotipo Duffy negativo, resistieron a la infección experimental por *P. vivax*, ya que al no presentar el receptor DARC en los eritrocitos, el parásito no puede invadirlos (Chitnis & Miuer, 1994; Ménard et al., 2010).

Diferentes estudios en África y Papúa Nueva Guinea, donde existe un mayor porcentaje de personas con el fenotipo Duffy negativo, mostraron que no existe infección por *P. vivax*, demostrando que sin el receptor DARC se reduce la capacidad del parásito en invadir a los eritrocitos (Grimberg et al., 2007).

Sin embargo, recientemente, se han encontrado casos de infecciones por *P. vivax* de pacientes con genotipo/ fenotipo “Duffy negativo”, lo que sugiere que el parásito puede invadir reticulocitos independientemente de este receptor. Un estudio realizado en comunidades de Camerún reporta que *P. vivax* puede invadir a hospederos Duffy negativos (Fru-Cho et al., 2014).

Recientemente, en Guinea Ecuatorial y Angola (África Occidental) donde la prevalencia de personas Duffy negativos es del 95%, se demostró la existencia de infecciones por *P. vivax* (Mendes et al., 2011). En Madagascar, se evidenció que *P. vivax* es capaz de infectar a reticulocitos que no presenten la proteína DARC (Ménard et al., 2010).

Los estudios de Carvalho y colaboradores (2012) en la Amazonía brasileña presentaron un 6.9% de Duffy negativos, de los cuales, el 14.7% presentaban infecciones por *P. vivax*.

En Ecuador, Veloz (2015) se enfocó en comunidades del cantón San Lorenzo y observaron, por primera vez en la Costa Pacífica de América del Sur, la existencia de infecciones por *P. vivax* en pacientes que no presentaban el antígeno Duffy pero presentaban infección con el parásito *P. vivax*.

3.10. EL NÚMERO DE COPIAS DE *Pvdbp* DE *P. vivax* PODRÍA INFLUIR EN LA CAPACIDAD DE INVASIÓN A LOS RETICULOCITOS

Menard y colaboradores (2013) observaron en lugares como Etiopía y Mauritania, que presentan una alta prevalencia de Duffy negativos, que el gen *Pvdbp* del parásito presentaba una duplicación en personas Duffy negativas con infección de *P. vivax*; lo que podría explicar la invasión a reticulocitos en Duffy negativos.

Gunalan y colaboradores (2016) encontraron que en pacientes Duffy negativos de Etiopía, el gen *Pvdbp* presentaba tres y ocho copias, sospechando que el aumento en el número de copias del gen podría facilitar a la unión de un receptor alternativo en los eritrocitos de Duffy negativos.

Al observar la diversidad haplotípica de *Pvdbp* y las mutaciones que presentaba el gen en la capacidad de invadir a los reticulocitos de individuos Duffy negativos, surgió la interrogante de si la expansión de número de copias de *Pvdbp* podría permitir la unión de DBP con otro ligando de los reticulocitos en la invasión de individuos Duffy negativos (Hoque et al., 2018).

3.11. ENCUESTAS EPIDEMIOLÓGICAS DE CONOCIMIENTO, ACTITUDES, PRÁCTICAS Y CARACTERÍSTICAS SOCIO DEMOGRÁFICAS

Los estudios epidemiológicos pueden englobar diferentes estudios poblacionales como estudios observacionales de cohorte, estudios transversales o estudios experimentales con ensayos clínicos y con la comunidad. La aplicación de encuestas permite observar cómo se encuentra la situación de la población con respecto a la malaria en esa comunidad

proporcionando conocimiento para el desarrollo de nuevas estrategias para la eliminación de la enfermedad (Forero et al., 2014).

Las encuestas epidemiológicas de conocimientos, actitudes, prácticas y socio demográficas (CAPs) permiten observar los conocimientos que presenta la población y los métodos que utilizan para el control de la enfermedad (Inyimai, Ocan, Wabwire, & Olupot-Olupot, 2018). Estudios realizados en Etiopia, África, Madagascar entre otros países, muestran que es necesario comprender los CAPs de malaria de cada comunidad para emitir alertas tempranas sobre brotes, así como, aumentar las intervenciones de control y eliminar de manera sostenible la enfermedad (Yimer, Animut, Erko, & Mamo, 2015).

Los hallazgos que se obtuvieron en Haití, Honduras, México, Venezuela y Colombia respecto a este tipo de estudios, muestran una perspectiva general de la población sobre los conocimientos y actitudes frente a la malaria, donde se observa que no existen diferencias entre los países, pero a su vez existen brechas relacionadas con las prácticas realizadas para controlar la enfermedad presentando diferentes factores que impiden la eliminación de la misma (Forero et al., 2014).

El presente estudio busca caracterizar la epidemiología de la malaria en las comunidades de Mataje y Ricaurte al norte de la provincia de Esmeraldas en el Ecuador y determinar el número de copias del gen *Pvdbp* de *Plasmodium vivax* ecuatorianos. Además, se realizaron análisis de encuestas para mostrar las actitudes y conocimientos de la población con respecto a la enfermedad, lo que contribuirá a nuevas estrategias para la eliminación de la enfermedad en nuestro país.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar la situación epidemiológica de la malaria en comunidades del norte de la provincia de Esmeraldas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la prevalencia de *Plasmodium* spp. en las comunidades de Mataje y Ricaurte al norte de Esmeraldas mediante PCR anidada y PCR en tiempo real.
2. Determinar genotipos y fenotipos del grupo sanguíneo Duffy en individuos de las comunidades de Mataje y Ricaurte en el norte de Esmeraldas mediante PCR en tiempo real.
3. Determinar el número de copias que presenta el gen *Pvdbp* de *P. vivax* ecuatorianos mediante PCR en tiempo real.
4. Identificar los conocimientos, actitudes, prácticas y características socio-demográficas de la población de estudio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. ÉTICA

Todos los procedimientos realizados en este trabajo de investigación contaron con la aprobación del Comité de Ética de Investigación de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (CEISH-348-2017) y con la aceptación del proyecto por parte del Ministerio de Salud Pública (MSP-DIS-2017-01-0149-O). Los participantes que formaron parte de la investigación, firmaron un consentimiento informado (Anexo 6) y los menores de edad firmaron un asentimiento (Anexo 7).

4.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS.

Se colectaron 137 muestras de sangre total y papel filtro provenientes del norte de la Región Costa del Ecuador, en las comunidades de Mataje y Ricaurte en la Provincia de Esmeraldas en noviembre de 2017. Se colectaron muestras de sangre total en un tubo con anti-coagulante “EDTA” por parte del personal del Centro de investigación para la Salud en América Latina (CISeAL), con el apoyo del Ministerio de Salud Pública (MSP). Las muestras colectadas se obtuvieron de dos formas:

- 1) Se tomaron 5 mL de sangre intravenosa del paciente en tubos de tapas lilas que contiene anticoagulante “EDTA”.
- 2) Se obtuvieron muestras de sangre periférica tomadas por punción en el dedo con lanceta y se colocaron 2 o 3 gotas de sangre directamente en el papel filtro Whatman 1 MM o 3 MM.

Las muestras colectadas en el 2017 se realizó los ensayos de: Prevalencia de *Plasmodium* spp., determinación del fenotipo y genotipo del grupo sanguíneo Duffy y el análisis de las encuestas.

Además, se utilizaron muestras sanguíneas positivas para *P. vivax* de otras regiones del país de la Costa y Amazonía Ecuatoriana colectadas entre el 2012-2015 por el Servicio Nacional de Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores Artrópodos (SNEM). En el laboratorio de CISeAL se confirmó la presencia del parásito *P. vivax* en las muestras

colectadas en el periodo 2012-2015 mediante pruebas moleculares y se almacenaron para el desarrollo de la investigación.

Las muestras colectadas entre el 2012-2015 se realizaron, únicamente, el ensayo de la determinación de número de copias del gen *Pvdbp*.

4.3. DETERMINACIÓN DE FENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

Se determinó el fenotipo del grupo sanguíneo Duffy de cada muestra a partir de sangre total por medio de Blood Grouping Reagent Anti-Fy^a (FY1), siguiendo el protocolo del fabricante (Biotest, 2008).

Se realizaron tres lavados con solución salina (0,9% NaCl) para obtener los glóbulos rojos. Para cada lavado, en tubos eppendorf de 2mL, se colocó 1mL de sangre más 1mL de solución salina y se centrifugó a 2 000 rpm por 30 segundos y se desechó el sobrenadante.

La prueba de la determinación de fenotipo del grupo sanguíneo Duffy se realizó por duplicado para observar el fenotipo FyA o FyB que presentaban las muestras sanguíneas. El precipitado se diluyó en solución salina (dos gotas del precipitado con solución salina) hasta llegar a un color rojo carmín. Se colocaron dos gotas de la dilución a los tubos, previamente etiquetados A y B, y se colocó una gota de los antígenos Anti-Fy^a (Anti Duffy^a) y Anti-Fy^b (Anti Duffy^b) respectivamente, luego se incubó a 37 °C por 30 minutos.

Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron tres lavados con 3mL de solución salina por centrifugación a 2 000 rpm por 20 segundos. Se retiró rápidamente el sobrenadante, observando un botón en la parte inferior. Se colocaron dos gotas de Anti-Globulina Humana y se centrifugó a 2 400 rpm por 20 segundos.

Finalmente, se realizaron lentamente movimientos circulares para observar si hay aglutinación o no en los diferentes antígenos presentes en las muestras. Los resultados se leen mediante la aglutinación de las muestras frente a los antígenos. Si existe aglutinación es positivo para el antígeno aplicado.

4.4. EXTRACCIÓN DE ADN

4.4.1. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE PAPEL FILTRO CON KIT

Se realizó la extracción de ADN a partir de papel filtro mediante el Pure Link® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen), siguiendo las especificaciones del fabricante:

En un tubo eppendorf de 1,5 mL se colocaron de 2 a 3 círculos de papel con muestra de sangre, se añadieron 180 μ L de buffer de digestión y 20 μ L de proteinasa K. Se mezcló con la ayuda de un vórtex y se incubó a 55 °C durante 30 minutos. Al finalizar la incubación se centrifugó la muestra a velocidad máxima (15 000 rpm) durante tres minutos a temperatura ambiente (TA) (21°C).

Se transfirió el sobrenadante de la muestra a un nuevo tubo de 1,5 mL, donde se adicionaron 20 μ L de RNasa A con una incubación de dos minutos a temperatura ambiente (21°C). Se añadieron 200 μ L de buffer de lysis- binding y 200 μ L de etanol absoluto; se mezcló en el vórtex y se centrifugó la muestra a 12 000 rpm por un minuto a temperatura ambiente (21°C). La muestra se transfirió a un nuevo tubo que contenía una columna (con filtro de sílice para la purificación del método) y se centrifugó a 12 000 rpm por un minuto a temperatura ambiente (21°C). Posteriormente, se eliminó el líquido filtrado y se agregaron 500 μ L de buffer de lavado 1 con una centrifugación a 12 000 rpm por un minuto y se volvió a descartar el líquido filtrado.

Se agregaron 500 μ L de buffer de lavado 2 y se centrifugó a 14 000 rpm por tres minutos, se retiró el líquido filtrado y se colocó la columna en un nuevo tubo de 1,5 mL. Se adicionaron 40 μ L de buffer de elusión en el centro de la columna y se incubó a temperatura ambiente (21°C) por dos minutos. Se centrifugó a 14 000 rpm por un minuto, se adicionaron 20 μ L de buffer de elusión y se incubó durante dos minutos a temperatura ambiente (21°C). Finalmente, se centrifugó a 14 000 rpm durante tres minutos y los 60 μ L de ADN obtenido en la extracción se almacenaron a - 20 °C.

4.4.2. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE SANGRE TOTAL

Se realizó la extracción de ADN a partir de sangre mediante el Pure Link® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen), siguiendo el protocolo del fabricante:

En un tubo eppendorf de 2 mL se colocaron 200 µL de la muestra de sangre, se adicionaron 20 µL de proteinasa K y 20 µL de RNasa A. Se mezcló la solución en el vórtex y se incubó la muestra a temperatura ambiente (21°C) por dos minutos. Se adicionaron 200 µL de Genomic Lysis/ Binding Buffer, se mezcló en el vórtex hasta que esté homogénea, se incubó a 55 °C por diez minutos, se colocaron 200 µL de etanol absoluto y se mezcló en el vórtex hasta tener una solución homogénea.

La muestra se colocó en un tubo con columna (con filtro de sílice para la purificación del método), se centrifugó a 12 000 rpm a temperatura ambiente (21°C) por un minuto. Después de la centrifugación se eliminó el líquido filtrado colocando un nuevo tubo de recolección y se adicionaron 500 µL del Buffer de lavado 1 a la muestra que estaba con la columna, se centrifugó a 12 000 rpm a temperatura ambiente (21°C) por un minuto y se eliminó el residuo colocando un nuevo tubo de recolección. Se adicionaron 500 µL de Buffer de lavado 2 y se centrifugó a 15 000 rpm a temperatura ambiente (21°C) por tres minutos.

Se cambió la columna a un nuevo tubo eppendorf de 1,5 mL, se adicionaron 40 µL de buffer de elusión en el centro de la columna y se incubó a temperatura ambiente (21°C) por dos minutos. Se centrifugó a 14 000 rpm por un minuto, se adicionaron 20 µL de buffer de elusión y se incubó durante dos minutos a temperatura ambiente (21°C). Finalmente, se centrifugó a 14 000 rpm durante tres minutos y los 60 µL de ADN obtenido en la extracción se almacenaron a - 20 °C.

4.5. GENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

Se realizó la determinación genotípica de los polimorfismos de Duffy en las muestras (papel filtro y sangre total) por medio de PCR en tiempo real (qPCR) utilizando Sybr green como describe el protocolo de Sousa, Sanchez, Cerávolo, Carvalho, y Brito, (2007).

Se realizaron cuatro mezclas con un volumen final de 10 μ L que contenía 2,8 μ l de agua libre de nucleasas, 2 μ L de ADN, 5 μ L de SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo Scientific) y 0,2 μ L por cada par de primer (Tabla 1). Los controles positivos para los genotipos fueron: FyA FyA, FyA FyB y FyB^{es} FyB^{es}.

El perfil térmico de la qPCR fue: 95 °C por 10 minutos de denaturación inicial, 35 ciclos de: 95 °C por 15 segundos de denaturación y 60 °C por 1 minuto de extensión; por último, la curva de fusión de 60 °C con un incremento de 0.5 °C cada 5 segundos hasta llegar a los 95 °C.

Para determinar el genotipo del grupo sanguíneo Duffy, de cada una de las muestras, se observó la amplificación en los diferentes cebadores, donde se determinó el genotipo al que pertenecían.

4.6. DETERMINACIÓN DE PARASITEMIA POR MICROSCOPIA

Se realizó una lectura en el microscopio, en un lente de 100x, de un frotis sanguíneo teñido con Giemsa de gota gruesa, tanto en las placas de las muestras control de *P. falciparum* como *P. vivax*, preservadas en el laboratorio del CISEAL y previamente observadas por más de una persona, para determinar la presencia del parásito. Posteriormente, se realizó el conteo de los parásitos y leucocitos por campo hasta contar cuantos parásitos estuvieron en 100 leucocitos, y se estimó la densidad parasitaria por micro litro (μ L) de sangre de las muestras control a través de la fórmula descrita en Alger (2001):

$$(N^{\circ} \text{ de parásitos} * 8000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L de sangre}) / N^{\circ} \text{ de leucocitos}$$

Se realizaron 5 diluciones 1 en 10 de los controles con el buffer de elución de ADN, para obtener en la última dilución 1 parásito que nos permitió obtener una curva de calibración y observar que cantidad de parásitos en las muestras.

4.6.1. PCR EN TIEMPO REAL PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Plasmodium* spp.

Se detectó la presencia del parásito *Plasmodium* spp. y se identificó la especie (*P. falciparum* o *P. vivax*) en el ADN de las muestras de sangre total y papel filtro colectadas por medio de PCR en tiempo real (qPCR) utilizando la metodología de Torres (2016).

Se realizó una mezcla con un volumen final de 10 µL que contenía 2,4 µL de agua libre de nucleasas, 1,5 µL de ADN, 5,5 µL TaqMan qPCR Master Mix, 0,1 µL de cada primer para *P. falciparum* o *P. vivax* respectivamente, 0,1 µL de sonda Falciprobe y 0,1 µL de sonda Vivprobe respectivamente (Tabla 2).

Los parámetros que se utilizaron en la qPCR fueron: 94 °C por 10 minutos de denaturación inicial, 55 ciclos: de 94 °C por 15 segundos de denaturación y 60 °C por 1 minuto de extensión en el termociclador de marca BIO-RAD modelo C1000 Touch.

Las especies se determinó por la visualización de la sonda, distintiva de cada especie (verde: *P. falciparum* y azul: *P. vivax*), en las curvas y se determinó la parasitemia de cada una de las muestras comparando con la curva de calibración dicha en la sección anterior.

4.6.2. PCR ANIDADA PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Plasmodium* spp.

Se realizó una PCR anidada mediante la técnica de Snounou (1996) con modificaciones según Ruybal-Pesántez y colaboradores (2017):

En la PCR1 se realizó una mezcla con un volumen final de 25 µL que contenía 3 µL de agua libre de nucleasas, 5 µL de ADN, 12,5 µL de GoTaq Green Master mix (Promega, Madison, WI, USA), 2,5 µL de cloruro de magnesio (MgCl₂) y 1 µL por cada primer (Tabla 3).

En la PCR2 se realizó una mezcla para las diferentes especies *P. falciparum* (FAL) y *P. vivax* (VIV) respectivamente; con un volumen final de 25 µl que contenía 3 µL de agua libre de nucleasas, 5 µL de ADN, 12,5 µL de GoTaq Green Master mix (Promega, Madison,

WI, USA), 2,5 μL de cloruro de magnesio (MgCl_2) y 1 μL por cada primer respectivamente para las especies (Tabla 3).

Los parámetros que se utilizaron en el perfil térmico para las dos PCR fueron: 95 °C por 2 minutos de denaturación inicial, 25 ciclos de: 58 °C por 2 minutos, 72 °C por 5 minutos 94 °C por 1 minuto; 58 °C por 2 minutos, 72 °C por 2 minutos y 4 °C.

Los resultados se observaron mediante una amplificación de ~100 pb para *P. vivax* y ~200 pb para *P. falciparum* en el gel de electroforesis.

4.7. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE COPIAS DEL GEN *Pvdbp*

Se determinó el número de copias del gen *Pvdbp* de *P. vivax* en muestras Duffy negativas y positivas mediante PCR en tiempo real (qPCR), siguiendo el protocolo descrito por Gunalan y colaboradores (2016).

Se realizó una mezcla de volumen final de 20 μL que contenía 6 μL de agua libre de nucleasas, 2 μL de ADN genómico, 10 μL de SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo Scientific), 1 μL del primer forward y 1 μL del primer reverse de las regiones II y III de *Pvdbp* (Tabla 4).

Posteriormente, para cada una de las muestras, se utilizó el gen de referencia (*Aldolasa* de *P. vivax*) (AF247063) y el control de referencia perteneciente a la cepa estándar Salvador-1 (SAL-1) (PVX_110810); ya que solo posee una copia del gen para determinar el número de copias por el método de detección de SYBR Green qPCR.

Los parámetros que se utilizaron en la qPCR fueron: 95 °C por tres minutos de denaturación inicial, 45 ciclos: de 94 °C por 30 segundos de denaturación, un ciclo de 55 °C por 30 segundos y 68 °C por un minuto de extensión. Por último, la curva de fusión fue de 68 °C con un incremento de 0,2 °C cada 10 segundos hasta llegar a los 95 °C.

Los puntos de corte de cada muestra que se obtuvieron en la curva, aplicando la ecuación $n = 2^{\Delta\Delta\text{Ct} \pm \text{SD}}$, donde $\Delta\Delta\text{Ct} = (\text{punto de corte de aldolasa} - \text{punto de corte de } Pvdbp1) - (\text{punto de corte de aldolasa cal} - \text{punto de corte } Pvdbp1 \text{ cal})$. El punto de corte “cal” es una

diferencia promedio entre el punto de corte aldolasa y el punto de corte *Pvdbp1* de la cepa control SAL-1. El resultado de las muestras se comparó con la cepa control utilizada en este ensayo.

Ejemplo:

Puntos de corte (Ct) de <i>Pvdbp</i> de Pv065	Puntos de corte (Ct) de <i>Aldolasa</i> de Pv065
Ct1= 36,63	Ct1= 34,49
Ct2= 36,27	Ct2= 34,02
Ct3= 35,56	Ct3= 33,85
Promedio = 36,15	Promedio = 34,12
Desviación estándar (SD) = 0,54	Desviación estándar (SD) = 0
$\Delta\Delta Ct = ((34,12-36,15)-(30,58-32,77)) = 0,16$	
$SD = \sqrt{(0,54)^2 + (0)^2 + (0,52)^2} = 0,82$	
Número de copias= $2^{(0,16-0,82)} = 0,63$	

4.8. ENCUESTA DE CONOCIMIENTO, ACTITUDES, PRÁCTICAS Y CARACTERÍSTICAS SOCIO-DEMOGRÁFICA (CAPs)

Se realizó una encuesta epidemiológica de conocimientos, actitudes, prácticas y socio-demográfica (CAPs) al jefe de familia o al responsable de cada casa donde se obtuvo la muestra de sangre con la ubicación en GPS para los diferentes análisis. Esta encuesta fue realizada por el personal del Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

La encuesta constaba de 41 preguntas y estaba dividida en cuatro secciones: conocimientos sobre la transmisión, síntomas, tratamiento y diagnóstico (12 preguntas); actitudes sobre el diagnóstico, prevención y transmisión de la malaria (10 preguntas); prácticas sobre el comportamiento que presentaba la comunidad estudiada frente al tratamiento y prevención de la enfermedad (9 preguntas); y características socio-demográficas que nos permitieron observar las características de la vivencia de la población como: servicios básicos, etnicidad y nivel de educación (11 preguntas) (Anexo 8).

4.9. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en las encuestas fueron ingresados en el sistema OpenClinica administrado por el CISeAL. Para el análisis, los datos después de su ingreso se importaron

al software Microsoft Excel y en los análisis estadísticos se utilizó el programa SPSS Statistical Software 22. El test estadístico utilizado en el estudio fue la prueba de Ji cuadrado.

4.9.1 VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables del estudio utilizadas en la presente investigación se especifican en la Tabla 5.

5. RESULTADOS

5.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se obtuvieron 137 muestras sanguíneas pertenecientes a las comunidades de Mataje (n=87) y Ricaurte (n=50), ubicadas en la zona fronteriza del cantón San Lorenzo, provincia de Esmeraldas, región costanera del Ecuador (Figura 1). El tamaño de muestra fue calculado con el programa OpenEpi con intervalo de confianza de 95%. El promedio de edad de los voluntarios fue de 26 años; y la mayoría de muestras de sangre total y papel filtro tomadas fueron de niños entre 6 a 10 años de edad, donde el género femenino fue el más representativo (Figura 2 y Figura 3).

En el ensayo de detección de fenotipo del grupo sanguíneo Duffy se utilizaron únicamente las muestras extraídas de sangre total (n=41). Mediante PCR en tiempo real y PCR anidada se analizaron 137 muestras de sangre y papel filtro. Por otra parte, se consideraron 16 encuestas de conocimiento, actitudes, prácticas y características socio-demográficas (CAPs) de la comunidad de Mataje (Anexo 8). No se analizaron las encuestas de la comunidad de Ricaurte por tener un número de encuestas no representativo.

5.2. PREVALENCIA DE *Plasmodium* spp. EN LAS COMUNIDADES DE ESTUDIO

El ADN de las 137 muestras de sangre total y papel filtro impregnado con sangre total fueron analizadas mediante las técnicas de PCR en tiempo real y PCR anidada. Se encontraron 8 muestras sanguíneas (5,83%) infectadas con *Plasmodium* spp. mediante PCR anidada, de las cuales 2 muestras sanguíneas (1,45%) pertenecían a *P. vivax* y 6 muestras sanguíneas (4,38%) a *P. falciparum* (Figura 4). No se pudo determinar la prevalencia de *Plasmodium* spp. con la técnica PCR en tiempo real porque los cebadores utilizados no presentaron una alta sensibilidad para las especies de *Plasmodium* spp. y no se pudo obtener una curva de calibración para las dos especies *P. vivax* y *P. falciparum*.

La prevalencia en la comunidad de Mataje fue 5,75%. En esta comunidad se encontraron casos de *P. vivax* (2,30%) y *P. falciparum* (3,45%), mientras que en la

comunidad de Ricaurte se encontró casos solo con *P. falciparum* (6%) (Figura 5). Todas las infecciones positivas encontradas fueron de pacientes asintomáticos.

5.3. UBICACIÓN DE CASAS DE LA POBLACIÓN POSITIVAS CON MALARIA

Las casas, en la comunidad de Mataje, se encontraron relativamente cercanas entre sí y al cuerpo de agua más cercano (río Mataje). La comunidad de Mataje presentó dos zonas principales donde se ubicaron las casas positivas: La casa positiva para *P. falciparum* se encontró al noroeste de la comunidad, cerca de la frontera con Colombia y esta se encontró a una distancia de 583 m del resto de las casas con casos positivos. Mientras que al noreste de la comunidad se encontraron casas positivas para *P. falciparum* y *P. vivax* que presentaron una distancia de 133 m entre sí (Figura 6).

Sin embargo, en la comunidad de Ricaurte, la vivienda donde se encontraron los casos positivos estaba alejada de las otras que pertenecieron al estudio. Esta vivienda estaba a una distancia de 185m del cuerpo de agua más cercano (río Tululbí) (Figura 7). Se observó que, en cada casa con casos positivos, presentaron uno o dos casos de malaria.

5.4. FENOTIPO DEL GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

En el ensayo de detección de fenotipo del grupo sanguíneo Duffy se utilizaron únicamente las muestras extraídas de sangre total (n=41) de la comunidad de Mataje para determinar la expresión de los genes FyA y FyB mediante el kit de hemoaglutinación. En la determinación del fenotipo del grupo sanguíneo Duffy se obtuvo alta heterogeneidad de la población, ya que las muestras analizadas presentaron 36,58% de Fy (a+b+), 26,82% de Fy (a-b-), 19,51% de Fy (a-b+) y 17,07% de Fy (a+b-) (Tabla 6).

En la población estudiada se observó que existe un porcentaje 36,58% de Fy (a+b+) siendo Duffy positivos, seguido por un 26,82% del fenotipo Fy (a-b-), Duffy negativos. Posteriormente, este análisis fue confirmado con el ensayo de genotipo del grupo sanguíneo Duffy.

5.5. GENOTIPO DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

Se utilizaron 137 muestras sanguíneas colectadas a partir de sangre total y papel filtro impregnado con sangre total. El ADN obtenido a partir de las muestras fue empleado para determinar el genotipo de grupo sanguíneo Duffy (mediante PCR en tiempo real). Los análisis confirmaron la alta heterogeneidad mostrando un 76,64% (n= 105) de Duffy positivos y un 23,35% (n= 32) de Duffy negativos de la población analizada. El genotipo de mayor prevalencia fue el Fya Fyb^{es} (51,72%), correspondiendo al fenotipo Fy (a+b-). El genotipo Duffy negativo Fyb^{es} Fyb^{es} (fenotipo Fy (a-b-)) mostró un 23,32% de prevalencia, seguido por que genotipos Duffy positivos: Fya Fyb (fenotipo Fy (a+b+)) mostrando un 13,86%; Fya Fya (fenotipo Fy (a+b-)) con 6,56%; Fyb Fyb (fenotipo Fy (a-b+)) con 5,10% y Fyb Fyb^{es} (fenotipo Fy (a-b+)) con 4,37% (Figura 8) (Tabla 7).

La distribución del genotipo fue similar entre las comunidades estudiadas. En Mataje el genotipo Fya Fyb^{es} presentó mayor prevalencia con 51,72%, seguido del genotipo Fyb^{es} Fyb^{es} (28,40%), Fya Fyb (7,95%), Fyb Fyb^{es} (5,68%) y Fyb Fyb (2,27%) (Tabla 8). En Ricaurte el genotipo más prevalente fue Fya Fyb^{es} con 38%, seguido del genotipo Fyb^{es} Fyb^{es} (14%), Fya Fyb (24%), Fyb Fyb (5%) y Fyb Fyb^{es} (2%) (Tabla 8). En las comunidades analizadas el genotipo más prevalente fue Fya Fyb^{es}, seguido de Fyb^{es} Fyb^{es} (Duffy negativo).

5.6. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE COPIAS DEL GEN *Pvdbp*.

Para la determinación del número de copias del gen *Pvdbp* se analizaron 91 muestras de papel filtros impregnados con sangre total, pertenecientes a la Amazonia y Costa, colectado entre 2013-2015 por personal del SNEM. Se confirmó la presencia de *P. vivax* mediante PCR anidada. Este procedimiento fue realizado por Claudia Vera-Arias.

El ensayo para determinar el número de copias se realizó mediante PCR en tiempo real, donde se obtuvieron diferentes puntos de corte de cada una de las muestras analizadas. El número de copias calculado de *Pvdbp* de *P. vivax* ecuatorianos se encontró dentro del intervalo 1,60 y 0,63, equivalente a 1 copia. Para el cálculo, se utilizó los diferentes puntos de cortes de las muestras y se aplicó la fórmula donde se obtuvo un valor, que al comparar

estos con el punto de corte de la cepa de referencia SAL-1 las muestras presentaban 1 copia del gen *Pvdbp* (Figura 9) (Anexo 9).

No se pudo determinar el número de copias del gen *Pvdbp* en las muestras positivas de *P. vivax* colectadas en el 2017 debido su baja densidad parasitaria.

5.7. ANÁLISIS DE ENCUESTAS.

5.7.1. Encuesta socio-demográfica

Los resultados de los cálculos de la encuesta de socio- demográfica fueron realizados mediante la prueba estadística de Ji cuadrado (Anexo 10).

5.7.1.1. Ocupación jefes de familia.

Las ocupaciones más representativas de la comunidad de Mataje fueron: Propietario de minas (50%) (n= 16, $p= 0,000$), jornalero (18,75%), agricultor (6,25%), ama de casa (6,25%), estudiante (6,25%) y otra ocupación (12,5%) (Figura 10).

5.7.1.2. Grado de escolaridad de los jefes de familia.

El grado de escolaridad de los habitantes de la comunidad de Mataje fue: primaria incompleta (25%) (n= 16, $p= 0,000$), secundaria incompleta (25%) (n= 16, $p= 0,000$), secundaria completa (25%) (n= 16, $p= 0,000$), primaria completa (12%), técnico o universitario completo (6,25%) y ninguna escolaridad (6,25%) (Figura 11).

5.7.1.3. Etnicidad de los jefes de familia.

La población de la comunidad de Mataje se identificó como de raza negra, mulato o Afroecuatoriano en un 100% (n= 16, $p= 0,000$).

5.7.1.4. Servicios públicos que presenta la vivienda

Los servicios básicos que presentó la vivienda de la población estudiada fueron: energía eléctrica (100%) (n= 16, $p= 0,000$), acueducto (93,75%) y alcantarillado (12,5%) (Figura 12).

5.7.1.5. Tipo de vivienda que presentan los encuestados.

La población estudiada, en su mayoría, habitaba en viviendas de ladrillo (75%) (n= 16, $p= 0,000$), cabañas en madera (18,75%) y ranchos, viviendas o chozas (6,25%) (Figura 13).

5.7.1.6. Distancia de la fuente de agua más cercana.

La población de la comunidad de Mataje afirmó que la distancia de la fuente de agua más cercana estaba entre 50 y 100 metros (100%) (n= 16, $p= 0,000$).

5.7.1.7. Principal fuente de agua utilizada para preparar los alimentos.

En la población estudiada la principal fuente de agua para la preparación de los alimentos fue el acueducto (93,75%) (n= 16, $p= 0,000$).

5.7.1.8. Ubicación del servicio sanitario en la vivienda.

En la comunidad de Mataje, la mayoría de la población contaba con el servicio sanitario fuera de la vivienda (68,75%) (n= 16, $p= 0,000$) y solamente una parte de los pobladores (31,25%) poseía servicio sanitario dentro de esta (Figura 14).

5.7.1.9. Tipo de servicio sanitario que presentan las viviendas.

La mayoría de la población estudiada (62,5%) (n= 16, $p= 0,000$) contaba con letrina (pozo negro, hoyo) como servicio sanitario; mientras que el resto de la comunidad (31,25%) contaba con inodoro conectado al alcantarillado (Figura 15).

5.7.1.10. Tipo de alumbrado que presentan las viviendas.

La comunidad de Mataje contaba con bombilla eléctrica (100%) (n= 16, $p= 0,000$) como única fuente de alumbrado.

5.7.2. Encuesta de conocimientos

Los resultados de los cálculos de la encuesta de conocimientos fueron realizados mediante la prueba estadística de Ji cuadrado (Anexo 11).

5.7.2.1. Conocimiento de la transmisión de la malaria

La mayoría de encuestados respondieron que la malaria se transmite mediante una picadura de mosquito (87,50%) (n= 16, $p= 0,000$) y pocos encuestados no sabían cómo se transmite la enfermedad (12,50%) (Figura 16).

5.7.2.2. Conocimientos de los síntomas de la malaria

La mayoría de encuestados en la comunidad de Mataje mencionaron que los principales síntomas de la malaria son dolor de cabeza (62,50%) (n= 16, $p= 0,000$), fiebre (56,25%) y escalofríos (31,25%) (Figura 17).

5.7.2.3. Conocimientos de que es lo primero que se debe hacer al presentar síntomas de malaria

La mayoría de encuestados en la comunidad de Mataje respondieron que lo primero que se debe hacer es ir al microscopista u otro funcionario de salud para hacerse el examen de frotis sanguíneo de la gota gruesa (93,75%) (n= 16, $p= 0,000$). Por otra parte, una minoría de la población respondió que se debía tomar remedio casero (6,25%) (Figura 18).

5.7.2.4. Conocimiento sobre la presencia de un centro de salud o microscopista en la comunidad.

La población de Mataje afirmó contar con un microscopista cercano (93,75%) (n= 16, $p= 0,000$), donde se pueden acercar para la realización de frotis sanguíneo de la gota gruesa.

5.7.2.5. Conocimiento si el microscopista o centro de salud de la comunidad cobra para realizar el examen de gota gruesa.

Toda la población encuestada respondió que el microscopista no cobraba para realizar el examen de gota gruesa (100%) (n= 16, $p= 0,000$).

5.7.2.6. Conocimiento sobre el tratamiento de la malaria

La comunidad, en su mayoría, respondió que la malaria se trata con pastillas (68,75%) (n= 16, $p= 0,000$). Sin embargo, existe una parte de la población que piensa que la malaria se cura sola (12,50%) o no conocen del tratamiento (12,50%) y piensan que la enfermedad se cura con jarabes o inyecciones (6,25%) (Figura 19).

5.7.2.7. Conocimiento acerca de lo que sucede si no se trata la malaria.

La población, en su mayoría, respondió que si no toma el tratamiento contra la malaria la persona se agrava y puede morir (93,75%) (n= 16, p= 0,000).

5.7.2.8. Conocimiento sobre lo que se puede hacer dentro de la vivienda para evitar la malaria.

La población respondió que las principales actividades para evitar la malaria son: usar toldillo o mosquitero (43,75%) (n= 16, p= 0,000), fumigar (31,25%). Una parte de la población (18,75%) aseguró que no se puede hacer nada para evitar su contagio (Figura 20).

5.7.2.9. Conocimiento sobre a lo que se puede hacer fuera de la vivienda para evitar la malaria.

La población de Mataje respondió que la principal actividad para evitar la malaria fuera de la vivienda es evitar aguas estancadas y secar charcos (81,25%) (n= 16, p= 0,000), seguido por evitar las malezas y cortar el pasto (37,50%) y fumigar (18,75%). El 6,25% no conocía como evitar la malaria fuera de la vivienda (Figura 21).

5.7.2.10. Conocimientos sobre quiénes son los responsables para contralar la malaria.

La población encuestada respondió que el centro de salud (68,75%) (n= 16, p= 0,000) es el principal responsable de controlar la enfermedad. Sin embargo, una parte de la población (18,75%) no tiene conocimiento que cada individuo, la comunidad y el centro de salud son los responsables de esta actividad (Figura 22).

5.7.2.11. Conocimiento sobre quién informó acerca de la malaria

La mayoría de la población concordó que los trabajadores de salud (87,5%) (n= 16, p= 0,000), seguidos por familiares (12,5%), medios de comunicación como radio, televisión, afiches, etc. (12,5%) y amigos, vecinos (6,25%) fueron quienes les impartieron conocimiento sobre la enfermedad.

5.7.3. Encuesta de actitudes

Los resultados de los cálculos de la encuesta de actitudes fueron realizados mediante la prueba estadística de Ji cuadrado (Anexo 12).

5.7.3.1. Actitud con respecto a que si enfermarse de malaria es algo común o normal.

La mayoría de la población de la comunidad de Mataje afirmó que enfermarse de malaria no es algo común (56,25%) ($n= 16, p= 0,000$). Sin embargo, una parte de la población opinó que enfermarse es normal (37,50%) y otra parte no conoce sobre la enfermedad (6,26%) (Figura 23).

5.7.3.2. Actitud respecto si al tener charcas o agua estancada alrededor de la vivienda facilita la transmisión de la malaria.

La población, en su mayoría, respondió que tener charcas o agua estancada cerca de la vivienda favorece a la transmisión de la malaria o paludismo (93,75%) ($n= 16, p= 0,000$).

5.7.3.3. Actitud respecto a si la malaria es una enfermedad que se transmite de una persona enferma a una persona sana a través de contacto físico.

La mayoría de la población de la comunidad de Mataje coincidió que la malaria no se transmite de una persona enferma a una persona sana a través de contacto directo (75%) ($n= 16, p= 0,000$), pero el 12,5% de la población respondió que sí se transmite de una persona enferma a una sana por contacto directo (Figura 24).

5.7.3.4. Actitud de la población respecto a si los medicamentos curan la malaria.

La población estudiada respondió, en su mayoría, que para tratar la malaria se utiliza medicamentos (87,5%) ($n= 16, p= 0,000$). Una parte de la población negó que la enfermedad se cure con medicamentos (6,25%) y otra parte desconoció cómo se cura la malaria (6,25%).

5.7.3.5. Actitud respecto si la utilización de toldillo o mosquitero es molesta.

La población de la comunidad de Mataje respondió, en su mayoría, que la utilización del toldillo o mosquitero no es molesta (62,5%) ($n= 16, p= 0,000$), pero otra parte de la población afirmó que sí es molesta (31,25%) (Figura 25).

5.7.3.6. Actitud de la población respecto a la presencia de mosquitos o zancudos.

La población coincidió en que la presencia de mosquitos o zancudos en su casa si es molesta (93,75%) ($n= 16, p= 0,000$).

5.7.3.7. Actitud respecto a si es necesaria la toma de la gota gruesa para saber si tiene malaria.

La población de Mataje afirmó que es necesario realizar el frotis sanguíneo de la gota gruesa para conocer si una persona presenta malaria (81,25%) ($n= 16, p= 0,000$). Sin embargo, existe una parte de la población opinó que no es necesario realizarse el examen para el diagnóstico de la enfermedad (12,5%) (Figura 26).

5.7.3.8. Actitud respecto si una persona que está enferma de malaria debe continuar tomando los medicamentos prescritos, aunque se sienta mejor.

La población de Mataje afirmó que la persona que tiene tratamiento contra la malaria debe seguir tomando la medicación a pesar de que se sienta mejor (93,75%) ($n= 16, p= 0,000$).

5.7.3.9. Actitud de la población si han comprado pastillas sin prescripción médica para aliviarse de la malaria.

La población de la comunidad de Mataje, en su mayoría, respondió que no ha comprado medicación para tratar la enfermedad (75%) ($n= 16, p= 0,000$). Sin embargo, 25% si utilizó medicamento sin receta médica para tratar la enfermedad (Figura 27).

5.7.3.10. Actitud de la población con respecto a si la malaria puede dar más de una vez.

La población estudiada respondió que la malaria se puede contraer más de una vez (68,75%) ($n= 16, p= 0,000$), otra parte de la población (25%) desconocía que si esta puede ocurrir más de una vez y un 6,25% pensaba que solo ocurre una vez la enfermedad (Figura 28).

5.7.4. Encuesta de prácticas

Los resultados de los cálculos de la encuesta de prácticas fueron realizados mediante la prueba estadística de Ji cuadrado (Anexo 13).

5.7.4.1. Actividades de la población, dentro de la vivienda, para evitar la malaria.

Las actividades que realizaban los habitantes de la comunidad de Mataje dentro de su vivienda fueron: uso de toldillo o mosquitero (81,25%) ($n= 16, p= 0,000$), fumigación (25%) y utilización de repelente tópico (12,5%) (Figura 29).

5.7.4.2. Actividades de la población, fuera de la vivienda, para evitar la malaria.

Fuera de la vivienda la población realizaba tres actividades para evitar la enfermedad: Vigilancia de la presencia de aguas estancadas (62,5%) ($n= 16, p= 0,000$), cortar el pasto, matorrales y monte cerca de la vivienda (31,25%) y fumigar (18,75%) (Figura 30).

5.7.4.3. Prácticas de la población respecto a dónde acudir primero para el diagnóstico de la enfermedad.

La población estudiada acudió al médico, enfermera o auxiliar de enfermería (81,25%) ($n= 16, p= 0,000$) cuando ellos o un miembro de su familia estuvieron enfermos. Sin embargo, otra parte de la población acudió a otro tipo de personas para diagnóstico (12,5%) que no especificaron en la encuesta. El resto de la población afirmó que no se ha enfermado (6,25%).

5.7.4.4. Prácticas de la población respecto si la última vez que el o algún miembro de su familia tuvo malaria, se hizo tomar la gota gruesa.

La población de la comunidad de Mataje respondió que no se hizo tomar la gota gruesa cuando tuvo malaria (43,75%) ($n= 16, p= 0,000$), una menor parte de la población afirmó haber realizado el examen (31,25%), mientras que otra parte de la población no conocía qué es el examen de la gota gruesa (6,25%) (Figura 31).

5.7.4.5. Prácticas de la población respecto al medio de transporte para llegar al lugar del diagnóstico de la malaria.

La comunidad de Mataje coincidió que para llegar al lugar donde se realizan el examen de gota gruesa se traslada caminando (93,75%) ($n= 16, p= 0,000$).

5.7.4.6. Prácticas de la población respecto al tiempo que se demoran en llegar al sitio del diagnóstico de la malaria.

Para llegar al sitio del diagnóstico de la enfermedad, la población estudiada, se demoró menos de una hora (100%) ($n= 16, p= 0,000$).

5.7.4.7. Prácticas de la población sobre el motivo del por qué no terminan el tratamiento contra la malaria.

La población de Mataje respondió que la razón por la cual suspende el tratamiento contra la malaria fue porque se sentía mejor (62,5%) ($n= 16$, $p= 0,000$). Sin embargo, una parte de la población contestó que suspendía el tratamiento por otras razones, una de ellas era para ingerir bebidas alcohólicas (18,75%) y la otra parte de la población no respondió a la pregunta (18,75%) (Figura 32).

5.5.5.8. Prácticas respecto si han recibido gratuitamente el tratamiento contra la malaria por parte del personal de salud.

La comunidad estudiada afirmó que el personal de salud entrega el medicamento sin costo para el tratamiento contra la malaria (93,75%) ($n= 16$, $p= 0,000$).

6. DISCUSIÓN

La malaria es una enfermedad que se distribuye en zonas tropicales, siendo un problema de salud pública que afecta principalmente a los países en desarrollo de África, Asia y América Latina. Los parásitos que causan mayor número de casos son *P. falciparum*, con un mayor índice de mortalidad y morbilidad y *P. vivax*, el cual posee una mayor distribución geográfica. Ambas especies causan infecciones asintomáticas y submicroscópicas (Herrera et al., 2015).

América del Sur presentó una disminución de casos de malaria (80,3%) entre 2000-2012, aunque se observaron brotes periódicos que estuvieron relacionados con los cambios climáticos, siendo uno de ellos el fenómeno de “El Niño” que afectó a Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela y Guyana (Herrera et al., 2015).

La Organización Panamericana de Salud (PAHO) en el 2012 reportó que seis países entraron en fase de pre-eliminación de la malaria: Argentina, Costa Rica, El Salvador, Ecuador, México y Panamá (PAHO, 2013). Ecuador se encuentra ahora entre los 21 países con capacidad de eliminar la malaria hasta el 2020 (WHO, 2016a).

Ecuador redujo el número de casos de malaria en un 99% entre el 2001 y 2015. No obstante, a partir del 2015 ha existido un incremento de casos por la presencia de infecciones asintomáticas y submicroscópicas en sitios endémicos, desplazamiento poblacional, cambios ambientales, entre otros, afectando lugares donde la población es más vulnerable (Sáenz et al., 2017).

Las infecciones asintomáticas son difíciles de detectar debido a que presentan bajas parasitemias y son consideradas como reservorios que permiten la transmisión de la enfermedad (Laishram et al., 2012; Sáenz et al., 2017). Estas infecciones pueden ser detectadas por técnicas moleculares. Una de ellas es la PCR, empleada para la observación de presencia o ausencia de los parásitos, utilizando secuencias específicas que permiten la determinación precisa de la especie y a su vez permite la cuantificación de baja carga parasitaria hasta 1 parásito / μ L de sangre en infecciones asintomáticas y submicroscópicas,

las cuales son difíciles de detectar a causa de sus bajas parasitemias (Baird et al., 2016; Vásquez-Jiménez et al., 2016).

6.1. PREVALENCIA DE *Plasmodium* spp.

La técnica más utilizada para la identificación de *Plasmodium* spp. es la microscopía, sin embargo, no es muy recomendada cuando se presentan muestras con parasitemias bajas como en infecciones asintomáticas y sub-microscópicas. El uso de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la detección y amplificación del ADN del parásito dentro de una muestra, teniendo mayor especificidad y sensibilidad que otras pruebas como la microscopía y pruebas rápidas (Baird et al., 2016; Moreira, Abo-Shehada, Price, & Drakeley, 2015).

En la detección de la malaria se han utilizado métodos moleculares como PCR en tiempo real, PCR anidada o PCR en punto final para detectar la presencia del parásito. En Ecuador, en poblaciones del cantón San Lorenzo, provincia de Esmeraldas, Veloz (2015) utilizó PCR en tiempo real como técnica para diagnosticar la presencia del parásito en las comunidades de El Pedregal, La Boca, Ricaurte y El Guadual. Así mismo, el estudio de Torres (2016) utilizó PCR en tiempo real para determinar la presencia de *Plasmodium spp* en las comunidades de El Guadual, Mataje, Palma Real, San Francisco y Tobar Donoso (Sáenz et al., 2017).

En el presente estudio se encontraron 8 muestras positivas de 137 muestras, lo que representa una prevalencia de 5,82%. Cabe recalcar que todas pertenecían a pacientes asintomáticos. Veloz (2015) en su estudio de detección parasitaria de *Plasmodium* spp. obtuvo una prevalencia de 4,5% en la misma zona. Torres (2016) en su estudio en la identificación de *Plasmodium* spp. encontró una prevalencia de 4,7% en comunidades del cantón San Lorenzo. Comparando las prevalencias obtenidas en el año 2015, 2016 y en este estudio se puede evidenciar que las tres son similares en las mismas comunidades. Sin embargo, si se compara con el estudio de Sáenz y colaboradores (2017), realizado en comunidades del cantón San Lorenzo, en el 2013 se puede observar que fue mayor la prevalencia obtenida (7,4%).

El Ministerio de Salud Pública (MSP) indicó, en el 2017, que Ecuador presentó un incremento del número de casos (1279 casos) con relación a los años 2015 y 2016. En nuestro país, Sáenz y colaboradores (2017) reportaron una alta prevalencia de asintomáticos (7,4%). En lugares endémicos la población adquiere inmunidad parcial a la exposición a la enfermedad, siendo más pasible que presenten malaria asintomática. Las infecciones asintomáticas representan un problema en la eliminación de la enfermedad, debido a que la población con infecciones asintomáticas es considerada como un reservorio en la transmisión de la enfermedad (Lindblade, Steinhardt, Samuels, Kachur, & Slutsker, 2013).

En países aledaños como Colombia, en regiones de Tumaco, Tierraalta y Buenaventura, se reportó una prevalencia de infecciones sub-microscópicas con *Plasmodium* spp. de 9,7%, donde la tasa de positividad varió entre 3% y 20% al utilizar PCR en tiempo real (Vallejo et al., 2015). En la Amazonía de Perú, en comunidades de Cahuide y Lupuna del departamento de Loreto, se encontró una prevalencia de 10,4% de infecciones asintomáticas y submicroscópicas con *Plasmodium* spp. (Rovira-Vallbona et al., 2017). La prevalencia (5,82%), de infecciones asintomáticas, observada en este estudio (Mataje y Ricaurte), es menor al ser comparada con la encontrada en países vecinos.

En el presente estudio se utilizó la técnica de Snounou (1996) (PCR anidada) (Ruybal-Pesántez et al., 2017) y se determinó la prevalencia por comunidad. Mataje presentó una prevalencia de *Plasmodium* spp de 5,75% mostrando las dos especies tanto *P. vivax* (2,3%) como *P. falciparum* (3,45%) y la comunidad de Ricaurte presentó una prevalencia de 6% correspondiendo únicamente a la especie *P. falciparum*. Veloz (2015) en su estudio encontró una prevalencia de *Plasmodium* spp. en la comunidad de Ricaurte de 2,8% y en el estudio de Torres (2016) se observó una prevalencia de *Plasmodium* spp. de 13,08% en la comunidad de Mataje. Posiblemente, la disminución de la prevalencia en Mataje, en este estudio, se debió al menor número de muestras obtenido o a la sensibilidad del ensayo. Esto podría ser un limitante al momento de reflejar la situación real de la comunidad.

Las casas de este estudio en Mataje y Ricaurte, especialmente donde se encontraron casos positivos de malaria, se encuentran cercanos al río Mataje y río Tululbí respectivamente, presentan mayor probabilidad de que existan cuerpos de agua cercanos a sus hogares donde los mosquitos depositen sus huevos y pueden ser lugares para dispersión

de los insectos. Al encontrarse las viviendas cerca de los cuerpos de agua son más vulnerables a las picaduras de mosquitos infectados (Figura 6 y Figura 7).

Al comparar los resultados obtenidos en esta investigación con los estudios de Veloz (2015) y Torres (2016), se observa que las comunidades presentan un decrecimiento en su prevalencia, en Ricaurte de 22,14% y en Mataje de 72,17%. A pesar de que existe una reducción, es necesario que exista una vigilancia epidemiológica para controlar la presencia de infecciones asintomáticas y submicroscópicas, que impide la eliminación de esta enfermedad.

La presencia de infecciones asintomáticas indirectamente indica que la población ha desarrollado inmunidad ante la enfermedad, a pesar de su baja intensidad en la transmisión. Sáenz y colaboradores (2017), en el Ecuador, demostraron que más de un tercio de la población de estudio mostraron títulos positivos de anticuerpos contra las especies *P. falciparum* y *P. vivax*, confirmando el desarrollo de la inmunidad de la población ante la malaria.

Una de las razones que pudo contribuir en el incremento del número de casos, en los últimos años, en Ecuador fue el aumento del tránsito de la población. Al no tener una buena regularización en lugares fronterizos, la introducción de nuevos parásitos pudo generar el aumento de diversidad génica en las poblaciones de *Plasmodium* spp ecuatorianos, siendo necesario el control y la vigilancia en áreas fronterizas.

6.2. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DEL GRUPO SANGUINEO DUFFY

La población de las comunidades de Mataje y Ricaurte, de la provincia de Esmeraldas, presenta alta heterogeneidad de los polimorfismos Duffy, manifestando los diferentes polimorfismos Fy (a+b+), Fy (a-b+), Fy (a+b-), Fy (a-b-). Los resultados de las dos diferentes pruebas, tanto para la presencia del fenotipo (prueba cualitativa) como para el genotipo (PCR en tiempo real) presentaron concordancia. Los procedimientos utilizados fueron los mismos realizados por Gunalan y colaboradores (2016).

Se encontraron 76,64% de fenotipos Duffy positivos con los diferentes fenotipos Fy (a+b+), Fy (a+b-) y Fy (a-b+), y 23,35% fenotipos Duffy negativos. Se puede observar que los porcentajes en estas comunidades (Mataje y Ricaurte) son similares a los obtenidos en el estudio de Veloz (2015), donde se encontró 70,4% de Duffy positivos y un 29,6% de Duffy negativos en las comunidades de Ricaurte, El Guadual, La Boca y el Pedregal. La determinación del fenotipo del grupo sanguíneo Duffy mostró la distribución del grupo sanguíneo Duffy en las diferentes comunidades de Esmeraldas.

El polimorfismo Fy (a-b-) conocido como Duffy negativo es un homocigoto predominante en la población africana y afroamericana. Tournamille, Colin, Carton y Le Van Kim (1995) observaron que los Duffy negativos presentaban una mutación puntual en el promotor GATA-1, cambio de T por C en el alelo FyB, sugiriendo que el alelo tiene origen africano. La mutación que presentan los Duffy negativos inhibe la expresión de la proteína DARC en los eritrocitos humanos, impidiendo que el parásito *P. vivax* ingrese al hospedero. En este estudio el polimorfismo Fy (a-b-) no fue el predominante a pesar de que la población se considera afrodescendiente, posiblemente debido a los cambios en la población como las mezclas entre la población y la migración.

En la región de las Américas existe una alta heterogeneidad alélica con predominio de los alelos simples: FyA, FyB y FyB^{es}. El alelo FyA está mayormente distribuido en Asia, Australia, este de China y Rusia. El alelo FyB, siendo el alelo menos prevalente a nivel mundial, se encuentra en áreas con mayor heterogeneidad alélica como Europa y ciertos lugares de América. Por su parte, el alelo FyB^{es} presenta mayor predominancia en África subsahariana y en la región de las Américas, a lo largo de la costa atlántica y el Caribe (Howes et al., 2011).

La población brasileña es altamente heterogénea, allí se han observado mezclas entre nativos americanos, colonizadores o inmigrantes europeos y esclavos africanos. Es por esta razón que la amazonia de Brasil presenta una frecuencia menor en el fenotipo FyB^{es}/FyB^{es}, poseen mayor predominancia del componente europeo (Kano et al., 2018). Igualmente, las comunidades ecuatorianas de Mataje y Ricaurte fueron altamente polimórficas, donde se observó la presencia de los alelos FyA, FyB y FyB^{es}, lo que demuestra alta heterogeneidad de los alelos en las poblaciones endémicas a pesar de ser en su mayoría afroamericanos.

El genotipo del grupo sanguíneo Duffy más prevalente encontrado en este estudio en las comunidades estudiadas fue Fya/Fyb^{es} (46.71%), seguido por el genotipo Fyb^{es}/Fyb^{es} (23.35%) (Duffy negativo). Se ha reportado ampliamente que los Duffy negativos no presentan el receptor para el ingreso de *P. vivax* y, por lo tanto, no podrían infectarse con el parásito.

Cavasini y colaboradores (2007), en su estudio realizado en la amazonia brasileña, hallaron una baja frecuencia del genotipo Duffy negativo en personas infectadas con *Plasmodium vivax*. Posiblemente, existe una menor frecuencia del fenotipo FyB^{es}/ FyB^{es} debido a que, las personas con el fenotipo FyB^{es}/ FyB^{es}, presentan una resistencia natural contra la infección por *P. vivax* (Kano et al., 2018).

Se ha observado, en estos últimos años, que las infecciones por *P. vivax* están presentes en individuos con genotipo Duffy negativo. En Guinea Ecuatorial (África Occidental), donde la prevalencia de personas Duffy negativas es del 95%, existen infecciones por *P. vivax* sirviendo como reservorio de la enfermedad (Mendes et al., 2011). Además, en Madagascar se evidenció que *P. vivax* es capaz de infectar a eritrocitos que no presenten la proteína DARC (Ménard et al., 2010). En Ecuador, Veloz en el 2015 observaron, por primera vez en la costa pacífica de América del Sur, casos donde los pacientes no presentaban el antígeno Duffy pero sí infección con el parásito *P. vivax*.

En el presente estudio se encontraron personas con el genotipo Duffy negativo, que presentaban infecciones por el parásito *P. vivax*, confirmando con el resultado del estudio realizado por Veloz en el 2015. La razón por la cual los individuos Duffy negativos podrían ser infectados por *P. vivax* no ha sido determinada. Diferentes factores podrían estar involucrados en la invasión de *P. vivax* a Duffy negativos, principalmente la biología de esta especie y su capacidad de adaptación (Mendes et al., 2011). En regiones donde el fenotipo Duffy positivo es más prevalente, los individuos Duffy positivo podrían ser un reservorio de *P. vivax* que brinda la oportunidad de infectar eritrocitos de Duffy negativos y la capacidad de desarrollar nuevas formas de invadir eritrocitos (Woldearegai, Kremsner, Kun, & Mordmüller, 2013). Otro factor que hay que tener en cuenta es que *P. vivax* podría utilizar un receptor alternativo con baja afinidad para el ingreso a lo eritrocitos (Gunalan et al., 2016).

6.3. NÚMERO DE COPIAS DEL GEN *Pvdbp*

La proteína de unión Duffy (DBP) de *P. vivax*, es una proteína de 140 kDa que se expresa en los micronemas del merozoíto y cumple un papel muy importante en la invasión del parásito al eritrocito. La proteína DBP de *P. vivax* es uno de los principales candidatos para la formulación de una vacuna, debido a que *Pvdbp* muestra antígenos que inhiben la interacción entre la proteína y el receptor en los eritrocitos, impidiendo la invasión de *P. vivax* (Valizadeh, Zakeri, Mehrizi, & Djadid, 2014).

Al observar que existen infecciones en Duffy negativos, se presume que el parásito utiliza otro mecanismo en la invasión, diferente del receptor DARC. Posiblemente, una de las estrategias que tiene *P. vivax* en la invasión a Duffy negativos, en algunas regiones, es aumentar el número de copias del gen *Pvdbp* (Kanjee, Rangel, Clark, & Duraisingh, 2018).

Menard y colaboradores (2013) detectaron, en lugares como Etiopía y Mauritania, mayor predominancia en Duffy negativos, en los que existía una duplicación del gen *Pvdbp*. Esto podría permitir el ingreso del parásito a los reticulocitos Duffy negativos. Gunalan y colaboradores (2016), en Etiopía, encontraron que el gen *Pvdbp* presentaba tres y ocho copias, sugiriendo que el aumento en el número de copias del gen podría facilitar la unión a un receptor alternativo en los eritrocitos de Duffy negativos (Gunalan et al., 2016). La duplicación del gen *Pvdbp* en las muestras que son Duffy negativas podrían representar una alternativa para que el parásito ingrese a estas personas que no presentan el receptor DARC.

La presencia de infecciones en individuos Duffy negativos permite dirigir investigaciones a las interacciones entre *P. vivax* y los reticulocitos del huésped. En el estudio de Hostetler y colaboradores (2016), se sugiere que la alta prevalencia en la frecuencia del número de copias del gen *Pvdbp* es una nueva alternativa del parásito *P. vivax* para la invasión a los eritrocitos en personas Duffy negativas. Es decir, aquellas que no presentan el receptor DARC en los eritrocitos.

El estudio en Ecuador realizado por Nuñez (2018), demostró que la proteína DBP de *P. vivax* es altamente polimórfica y presenta una alta diversidad haplotípica, encontrando un total de 28 haplotipos en muestras provenientes de la Amazonía y Costa. Al tener mayor cantidad de polimorfismos, las proteínas pueden generar estructuras variables,

principalmente en los epítomos de células B, que le permiten al parásito evadir el sistema inmune del hospedero (Nuñez, 2018).

En el presente estudio se utilizaron muestras sanguíneas ecuatorianas que fueron confirmadas con la presencia de *P. vivax* y colectadas en el periodo 2012-2015. No se pudo determinar el número de copias de las muestras colectadas en 2017, que fueron positivas de *P. vivax* con el fenotipo Duffy negativo, porque presentaron una parasitemia baja. Se determinó que la población de parásitos *P. vivax* ecuatorianos poseía una única copia del gen *Pvdbp*. Sin embargo, esto difiere de otros países como Etiopía donde se encontraron tres y ocho copias del gen o con Mauritania, en donde se hallaron dos copias (Gunalan et al., 2016).

Los *P. vivax* ecuatorianos presentaron una sola copia porque, posiblemente, el país presenta menor número de casos de malaria a comparación de los países como Etiopía (1 530 739 casos de malaria) (World Malaria Report, 2018) o Mauritania (29 156 casos de malaria) (World Malaria Report, 2017) que al presentar mayor incidencia de malaria por *P. vivax*, su transmisión es común y el parásito debe adaptarse a sus condiciones por lo que podría generar modificaciones genéticas para poder invadir a personas Duffy negativas.

6.4. ANÁLISIS DE ENCUESTAS

La malaria afecta a las zonas tropicales y subtropicales del mundo, especialmente a los países que están en desarrollo. Existen diferentes factores que contribuyen la existencia de la enfermedad en países endémicos como: cambio climático, la infraestructura, la resistencia a los antimaláricos e insecticidas, los cambios demográficos, el conocimiento sobre la enfermedad, las prácticas para la prevención de la enfermedad, los costos de atención, terapia, la exposición al vector, la biología del parásito y la inmunología del hospedero (Salam, Das, Lassi, & Bhutta, 2014).

El Ecuador, hasta el 2015, la malaria era controlada por el Servicio Nacional de control de enfermedades transmitidas por artrópodos (SNEM), el cual realizaba una gestión en programas de control para concientizar a la población sobre la enfermedad y vigilancia de la malaria. En el 2013, el Ecuador alcanzó la fase de pre-eliminación de malaria por la reducción de casos de la enfermedad (Krisher et al., 2016).

Las encuestas epidemiológicas recopilan información enfocada a la salud y condiciones demográficas de la población estudiada, lo cual permite diseñar estrategias para disminuir la prevalencia, controlar y eliminar de la enfermedad.

6.4.1 ENCUESTA SOCIO-DEMOGRÁFICA

El grupo poblacional en esta investigación fue el género femenino (56,25%). Es importante analizar los datos obtenidos, debido a que se ha observado que en estos últimos tiempos ha disminuido la ocupación de las mujeres como amas de casa, siendo este un papel muy importante en la formación y transmisión de conocimientos a su familia. Krisher y colaboradores (2016) han observado que las madres, al tener un buen conocimiento del diagnóstico y el reconocimiento de síntomas de la malaria, son un factor clave en el control de enfermedades en zonas endémicas.

Las ocupaciones más frecuentes de las personas encuestadas fueron: propietario de minas (50%), agricultor (6,25%) y otro (12,5%), haciéndolos más vulnerables a contraer la enfermedad por el tiempo de exposición al ambiente cerca de charcos de agua, que son criaderos de mosquitos. Esto concuerda con estudios donde se ha visto que los hombres presentan mayor riesgo de contraer infección de malaria debido a la exposición a lugares cercanos como charcos de agua por las actividades que realizan diariamente (Dawaki et al., 2016). La presencia del parásito en personas que trabajan en las minas es un factor limitante en la eliminación de la malaria por la alta movilidad y difícil acceso al lugar.

Las personas de género masculino son los más vulnerables a contraer infección, esto se debe a que los hombres participan en actividades en campo abierto (agricultura y minería), que podrían aumentar la posibilidad de contraer la infección. Otro factor de riesgo fue la edad porque está asociado a la respuesta inmune protectora en zonas endémicas. Se ha visto que los adultos son portadores de parásitos, presentando infecciones asintomáticas al tener inmunidad. Los niños al estar en contacto con el parásito, desarrollan su inmunidad y podrían ser reservorios de malaria (Zhao et al., 2018).

El grado de escolaridad que presentó la mayoría de la población varió entre primaria completa/incompleta, secundaria completa/incompleta y en un menor porcentaje carreras técnicas, universitarias o ningún grado de escolaridad. El nivel de escolaridad se podría

considerar como un factor de riesgo asociado a la prevalencia de la enfermedad en la zona porque el nivel de escolaridad permite observar el conocimiento que presenta la comunidad para resolver un problema o tomar decisiones que beneficien ante una dificultad (Poveda, 2015). Comunidades con bajos recursos económicos que poseen un nivel menor de escolaridad son más susceptibles a ciertas enfermedades como la malaria.

Toda la población encuestada se consideró de etnia afroecuatoriana. Se ha observado que las poblaciones afro descendientes, al no tener el receptor Duffy en los eritrocitos, no podían contraer malaria por *P. vivax*, debido a que esta especie requiere de la interacción específica entre DBP (proteína del parásito) con DARC (receptor en los eritrocitos), generando resistencia natural en la invasión de *P. vivax* (Zimmerman et al., 1999). Actualmente, se han reportado varios estudios que denotan que a pesar de que no presenten este receptor los Duffy negativos pueden ser invadidos por *P. vivax*, por posibles diferentes factores involucrados en la biología del parásito.

La población encuestada presentó una alta cobertura en energía eléctrica, lo cual representa un factor de riesgo ya que muchos insectos tienen fototaxis positiva y se sienten atraídos por la luz. Una estrategia de control contra las picaduras de mosquito es apagar la luz durante la noche (Pollick, 2016).

El tipo de vivienda es muy variado. La vivienda predominante fue la de ladrillo (75%), seguida por cabaña de madera (18,75%) y rancho o choza (6,25%). Se ha comprobado que las casas construidas con ladrillo o yeso presentan menor riesgo de que las personas puedan contraer la malaria en comparación a la viviendas de barro o madera (Wangdi, Gatton, Kelly, & Clements, 2015). El estudio de Torres (2016) indicó que en las comunidades de Mataje (50%) y San Francisco (47,5%) predominaron la casas de ladrillo, al comparar con este estudio, la población ha aumentado las condiciones de vida, mejorando el tipo de vivienda que poseen, siendo un factor favorable para la disminución de la enfermedad.

La principal fuente de agua en la preparación de los alimentos de la población fue el acueducto (93,75%) y la fuente de agua más cercana está a una distancia entre 50 y 100 metros. La distancia de agua puede ser un factor en la transmisión del vector porque los principales hábitats de los vectores de la malaria son: estanques, pozos, charcos temporales

y sitios de excavación (Conde et al., 2015). El servicio sanitario de la mayoría de la población es la letrina (62,5%), ubicada fuera de la vivienda, incrementando el riesgo de contraer malaria al momento de realizar sus necesidades básicas y siendo más propensos a la picadura del mosquito durante la noche.

6.4.2. ENCUESTA DE CONOCIMIENTOS

El 87,5% de la población conocía que la forma de transmisión de la malaria es mediante la picadura de mosquitos ($p= 0,000$). Esto concuerda con el estudio de Torres (2016), en el Ecuador, donde se encontró que el 85,8% de la población conocía el método de transmisión de esta enfermedad. Se observa que la población presenta conocimiento de la transmisión de la enfermedad, presentando alta significancia ($p= 0,000$), y a mayor conocimiento, disminuye la probabilidad de contraer la enfermedad. La información sobre el mecanismo de contagio de la malaria es esencial para la práctica de medidas preventivas (Soleimani-Ahmadi, Vatandoost, Zare, Alizadeh, & Salehi, 2014).

Los encuestados coincidieron que los primeros síntomas asociados con la malaria son: dolor de cabeza (62,5%), fiebre (56,25%) y escalofríos (31,25%) ($p= 0,000$); concordando con los resultados obtenidos en el estudio de Torres (2016). El reconocimiento de los primeros síntomas de la malaria es primordial para buscar un tratamiento temprano para las personas afectadas (Bashar et al., 2012).

El 93,75% de la población encuestada supo que al presentar síntomas de malaria es necesario acudir al microscopista u otro funcionario de salud para diagnosticarse ($p= 0,000$). De igual forma, el mismo porcentaje de los encuestados (93,75%) afirmó que la comunidad cuenta con un microscopista al que pueden acudir para realizarse el examen de sangre mediante un frotis de la gota gruesa gratuitamente.

Adicionalmente, el 6,25% de la población, al presentar síntomas, tomaba remedios caseros para curarse porque, posiblemente, una de las razones es que desconocen el centro de salud cercano donde puede diagnosticarse y tratar la enfermedad. En Colombia, 89% de la población indica que, presentar síntomas clásicos de malaria es una alerta para visitar una clínica local con un microscopista u otro funcionario de salud. Esto demuestra que las

comunidades con buen conocimiento de la causa y manifestaciones de la enfermedad buscan un tratamiento temprano (Forero et al., 2014).

El 68,75% de la población encuestada afirmó que la malaria se trata con pastillas. Además, la mayoría de la población (93,75%) concuerda que, si no se toma el tratamiento la persona puede agravarse y morir. Sin embargo, un 12,5% de la población encuestada opinó que la enfermedad se cura sola. Esto constituye un factor de riesgo debido a que puede llevar al desarrollo de malaria grave e impedir la eliminación de la enfermedad de estas zonas endémicas. En Ecuador el tratamiento utilizado es arteméter-lumefantrina para *P. falciparum* y cloroquina + primaquina para *P. vivax*. Es crucial seguir con el tratamiento para evitar el surgimiento de resistencia a los anti-maláricos, lo que contribuirá a evitar futuros brotes en zonas de alto riesgo (Sáenz et al., 2017).

Se observa que la población conocía las principales actividades para evitar la malaria; entre ellas el uso del toldillo o mosquitero (43,75%), fumigar (31,25%), evitar aguas estancadas y secar los charcos (81,25%) ($p= 0,000$). En Suazilandia, la población conocía que para prevenir la malaria se deben realizar fumigaciones y usar mosquiteros, siendo este un punto clave en la prevención de la enfermedad (Hlongwana, Mabaso, Kunene, Govender, & Maharaj, 2009).

La población afirmó que el responsable de controlar la enfermedad es el centro de salud (68,75%). Además, la mayoría de los pobladores opinó que los trabajadores de salud (87,5%) fueron quienes les impartieron conocimientos sobre la enfermedad. En relación con el estudio de Torres (2016), en la misma zona, solo la mitad de la población (58,5%) aseguró que sus conocimientos sobre la enfermedad fueron impartidos por los trabajadores de salud. Los datos de esta investigación son favorables, debido a que ha aumentado el conocimiento con relación al año 2016 reportado por Torres (2016). Al aumentar el conocimiento sobre la enfermedad mejoran las estrategias de prevención. La mayoría de personas dependen de intervenciones de programas de control para concientizar y realizar diferentes actividades para protegerse contra la infección de la malaria (Hlongwana et al., 2009).

A pesar de que la mayoría de la población encuestada presenta conocimiento sobre la enfermedad, y de quienes son los responsables de controlarla; aún existe 18,75% de la población que desconoce quién es el responsable de controlar la malaria. Lo que constituye

un importante factor de riesgo en el control y prevención de la enfermedad. Los responsables de controlar la malaria son cada individuo, la comunidad, el ministerio de salud pública, los políticos y los investigadores que uniendo fuerzas pueden controlar y eliminar la enfermedad.

La mayoría de la población de Mataje demostró tener conocimientos sobre la malaria, a mayor conocimiento presente en la comunidad, disminuye la probabilidad de contraer la enfermedad. Es por esta razón que el conocimiento sobre la transmisión de la malaria es esencial en la práctica de medidas preventivas de la enfermedad (Soleimani-Ahmadi et al., 2014).

6.4.3. ENCUESTAS DE ACTITUDES

El 56,25% de los encuestados coincidió que enfermarse de malaria no es algo común ni normal. Sin embargo, el 37,5% cree que es normal. Es importante analizar estos datos, pues se observa que la población desconoce de la gravedad de la enfermedad y, por lo tanto, no recurren al diagnóstico temprano ni al tratamiento, incrementando el riesgo de contagiar a otras personas. La mayoría de la población concuerda que tener charcas o agua estancada cerca de la vivienda los hace susceptibles a la picadura del mosquito, facilitando la transmisión de la enfermedad. En Colombia y en otros países, se observó que tener estanques o agua estancada cerca de las viviendas aumentaba la probabilidad de ser picado por mosquitos y, por ende, el riesgo de contraer malaria (Forero et al., 2014).

La mayoría de la población conocía que la malaria no se transmite por contacto físico. No obstante, una menor cantidad de la población (12,5%) cree que la malaria se puede transmitir por contacto físico. En el estudio de Torres (2016) el 16,2% de la población aseguró que la malaria si se transmite por contacto físico, datos que concuerdan con el presente estudio. Por otra parte, se observa que una menor proporción de la población de estudio desconocía sobre la transmisión de la enfermedad. El conocimiento sobre la transmisión de la malaria es esencial para la práctica de medidas preventivas de esta (Soleimani-Ahmadi et al., 2014).

El 93,75% de la población afirmó que la presencia de mosquitos o zancudos en sus casas es molesta, a pesar de esto el 31,25% de la población cree que usar toldillo es

molestoso. El no utilizar el toldillo es un factor de riesgo para la población, haciéndolos más susceptibles a la picadura de los mosquitos. Una de las razones por la que la población no utiliza toldillo es el calor (Owusu, Cremers, Brown, Mens, & Grobusch, 2018).

La mayoría de la población presentó una correcta actitud respecto a que es necesario la toma de la muestra sanguínea para realizarse el frotis de la gota gruesa para ser diagnosticada con malaria. Sin embargo, existe 12,5% de la población encuestada opinó que no es necesario este examen para identificar la enfermedad. Esto representa un factor de riesgo porque una menor población no se realiza el diagnóstico de la enfermedad siendo difícil el tratamiento y el control.

La población encuestada estuvo de acuerdo en que se debe terminar la medicación a pesar sentirse mejor. Adicionalmente, el 75% de la población respondió que no se ha auto-medicado. Sin embargo, el 25% adquirió fármacos sin receta médica para tratar la enfermedad. En Nigeria el 90% de casos sospechosos con malaria se auto-medicaban con hierbas medicinales o medicamentos tradicionales (Adedotun, Morenikeji, & Odaibo, 2010). La adquisición de medicamentos sin receta médica es un factor de riesgo, debido a que se los parásitos podrían generar resistencia a las diferentes medicinas, afectando a las poblaciones de las zonas endémicas (Dawaki et al., 2016).

6.4.4. ENCUESTAS DE PRÁCTICAS

La sensibilización de los individuos y comunidades en adoptar nuevos comportamientos y nuevas actividades prácticas, permite reducir el riesgo de contraer infecciones como malaria (Ferreira & Castro, 2016).

Las actividades prácticas que adoptaron los pobladores encuestados dentro de las viviendas fueron: la utilización de toldillo o mosquitero (81,25%); fumigación (25%) y la utilización de repelente tópico (12,5%) ($p= 0,000$). Estudios en Irán, demostraron que una estrategia de control y prevención de la malaria, en comunidades rurales, dependía del buen uso de los toldillos (Soleimani-Ahmadi et al., 2014). Forero y colaboradores (2014) demostraron que redes o mosquiteros tratados con insecticidas disminuyen la mortalidad y morbilidad. De la misma manera, en Kenia, participantes de un estudio informaron que al utilizar mosquiteros o cortinas impregnadas con insecticidas evitaban que los mosquitos

ingresaran al hogar (Kachur et al., 1999). En estudios realizados en Perú, la población percibió que al utilizar redes con insecticidas disminuía la cantidad de mosquitos en su hogar (Paz-Soldan et al., 2016). Asimismo, en Suazilandia, se observó que los pobladores realizaban medidas de prevención contra la malaria, mediante el uso de mosquiteros y fumigación, como protección personal (Hlongwana et al., 2009).

Las prácticas con mayor porcentaje realizadas fuera de la vivienda en la comunidad de Mataje fueron: la vigilancia de aguas estancadas (62,5%), cortar el pasto, matorrales y monte cerca de la vivienda (31,25%) y fumigar (18,75%) ($p= 0,000$). El nivel de conocimiento se refleja o está relacionado con las actividades prácticas que presenta la población. La realización de prácticas de prevención en el interior y exterior de la vivienda es una gran estrategia para evitar la malaria (Forero et al., 2014).

La mayoría de los encuestados afirmaron que acuden al médico, enfermera o auxiliar de enfermería para realizarse el examen de sangre de la gota gruesa para diagnosticarse. El 43,75% de la población encuestada no se hizo tomar el examen de sangre de la gota gruesa cuando tuvo malaria. Es necesario observar que existe una 31,25% de la población de este estudio que no conoce de la enfermedad y, por su falta de conocimiento, las actividades prácticas que realizan con respecto a la enfermedad son desfavorables. El examen sanguíneo de la gota gruesa es esencial para diagnosticar la enfermedad en la zona, al no realizarse esta prueba de diagnóstico la enfermedad puede complicarse y la población sana se compromete al correr el riesgo de contagiarse, por ende, aumentar los casos.

La población encuestada afirmó que caminaban para llegar al lugar de diagnóstico, debido a que se encontraba cerca de la comunidad. Se conoce que mientras más cerca se encuentra el lugar para el diagnóstico la probabilidad de transmitir la enfermedad en la población es menor. La población de estudio (100%) afirmó que se demoran menos de una hora para la realización del diagnóstico de la malaria.

El estudio realizado en Colombia, en el cual la población encuestada de Tierralta, Buenaventura y Tumaco, con riesgo alto y moderado, se encontraba cerca del lugar de diagnóstico. Por lo tanto, el número de casos fue menor (Forero et al., 2014). Una buena disponibilidad a los centros de salud y accesibilidad al tratamiento es un factor para el control

de la enfermedad (Khairy et al., 2017). En lugares fronterizos los centros de salud cercanos juegan un papel muy importante para el control de la enfermedad.

La mayoría de la población coincidió que el motivo por el cual suspendía el tratamiento era porque se sentían mejor. Además, la población afirmó que el personal de salud les entrega el medicamento gratuitamente. El hecho de obtener el tratamiento de forma gratuita constituye un factor favorable para reducir la incidencia de la enfermedad, pero a su vez se debe concientizar a la población para terminar el tratamiento.

7. CONCLUSIONES

Las comunidades del norte de Esmeraldas (Mataje y Ricaurte) presentaron una prevalencia de *Plasmodium* spp. de 5,83% (1,46% *P. vivax* y 4,37% *P. falciparum*). Todas las infecciones fueron asintomáticas. Las comunidades son fronterizas con Colombia, siendo un factor de riesgo el flujo poblacional entre los dos países, debido a que podría estar influenciando el porcentaje de infecciones en el país.

En las comunidades de Mataje y Ricaurte existe gran heterogeneidad del grupo sanguíneo Duffy con los alelos FyA, FyB y FyB^{es}, y existe la presencia de infecciones con *P. vivax* en Duffy negativos personas asintomáticas.

Se encontró que los *P. vivax* ecuatorianos presentaban una sola copia de su gen *Pvdbp* a comparación de otros lugares en el mundo, donde se han encontrado dos, tres u ocho copias del gen.

La población de Mataje presentó un conocimiento básico respecto a la enfermedad. Sin embargo, algunas prácticas como no realizarse el frotis sanguíneo de la gota gruesa o suspender el tratamiento, podrían permitir que la malaria se mantenga en esa comunidad.

La sensibilización de los individuos y comunidades en adoptar nuevos comportamientos y nuevas actividades prácticas permite reducir el riesgo en contraer infecciones de malaria.

Es importante observar los conocimientos, las actitudes y prácticas de la población contra la malaria, con el objetivo de utilizar estos datos para generar futuras herramientas y estrategias más específicas para controlar y eliminar esta enfermedad.

El presente estudio proporciona una mejor comprensión de la epidemiología de la malaria en las comunidades de Mataje y Ricaurte del cantón San Lorenzo. Conocer la prevalencia, identificar la presencia de infecciones con *P. vivax* en individuos Duffy negativos y correlacionar estos hallazgos con las condiciones socioeconómicas actuales de la población, aporta datos relevantes que permitirán desarrollar nuevas estrategias para controlar y eliminar la malaria en nuestro país.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, J. H., Hudson, D. E., Torii, M., Ward, G. E., Wellems, T. E., Aikawa, M., & Miller, L. H. (1990). The duffy receptor family of plasmodium knowlesi is located within the micronemes of invasive malaria merozoites. *Cell*, 63(1), 141–153. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90295-P](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90295-P)
- Adedotun, A. A., Morenikeji, O. A., & Odaibo, A. B. (2010). Knowledge, attitudes and practices about malaria in an urban community in south-western Nigeria. *Journal of Vector Borne Diseases*, 47(3), 155.
- Aikawa, M., Miller, L. H., & Rabbege, J. (1975). Caveola-vesicle complexes in the plasmalemma of erythrocytes infected by Plasmodium vivax and P cynomolgi. Unique structures related to Schüffner's dots. *The American journal of pathology*, 79(2), 285–300.
- Alger, J. (2001). Densidad Parasitaria en Malaria: Métodos de determinación y su interpretación, 118–120.
- Ansel, A., Lewis, J. D., Melnick, D. J., Martins, C., Valladares-Padua, C., & Perez-Sweeney, B. (2017). Genetic variants related to disease susceptibility and immunotolerance in the Duffy antigen receptor for chemokines (DARC, Fy) gene in the black lion tamarin (Leontopithecus chrysopygus, primates). *American Journal of Primatology*, 79(10). <https://doi.org/10.1002/ajp.22690>
- Artemov, G., Stegnyy, V., Sharakhova, M., Sharakhov, I., Artemov, G. N., Stegnyy, V. N., ... Sharakhov, I. V. (2018). The Development of Cytogenetic Maps for Malaria Mosquitoes. *Insects*, 9(3), 121. <https://doi.org/10.3390/insects9030121>
- Baird, J. K., Valecha, N., Duparc, S., White, N. J., & Price, R. N. (2016). Diagnosis and Treatment of Plasmodium vivax Malaria. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(6 Suppl), 35–51. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0171>
- Bashar, K., Al-Amin, H. M., Reza, M. S., Islam, M., Asaduzzaman, & Ahmed, T. U. (2012). Socio-demographic factors influencing knowledge, attitude and practice (KAP) regarding malaria in Bangladesh. *BMC Public Health*, 12(1), 1084. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-1084>
- Benson, T. W., Weintraub, D. S., Crowe, M., Yiew, N. K. H., Popoola, O., Pillai, A., ... Weintraub, N. L. (2018). Deletion of the Duffy antigen receptor for chemokines (DARC) promotes insulin resistance and adipose tissue inflammation during high fat

feeding. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 473, 79–88.
<https://doi.org/10.1016/J.MCE.2018.01.006>

Biotest. (2008). Blood Grouping Reagent Anti-Fya (FY1). Recuperado a partir de
<https://www.fda.gov/downloads/Biolog/BloodGroupingReagent/UCM081275.pdf>

Bousema, T., & Drakeley, C. (2011). Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2), 377–410.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00051-10>

Carvalho, T. A., Queiroz, M. G., Cardoso, G. L., Diniz, I. G., Silva, A. N., Pinto, A. Y., & Guerreiro, J. F. (2012). *Plasmodium vivax* infection in Anajás, State of Pará: no differential resistance profile among Duffy-negative and Duffy-positive individuals. *Malaria Journal*, 11(1), 430. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-430>

Cavasini, C. E., de Mattos, L. C., Couto, Á. A. D., Couto, V. S. D., Gollino, Y., Moretti, L. J., ... Machado, R. L. (2007). Duffy blood group gene polymorphisms among malaria vivax patients in four areas of the Brazilian Amazon region. *Malaria Journal*, 6, 167.
<https://doi.org/10.1186/1475-2875-6-167>

Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2017a). Centers for Disease Control and Prevention - Malaria - About Malaria - Biology - Mosquitoes - Anopheles Mosquitoes. Recuperado a partir de
<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/index.html>

CDC. (2017b). Centers for Disease Control and Prevention - Malaria. Recuperado el 28 de junio de 2018, a partir de <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>

CDC. (2018a). CDC. *Centers for Disease Control and Malaria*. Recuperado a partir de <https://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html>

CDC. (2018b). CDC - Malaria - About Malaria - Biology. Recuperado a partir de <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>

Centro Nacional de Epidemiología, P. y C. de E. (2018). Número de casos por tipo de malaria, (48887).

Changrob, S., Han, J.-H., Ha, K.-S., Park, W. S., Hong, S.-H., Chootong, P., & Han, E.-T. (2017). Immunogenicity of glycosylphosphatidylinositol-anchored micronemal antigen

in natural *Plasmodium vivax* exposure. *Malaria Journal*, 16(1), 348. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1967-9>

Chitnis, C. E., & Miuer, L. H. (1994). Identification of the Erythrocyte Binding Domains of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi* Proteins Involved in Erythrocyte Invasion. *The journal experimental medicine*, 180, 497–506. <https://doi.org/10.1084/jem.180.2.497>

Chotivanich, K., Sattabongkot, J., Choi, Y. K., Park, J. S., Sritabai, J., Lim, C. S., ... Lee, W. J. (2009). Antimalarial drug susceptibility of *Plasmodium vivax* in the Republic of Korea. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 80(6), 902–4. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19478246>

Conde, M., Pareja, P. X., Orjuela, L. I., Ahumada, M. L., Durán, S., Jara, J. A., ... Quiñones, M. L. (2015). Larval habitat characteristics of the main malaria vectors in the most endemic regions of Colombia: potential implications for larval control. *Malaria Journal*, 14(1), 476. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-1002-y>

Dawaki, S., Al-Mekhlafi, H. M., Ithoi, I., Ibrahim, J., Atroosh, W. M., Abdulsalam, A. M., ... Lau, Y.-L. (2016). Is Nigeria winning the battle against malaria? Prevalence, risk factors and KAP assessment among Hausa communities in Kano State. *Malaria Journal*, 15(1), 351. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1394-3>

De Brevern, A. G., Autin, L., Colin, Y., Bertrand, O., & Etchebest, C. (2009). In silico studies on DARC. *Infectious disorders drug targets*, 9(3), 289–303. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19519483>

Duarte de Barrios, E., Russomando, G., & del Puerto, F. (2016). Absence of asymptomatic cases of malaria in a historically endemic indigenous locality of the department of caaguazú, paraguay: Moving toward elimination. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49(5), 637–640. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0197-2016>

Duffy, S., & Avery, V. M. (2017). *Plasmodium falciparum* in vitro continuous culture conditions: A comparison of parasite susceptibility and tolerance to anti-malarial drugs throughout the asexual intra-erythrocytic life cycle. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 7(3), 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2017.07.001>

Edderkaoui, B., Sargsyan, L., Hetrick, A., & Li, H. (2018). Deficiency of Duffy Antigen Receptor for Chemokines Ameliorated Cochlear Damage From Noise Exposure. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 173. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00173>

- Ferreira, M. U., & Castro, M. C. (2016). Challenges for malaria elimination in Brazil. *Malaria Journal*, *15*(1), 284. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1335-1>
- Flores, J., Heredia, E., Ferrer, P., López, L., Berlanga, M., Moreno, M., & Rodrigálvarez, N. (2014). Género Plasmodium. Universidad Autónoma de Madrid.
- Forero, D. A., Chaparro, P. E., Vallejo, A. F., Benavides, Y., Gutiérrez, J. B., Arévalo-Herrera, M., & Herrera, S. (2014). Knowledge, attitudes and practices of malaria in Colombia. *Malaria Journal*, *13*(1), 165. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-165>
- Fru-Cho, J., Bumah, V. V., Safeukui, I., Nkuo-Akenji, T., Titanji, V. P., & Haldar, K. (2014). Molecular typing reveals substantial Plasmodium vivax infection in asymptomatic adults in a rural area of Cameroon. *Malaria Journal*, *13*(1), 170. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-170>
- Grimberg, B. T., Udomsangpetch, R., Xainli, J., McHenry, A., Panichakul, T., Sattabongkot, J., ... King, C. L. (2007). Plasmodium vivax Invasion of Human Erythrocytes Inhibited by Antibodies Directed against the Duffy Binding Protein. *PLoS Medicine*, *4*(12), e337. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040337>
- Gunalan, K., Lo, E., Hostetler, J. B., Yewhalaw, D., Mu, J., Neafsey, D. E., ... Miller, L. H. (2016). Role of Plasmodium vivax Duffy-binding protein 1 in invasion of Duffy-null Africans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(22), 1606113113-. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606113113>
- Hay, S. I., Sinka, M. E., Okara, R. M., Kabaria, C. W., Mbithi, P. M., Tago, C. C., ... Godfray, H. C. J. (2010). Developing Global Maps of the Dominant Anopheles Vectors of Human Malaria. *PLoS Medicine*, *7*(2), e1000209. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000209>
- Herrera, S., Ochoa-Orozco, S. A., González, I. J., Peinado, L., Quiñones, M. L., & Arévalo-Herrera, M. (2015). Prospects for Malaria Elimination in Mesoamerica and Hispaniola. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *9*(5), e0003700. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003700>
- Hlongwana, K. W., Mabaso, M. L., Kunene, S., Govender, D., & Maharaj, R. (2009). Community knowledge, attitudes and practices (KAP) on malaria in Swaziland: A country earmarked for malaria elimination. *Malaria Journal*, *8*(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-29>

- Hoque, M. R., Elfaki, M. M. A., Ahmed, M. A., Lee, S.-K., Muh, F., Ali Albsheer, M. M., ... Han, E.-T. (2018). Diversity pattern of Duffy binding protein sequence among Duffy-negatives and Duffy-positives in Sudan. *Malaria Journal*, *17*(1), 297. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2425-z>
- Hostetler, J. B., Lo, E., Kanjee, U., Amaratunga, C., Suon, S., Sreng, S., ... Rayner, J. C. (2016). Independent Origin and Global Distribution of Distinct Plasmodium vivax Duffy Binding Protein Gene Duplications. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *10*(10), e0005091. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005091>
- Howes, R. E., Battle, K. E., Mendis, K. N., Smith, D. L., Cibulskis, R. E., Baird, J. K., & Hay, S. I. (2016). Global epidemiology of Plasmodium vivax. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *95*(Suppl 6), 15–34. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0141>
- Howes, R. E., Patil, A. P., Piel, F. B., Nyangiri, O. A., Kabaria, C. W., Gething, P. W., ... Hay, S. I. (2011). The global distribution of the Duffy blood group. *Nature Communications*, *2*, 266. <https://doi.org/10.1038/ncomms1265>
- Inyimai, S. P., Ocan, M., Wabwire, B., & Olupot-Olupot, P. (2018). Asymptomatic Plasmodium Parasites among Adults in Eastern Uganda: A Case of Donor Blood Screening at Mbale Regional Blood Bank. *Journal of Tropical Medicine*, *2018*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2018/6359079>
- ISGlobal. (2014). La malaria vivax puede ser grave e incluso mortal. Recuperado a partir de <https://www.isglobal.org/-/la-malaria-vivax-puede-ser-grave-e-incluso-mortal>
- Kachur, S. P., Phillips-Howard, P. A., Odhacha, A. M., Ruebush, T. K., Oloo, A. J., & Nahlen, B. L. (1999). Maintenance and sustained use of insecticide-treated bednets and curtains three years after a controlled trial in western Kenya. *Tropical Medicine and International Health*, *4*(11), 728–735. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.1999.00481.x>
- Kanjee, U., Rangel, G. W., Clark, M. A., & Duraisingh, M. T. (2018). Molecular and cellular interactions defining the tropism of Plasmodium vivax for reticulocytes. *Current Opinion in Microbiology*, *46*, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.10.002>
- Kano, F. S., de Souza, A. M., de Menezes Torres, L., Costa, M. A., Souza-Silva, F. A., Sanchez, B. A. M., ... Sousa, T. N. (2018). Susceptibility to Plasmodium vivax malaria associated with DARC (Duffy antigen) polymorphisms is influenced by the time of exposure to malaria. *Scientific Reports*, *8*(1), 13851. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32254-z>

- Khairy, S., Al-Surimi, K., Ali, A., Shubily, H. M., Al Walaan, N., Househ, M., & El-Metwally, A. (2017). Knowledge, attitude and practice about malaria in south-western Saudi Arabia: A household-based cross-sectional survey. *Journal of Infection and Public Health*, *10*(5), 499–506. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.09.021>
- King, C. L., Adams, J. H., Xianli, J., Grimberg, B. T., McHenry, A. M., Greenberg, L. J., ... Zimmerman, P. A. (2011). Fya/Fyb antigen polymorphism in human erythrocyte Duffy antigen affects susceptibility to Plasmodium vivax malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(50), 20113–20118. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109621108>
- Krisher, L. K., Krisher, J., Ambuludi, M., Arichabala, A., Beltrán-Ayala, E., Navarrete, P., ... Stewart-Ibarra, A. M. (2016). Successful malaria elimination in the Ecuador–Peru border region: epidemiology and lessons learned. *Malaria Journal*, *15*(1), 573. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1630-x>
- Laishram, D. D., Sutton, P. L., Nanda, N., Sharma, V. L., Sobti, R. C., Carlton, J. M., & Joshi, H. (2012). The complexities of malaria disease manifestations with a focus on asymptomatic malaria. *Malaria Journal*, *11*(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-29>
- Langhi, D. M., & Bordin, J. O. (2006). Duffy blood group and malaria. *Hematology*, *11*(5–6), 389–398. <https://doi.org/10.1080/10245330500469841>
- Lecona-Valera, A. N., Tao, D., Rodríguez, M. H., López, T., Dinglasan, R. R., & Rodríguez, M. C. (2016). An antibody against an Anopheles albimanus midgut myosin reduces Plasmodium berghei oocyst development. *Parasites & Vectors*, *9*(1), 274. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1548-8>
- Lin, J. T., Saunders, D. L., & Meshnick, S. R. (2014). The role of submicroscopic parasitemia in malaria transmission: what is the evidence? *Trends in parasitology*, *30*(4), 183–90. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.02.004>
- Lindblade, K. A., Steinhardt, L., Samuels, A., Kachur, S. P., & Slutsker, L. (2013). The silent threat: asymptomatic parasitemia and malaria transmission. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *11*(6), 623–639. <https://doi.org/10.1586/eri.13.45>
- Luo, Z., Sullivan, S. A., & Carlton, J. M. (2015). The biology of plasmodium vivax explored through genomics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1342*(1), 53–61. <https://doi.org/10.1111/nyas.12708>

- Ménard, D., Barnadas, C., Bouchier, C., Henry-Halldin, C., Gray, L. R., Ratsimbasoa, A., ... Zimmerman, P. A. (2010). Plasmodium vivax clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(13), 5967–5971. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912496107>
- Menard, D., Chan, E. R., Benedet, C., Ratsimbasoa, A., Kim, S., Chim, P., ... Zimmerman, P. A. (2013). Whole Genome Sequencing of Field Isolates Reveals a Common Duplication of the Duffy Binding Protein Gene in Malagasy Plasmodium vivax Strains. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(11), e2489. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002489>
- Mendes, C., Dias, F., Figueiredo, J., Mora, V. G., Cano, J., de Sousa, B., ... Arez, A. P. (2011). Duffy Negative Antigen Is No Longer a Barrier to Plasmodium vivax – Molecular Evidences from the African West Coast (Angola and Equatorial Guinea). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001192>
- Miller, L. H., Baruch, D. I., Marsh, K., & Doumbo, O. K. (2002). The pathogenic basis of malaria. *Nature*, 415(6872), 673–679. <https://doi.org/10.1038/415673a>
- Miller, L. H., Mason, S. J., Clyde, D. F., & McGinniss, M. H. (1976). The Resistance Factor to *Plasmodium vivax* in Blacks. *New England Journal of Medicine*, 295(6), 302–304. <https://doi.org/10.1056/NEJM197608052950602>
- Mistarz, U. H., Singh, S. K., Nguyen, T. T. T. N., Roeffen, W., Yang, F., Lissau, C., ... Rand, K. D. (2017). Expression, Purification and Characterization of GMZ2'.10C, a Complex Disulphide-Bonded Fusion Protein Vaccine Candidate against the Asexual and Sexual Life-Stages of the Malaria-Causing Plasmodium falciparum Parasite. *Pharmaceutical Research*, 34(9), 1970–1983. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2208-1>
- Moreira, C. M., Abo-Shehada, M., Price, R. N., & Drakeley, C. J. (2015). A systematic review of sub-microscopic Plasmodium vivax infection. *Malaria journal*, 14, 360. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0884-z>
- Ministerio de Salud Pública. (2016). Enfermedades Transmitidas por Vectores Paludismo. Recuperado a partir de <http://instituciones.msp.gob.ec/images/Documentos/gaceta/GACETA SE 53.pdf>
- MSP. (2017). Enfermedades Transmitidas por Vectores Informe Malaria. Recuperado a partir de https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2016/09/vvMalaria-SE-52_2017.pdf

- Muñoz, J., Rojo-Marcos, G., Ramírez-Olivencia, G., Salas-Coronas, J., Treviño, B., Perez, J., ... Bassar, Q. (2014). Diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España: recomendaciones del Grupo de Trabajo de Malaria de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI), 33(xx).
- Ntumngia, F. B., King, C. L., & Adams, J. H. (2012). Finding the sweet spots of inhibition: understanding the targets of a functional antibody against Plasmodium vivax Duffy binding protein. *International journal for parasitology*, 42(12), 1055–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.09.006>
- Núñez, A. (2018). *Diversidad de genes de invasión de reticulocitos en Plasmodium vivax ecuatorianos*. Recuperado a partir de http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14687/TESIS_FINAL_AENV_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Organización Mundial de la Salud. (2006). Uso de las pruebas en el Diagnóstico Rápido de la Malaria. *Organización Mundial de la Salud*, (2), 20.
- OMS. (2017a). Control y eliminación del paludismo por Plasmodium vivax: informe técnico [“OMS | Control y eliminación del paludismo por Plasmodium vivax: informe técnico”. WHO. Consultado el 7 de mayo de 2017. <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241509244/es/>.]
- OMS. (2017b). Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos: Medicamentos utilizados en las enfermedades parasitarias - Segunda edición: Protozoos: Paludismo. Recuperado a partir de <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/h2922e/h2922e.pdf>
- OMS. (2018a). OMS | Tratamiento del paludismo: panorama general. WHO. Recuperado a partir de <https://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/es/>
- OMS. (2018b). Paludismo. Recuperado el 20 de septiembre de 2018, a partir de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (2012). OPS/OMS Ecuador - LA MALARIA SIGUE SIENDO UN DESAFÍO PARA LOS PAÍSES DE LA REGIÓN. Recuperado a partir de https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=98:la-malaria-sigue-siendo-un-desafio-paises-region&Itemid=360

- OPS/OMS. (2014). *Informe de la situación de la Malaria en las Américas*. Recuperado a partir de <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/33881>
- OPS/OMS. (2016). OPS/OMS. Recuperado el 28 de diciembre de 2018, a partir de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2425:2010-maps-malaria&Itemid=1972&lang=es
- OPS/OMS. (2017a). Alerta Epidemiológica Aumento de casos de malaria. Recuperado a partir de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=38148&lang=es
- OPS/OMS. (2017b). Paludismo: Información general. Recuperado el 28 de junio de 2018, a partir de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2573%3A2010-general-information-malaria&catid=1233%3Amalaria-program&Itemid=2060&lang=es
- Owusu, E. D. A., Cremers, A. L., Brown, C. A., Mens, P. F., & Grobusch, M. P. (2018). Knowledge, attitudes and practices regarding malaria in people living with HIV in rural and urban Ghana. *Acta Tropica*, *181*(January), 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.01.016>
- Pan American Health Organization/World Health Organization. (2018). Aumentan los casos de malaria en las Américas. Recuperado el 9 de enero de 2019, a partir de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=14080:aumentan-los-casos-de-malaria-en-las-americas&Itemid=1926&lang=en
- Pan American Health Organization. (2013). Situation of Malaria in the Region of the Americas, 2000-2012. Recuperado a partir de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/2012-cha-malaria-regional-report.pdf>
- PAHO. (2018). Actualización Epidemiológica. Aumento de malaria en las Américas, 5. Recuperado a partir de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=43437&lang=es http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=43437&lang=es
- Paul, A. S., Egan, E. S., & Duraisingh, M. T. (2015). Host-parasite interactions that guide red blood cell invasion by malaria parasites. *Current opinion in hematology*, *22*(3), 220–6. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000135>

- Paz-Soldan, V. A., Bauer, K. M., Lenhart, A., Cordova Lopez, J. J., Elder, J. P., Scott, T. W., ... Morrison, A. C. (2016). Experiences with insecticide-treated curtains: a qualitative study in Iquitos, Peru. *BMC Public Health*, *16*(1), 582. <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3191-x>
- Pollick, M. (2016). Why are Insects Attracted to Light? (with pictures). Recuperado el 23 de noviembre de 2018, a partir de <https://www.wisegeek.com/why-are-insects-attracted-to-light.htm#didyouknowout>
- Poveda-Loayza, A. C. (2015). *Determinacion de la prevalencia de Plasmodium spp mediante microscopia y su relacion con conocimientos, actitudes y prácticas de malaria como posibles factores de riesgo en cuatro comunidades de San Lorenzo provincia de Esmeraldas*. ESPE.
- Prajapati, S. K., & Singh, O. P. (2013). Insights into the invasion biology of Plasmodium vivax. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *3*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00008>
- Recht, J., Siqueira, A. M., Monteiro, W. M., Herrera, S. M., Herrera, S., & Lacerda, M. V. G. (2017). Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: Current challenges in malaria control and elimination. *Malaria Journal*, *16*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1925-6>
- Rovira-Vallbona, E., Contreras-Mancilla, J. J., Ramirez, R., Guzmán-Guzmán, M., Carrasco-Escobar, G., Llanos-Cuentas, A., ... Rosanas-Urgell, A. (2017). Predominance of asymptomatic and sub-microscopic infections characterizes the Plasmodium gametocyte reservoir in the Peruvian Amazon. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *11*(7), e0005674. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005674>
- Russo, G., Faggioni, G., Paganotti, G. M., Djeunang Dongho, G. B., Pomponi, A., De Santis, R., ... Lista, F. R. (2017). Molecular evidence of Plasmodium vivax infection in Duffy negative symptomatic individuals from Dschang, West Cameroon. *Malaria Journal*, *16*, 74. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1722-2>
- Ruybal-Pesántez, S., Tiedje, K. E., Rorick, M. M., Amenga-Etego, L., Ghansah, A., Oduro, A. R., ... Day, K. P. (2017). Lack of geospatial population structure yet significant linkage disequilibrium in the reservoir of plasmodium falciparum in Bongo District, Ghana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*(4), 1180–1189. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0119>
- Sáenz, F. E., Arévalo-Cortés, A., Valenzuela, G., Vallejo, A. F., Castellanos, A., Poveda-Loayza, A. C., ... Herrera, S. (2017). Malaria epidemiology in low-endemicity areas of

the northern coast of Ecuador: high prevalence of asymptomatic infections. *Malaria Journal*, 16(1), 300. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1947-0>

Salam, R. A., Das, J. K., Lassi, Z. S., & Bhutta, Z. A. (2014). Impact of community-based interventions for the prevention and control of malaria on intervention coverage and health outcomes for the prevention and control of malaria. *Infectious Diseases of Poverty*, 3(1), 25. <https://doi.org/10.1186/2049-9957-3-25>

Salas Botero, D. (2017). Informe De Evento Malaria, Colombia, 2017. Recuperado a partir de [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/MALARIA 2017.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/MALARIA%202017.pdf)

Serra-Casas, E., Manrique, P., Ding, X. C., Carrasco-Escobar, G., Alava, F., Gave, A., ... Gamboa, D. (2017). Loop-mediated isothermal DNA amplification for asymptomatic malaria detection in challenging field settings: Technical performance and pilot implementation in the Peruvian Amazon. *PLOS ONE*, 12(10), e0185742. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185742>

Singh, S. K., Hora, R., Belrhali, H., Chitnis, C. E., & Sharma, A. (2006). Structural basis for Duffy recognition by the malaria parasite Duffy-binding-like domain. *Nature*, 439(7077), 741–744. <https://doi.org/10.1038/nature04443>

Smolarek, D., Bertrand, O., Czerwinski, M., Colin, Y., Etchebest, C., & de Brevern, A. G. (2010). Multiples intérêts des modèles structuraux de la protéine transmembranaire Darc. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(3), 184–196. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2010.05.003>

Soleimani-Ahmadi, M., Vatandoost, H., Zare, M., Alizadeh, A., & Salehi, M. (2014). Community knowledge and practices regarding malaria and long-lasting insecticidal nets during malaria elimination programme in an endemic area in Iran. *Malaria Journal*, 13(1), 511. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-511>

Sousa, T., Sanchez, B., Cerávolo, I., Carvalho, L., & Brito, C. (2007). Blackwell Publishing Ltd Real-time multiplex allele-specific polymerase chain reaction for genotyping of the Duffy antigen, the Plasmodium vivax invasion receptor, 92, 373–380. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2007.00902.x>

Torres, J. C. (2016). *Determinación de Plasmodium spp. en comunidades del cantón San Lorenzo provincia de Esmeraldas y el cantón Tulcán provincia de Carchi, mediante PCR cuantitativa e identificación de la prevalencia y factores de riesgo*. Universidad de las Fuerzas Armadas.

- Tournamille, C., Colin, Y., Carton, J., & Le Van Kim, C. (1995). Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. *Nature Genetics*, 224–228. Recuperado a partir de <https://www.nature.com/articles/ng0695-224>
- Udagama, P. V., Atkinson, C. T., Peiris, J. S., David, P. H., Mendis, K. N., & Aikawa, M. (1988). Immunoelectron microscopy of Schüffner's dots in Plasmodium vivax-infected human erythrocytes. *The American journal of pathology*, 131(1), 48–52. Recuperado a partir de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1880566&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Valenzuela, G. (2018). *PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Genotypes and Phenotypes of Resistance in Ecuadorian*. Recuperado a partir de http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14684/2018-03-26-articulo_científico_G_Valenzuela.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Valizadeh, V., Zakeri, S., Mehrizi, A. A., & Djadid, N. D. (2014). Population genetics and natural selection in the gene encoding the Duffy binding protein II in Iranian Plasmodium vivax wild isolates. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 424–435. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.12.012>
- Vallejo, A., Rubiano, K., Amado, A., Krystosik, A., Herrera, S., & Arévalo-Herrera, M. (2016). Optimization of a Membrane Feeding Assay for Plasmodium vivax Infection in Anopheles albimanus. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(6), e0004807. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004807>
- Vallejo, Chaparro, P. E., Benavides, Y., Álvarez, Á., Quintero, J., Padilla, J., ... Herrera, S. (2015). High prevalence of sub-microscopic infections in Colombia. *Malaria Journal*, 14(1), 201. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0711-6>
- Van As, J., Cook, C. A., Netherlands, E. C., & Smit, N. J. (2016). A new lizard malaria parasite Plasmodium intabazwe n. sp. (Apicomplexa: Haemospororida: Plasmodiidae) in the Afrotropical Pseudocordylus melanotus (Sauria: Cordylidae) with a review of African saurian malaria parasites. *Parasites & Vectors*, 9(1), 437. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1702-3>
- VanBuskirk, K. M., Cole-Tobian, J. L., Baisor, M., Sevova, E. S., Bockarie, M., King, C. L., & Adams, J. H. (2004). Antigenic Drift in the Ligand Domain of Plasmodium vivax Duffy Binding Protein Confers Resistance to Inhibitory Antibodies. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(9), 1556–1562. <https://doi.org/10.1086/424852>

- Vásquez-Jiménez, J. M., Arévalo-Herrera, M., Henao-Giraldo, J., Molina-Gómez, K., Arce-Plata, M., Vallejo, A. F., & Herrera, S. (2016). Consistent prevalence of asymptomatic infections in malaria endemic populations in Colombia over time. *Malaria Journal*, 15(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1124-x>
- Vásquez, A. M., & Tobón, A. (2012). *Biomédica : revista del Instituto Nacional de Salud. Biomédica* (Vol. 32). Instituto Nacional de Salud. Recuperado a partir de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572012000500012
- Veloz, E. (2015). *Duffy blood group phenotypes/genotypes and their association with malaria prevalence in four communities of northwest Ecuador*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito - Ecuador.
- Wangdi, K., Gatton, M. L., Kelly, G. C., & Clements, A. C. A. (2015). *Cross-Border Malaria: A Major Obstacle for Malaria Elimination. Advances in Parasitology* (Vol. 89). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2015.04.002>
- Weiss, G. E., Gilson, P. R., Taechalertrpaisarn, T., Tham, W.-H., de Jong, N. W. M., Harvey, K. L., ... Crabb, B. S. (2015). Revealing the Sequence and Resulting Cellular Morphology of Receptor-Ligand Interactions during Plasmodium falciparum Invasion of Erythrocytes. *PLOS Pathogens*, 11(2), e1004670. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004670>
- World Health Organization. (2016a). Eliminating Malaria. Recuperado a partir de https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205565/WHO_HTM_GMP_2016.3_eng.pdf?sequence=1
- WHO. (2016b). WHO | Fact Sheet: World Malaria Report 2016. WHO. Recuperado a partir de <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2016/en/>
- WHO. (2016c). *World Malaria Report 2016*. World Health Organization. <https://doi.org/10.4135/9781452276151.n221>
- WHO. (2017). *World Malaria Report 2017*. World Health Organization. <https://doi.org/10.1071/EC12504>
- WHO. (2018). OMS | Preparados para vencer al paludismo: Día Mundial del Paludismo 2018. WHO. Recuperado a partir de <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-day-2018/es/>

- Wirth, D. F., & Alonso, P. L. (2017). *Malaria: Biology in the Era of Eradication*.
- Woldearegai, T. G., Kremsner, P. G., Kun, J., & Mordmüller, B. (2013). Plasmodium vivax malaria in duffy-negative individuals from Ethiopia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 107(5), 328–331. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trt016>
- World Malaria Report. (2017). Mauritania, 2015. Recuperado de <http://fundacionio.org/viajar/paises/africa/mauritania%20malaria.html>
- World Malaria Report. (2018). Ethiopia African Region Use of Larval Control. Recuperado de <http://fundacionio.org/viajar/paises/africa/etiopia%20malaria.html>
- Wurtz, N., Mint Lekweiry, K., Bogreau, H., Pradines, B., Rogier, C., Ould Mohamed Salem Boukhary, A., ... Briolant, S. (2011). Vivax malaria in Mauritania includes infection of a Duffy-negative individual. *Malaria Journal*, 10, 336. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-336>
- Yimer, F., Animut, A., Erko, B., & Mamo, H. (2015). Past five-year trend, current prevalence and household knowledge, attitude and practice of malaria in Abeshge, south-central Ethiopia. *Malaria Journal*, 14(1), 230. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0749-5>
- Zhao, Y., Zeng, J., Zhao, Y., Liu, Q., He, Y., Zhang, J., ... Cao, Y. (2018). Risk factors for asymptomatic malaria infections from seasonal cross-sectional surveys along the China–Myanmar border. *Malaria Journal*, 17(1), 247. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2398-y>
- Zimmerman, Ferreira, M. U., Howes, R. E., & Mercereau-Puijalon, O. (2013). *Red Blood Cell Polymorphism and Susceptibility to Plasmodium vivax*. *Advances in Parasitology* (Vol. 81). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407826-0.00002-3>
- Zimmerman, P. A., Woolley, I., Masinde, G. L., Miller, S. M., McNamara, D. T., Hazlett, F., ... Kazura, J. W. (1999). Emergence of FY*A(null) in a Plasmodium vivax-endemic region of Papua New Guinea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(24), 13973–7. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10570183>

9. FIGURAS

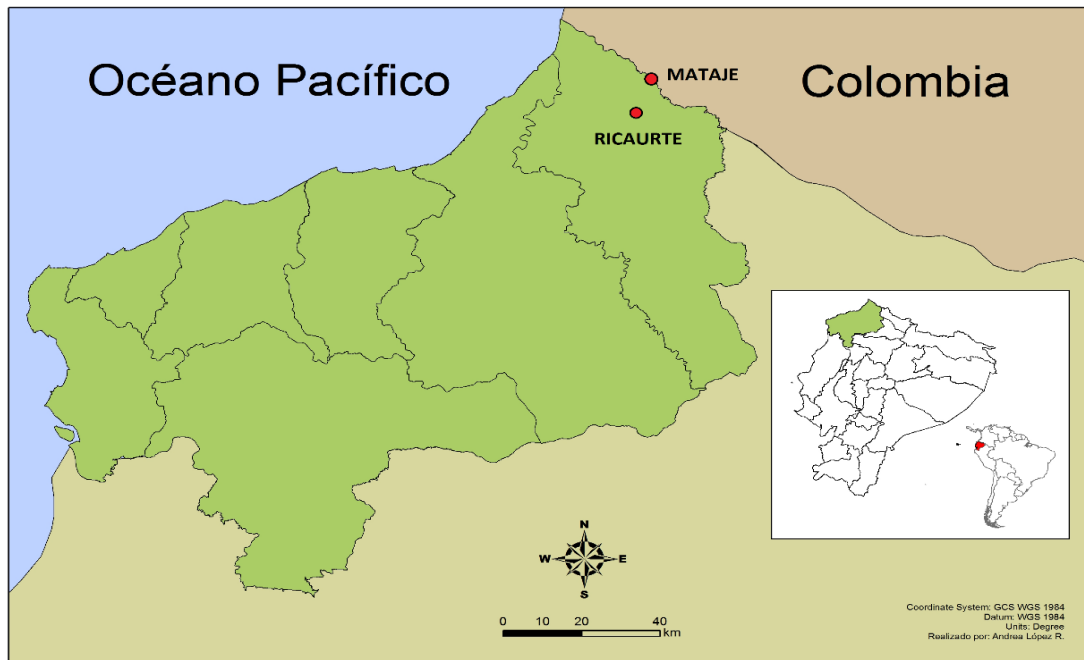


Figura 1. Ubicación geográfica de las comunidades de estudio. Localización de las comunidades Mataje (n=87) y Ricaurte (n=50) estudiadas en este trabajo.

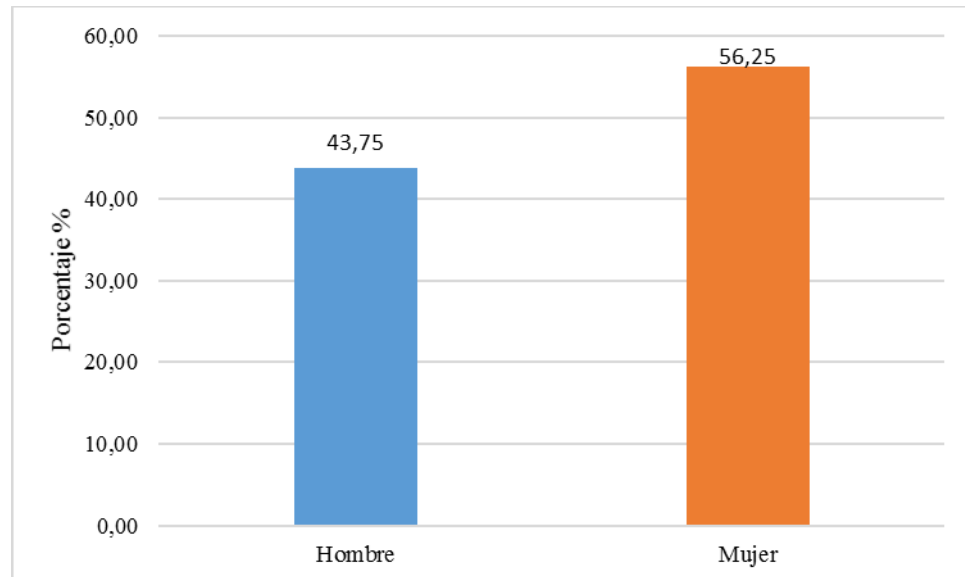


Figura 2. Género de la población. El género femenino fue el más representado en el estudio

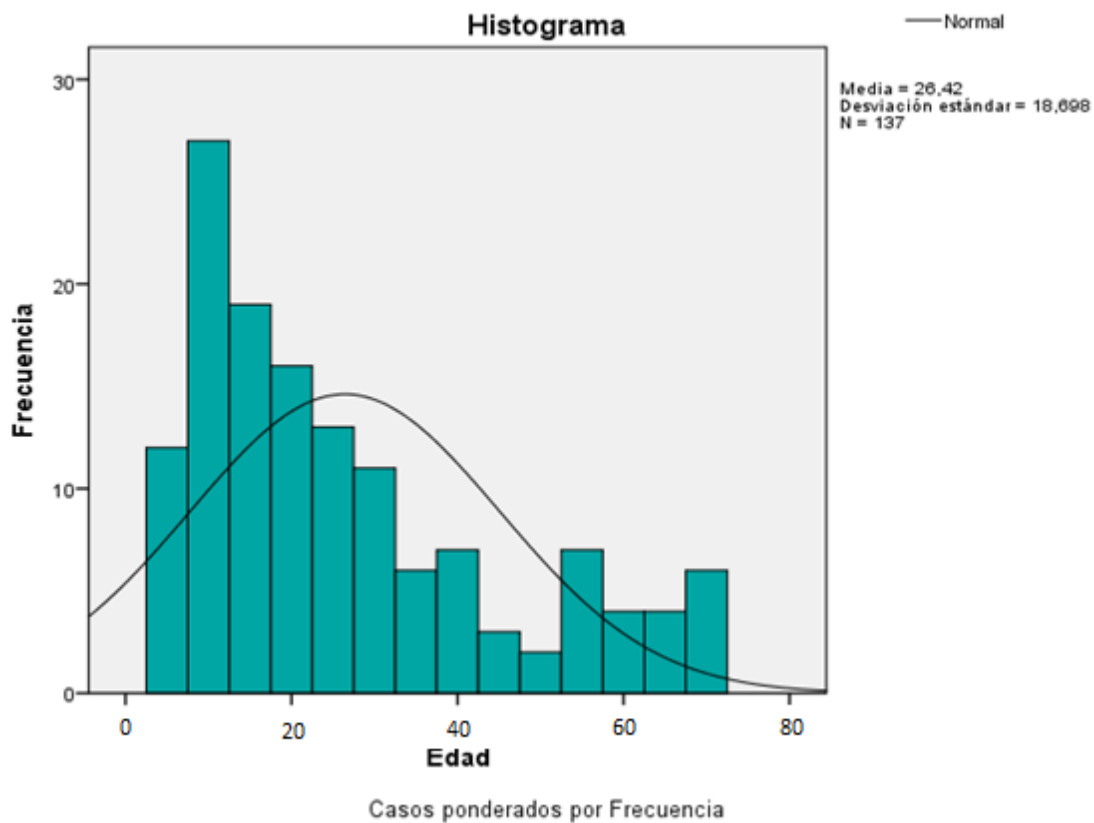


Figura 3. Frecuencia de edades de los participantes. Se puede observar que existe una mayor proporción de personas entre 10 y 30 años. La media poblacional fue 26 años.

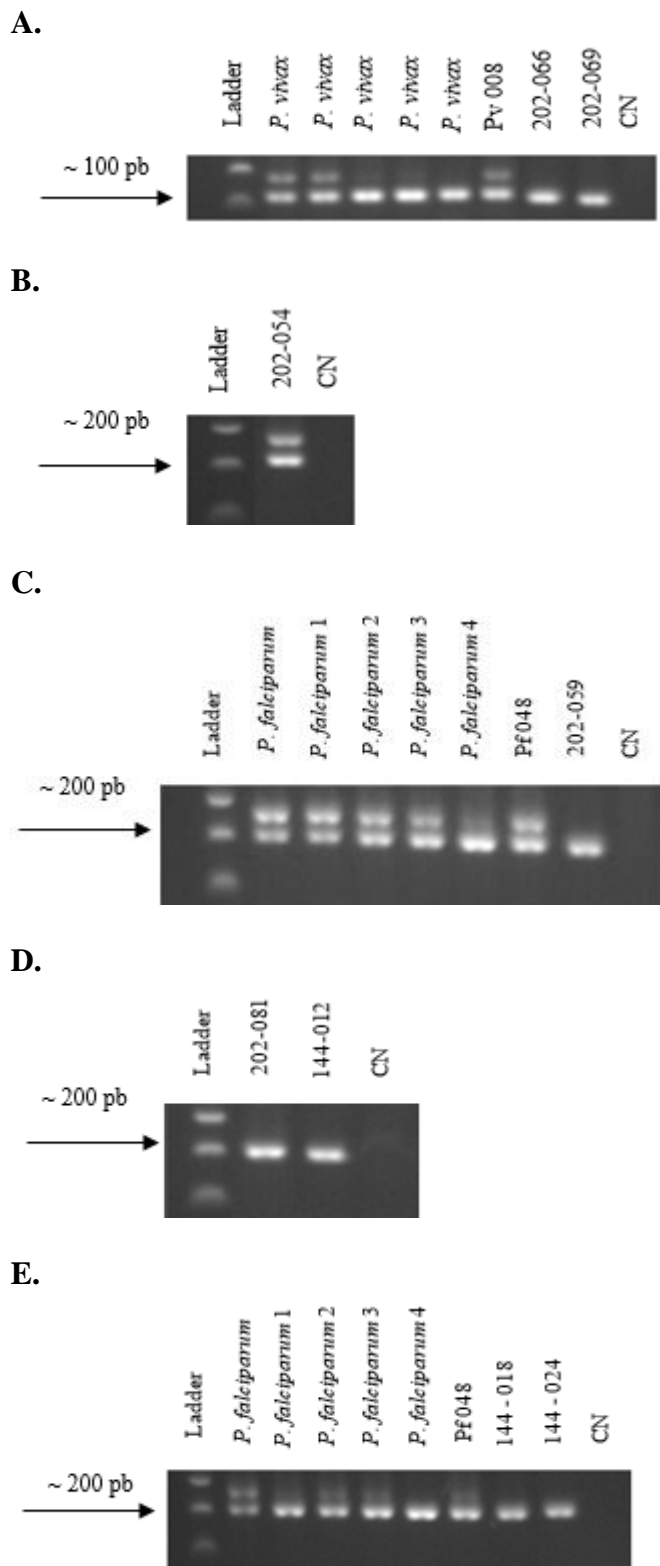


Figura 4. PCR anidada de muestras de las comunidades Mataje y Ricaurte. Se observa la amplificación tanto de *P. vivax* y *P. falciparum* de las 137 muestras analizadas de las comunidades de Mataje y Ricaurte. *P. vivax* presenta una banda de 100 pb y *P. falciparum* una banda de 200 pb. **A.** Las muestras positivas fueron 066-069 de Mataje. **B.** La muestra positiva fue 054 de Mataje. **C.** Las muestras positivas fueron 059 de Mataje. **D.** La muestra positiva fue 081 de Mataje y 012 de Ricaurte. **E.** Las muestras positivas fueron 018 y 024 de Ricaurte.

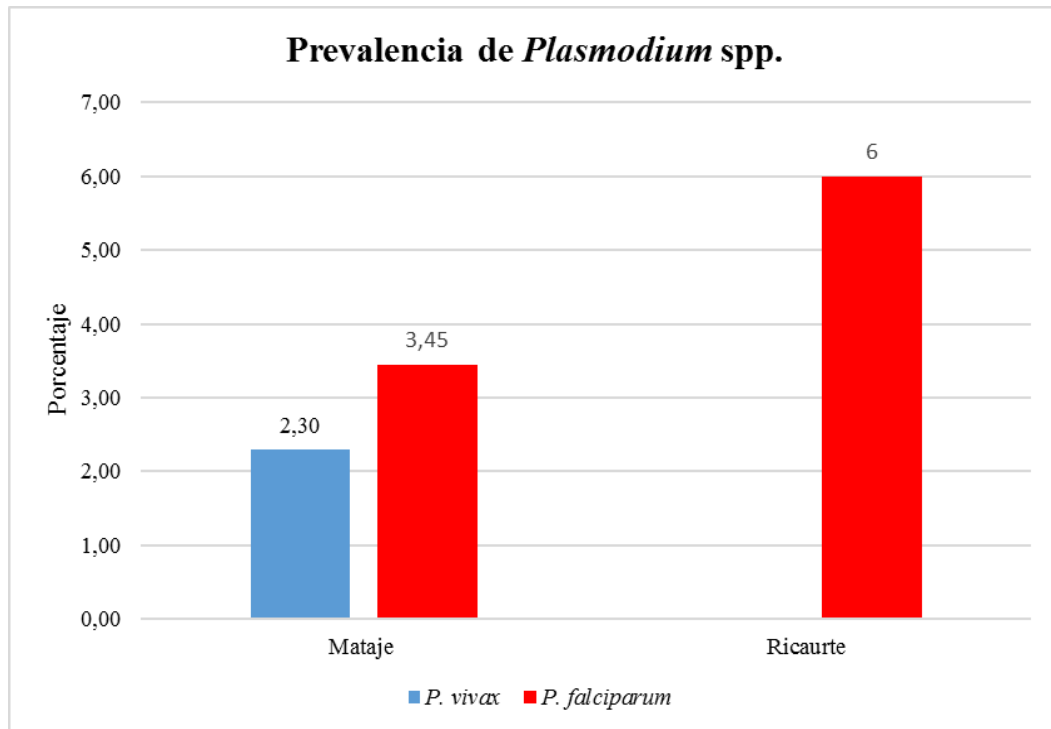


Figura 5. Prevalencia de *P. vivax* y *P. falciparum* en las comunidades de Mataje y Ricaurte. *P. falciparum* fue la especie más prevalente en ambas comunidades mediante PCR anidada.

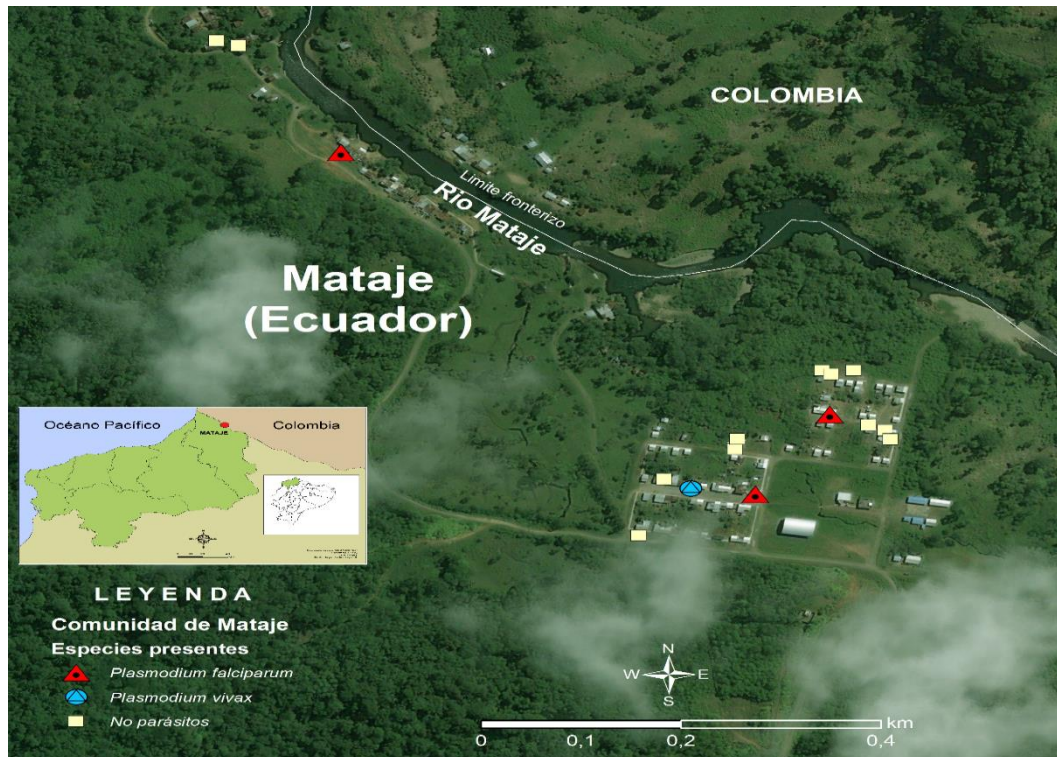


Figura 6. Ubicación geográfica de las casas encuestadas de Mataje. Localización de los casos positivos de *P. falciparum* y *P. vivax* (mapa: Yumiseva, 2017).



Figura 7. Ubicación geográfica de las casas encuestadas de Ricaurte. Localización de los casos positivos de *P. falciparum* (mapa: Yumiseva, 2017).

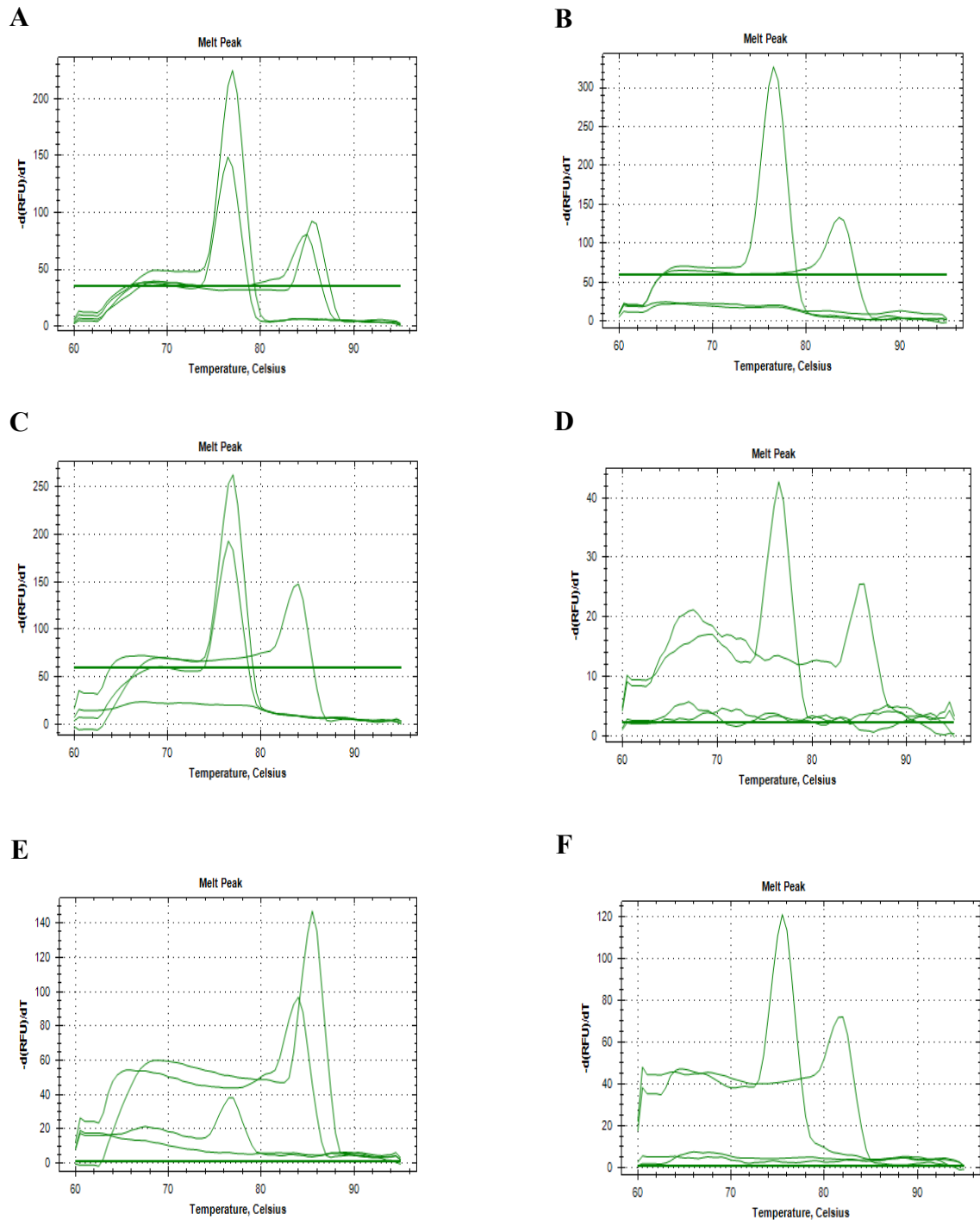


Figura 8. Curvas de genotipos del grupo sanguíneo Duffy. Curvas de qPCR para determinar el genotipo de los polimorfismos Duffy: A) Genotipo FyA FyB^{es}; B) Genotipo FyA FyA; C) Genotipo FyA FyB; D) Genotipo FyB^{es} FyB^{es} (Duffy Negativo); E) Genotipo FyB FyB^{es} y F) Genotipo FyB FyB.

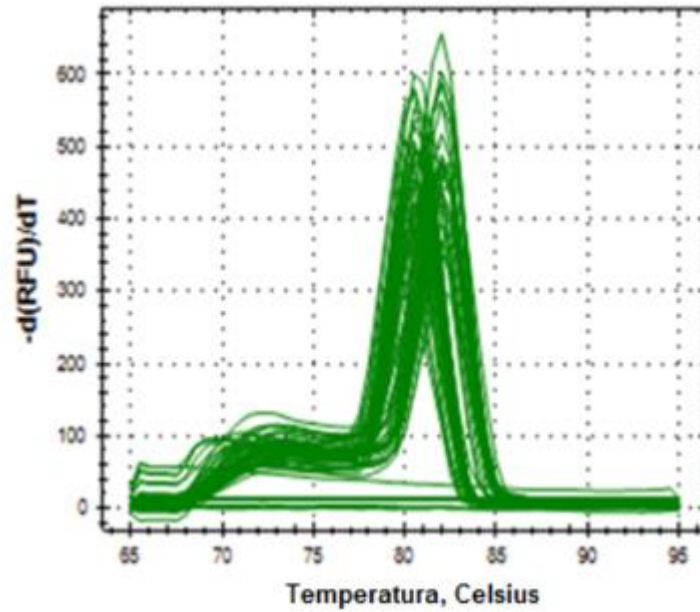


Figura 9. Curva de la determinación de número de copias de *Pvdhp* en PCR en tiempo real. Se observa la amplificación del gen *Pvdhp* de *P. vivax* de las muestras sanguíneas de la Amazonia y Costa. Se observa que todas las muestras presentaron una misma curva.

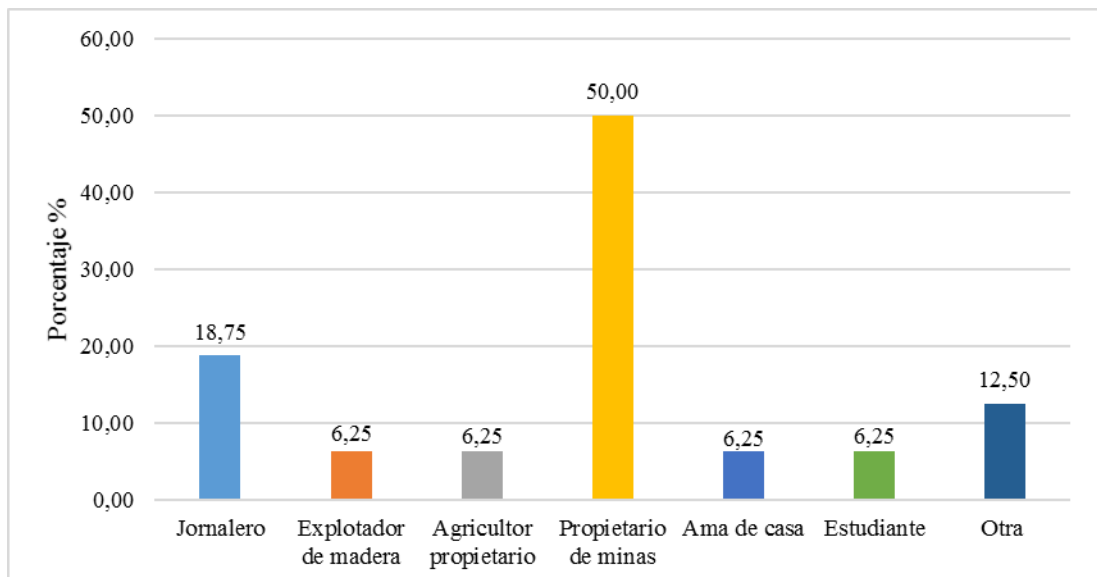


Figura 10. Ocupación de los encuestados en la comunidad de estudio. Se observa que ser propietario de minas fue la ocupación más común seguida por la de jornalero.

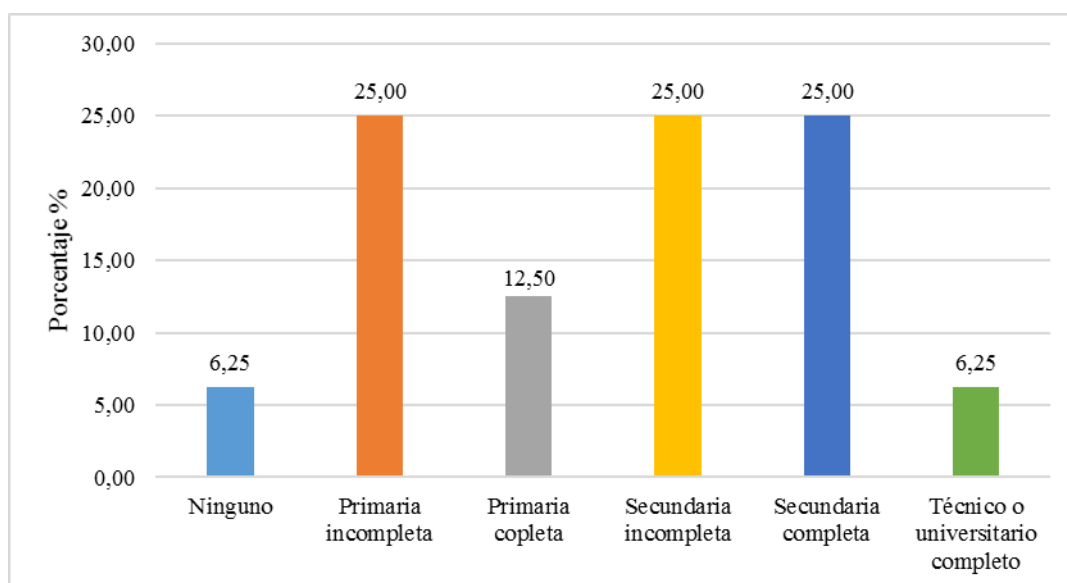


Figura 11. Grado de escolaridad. Se puede observar que en la comunidad de Mataje predominaron los grados de escolaridad primaria incompleta, secundaria incompleta y secundaria completa.

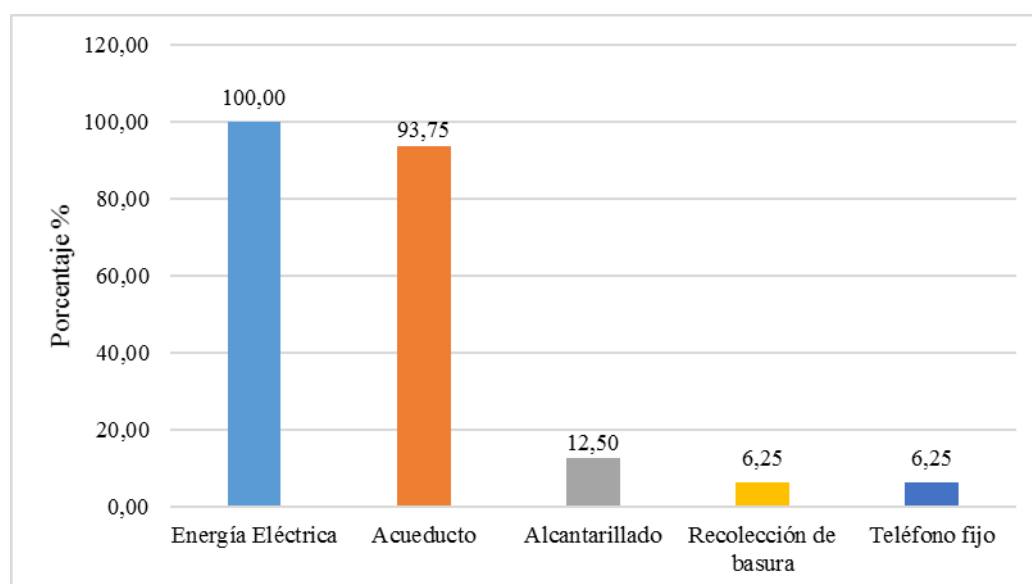


Figura 12. Servicios públicos de las viviendas de la comunidad. Se puede observar que la mayoría de la comunidad de Mataje contaba con cobertura en el servicio de luz eléctrica y acueducto.

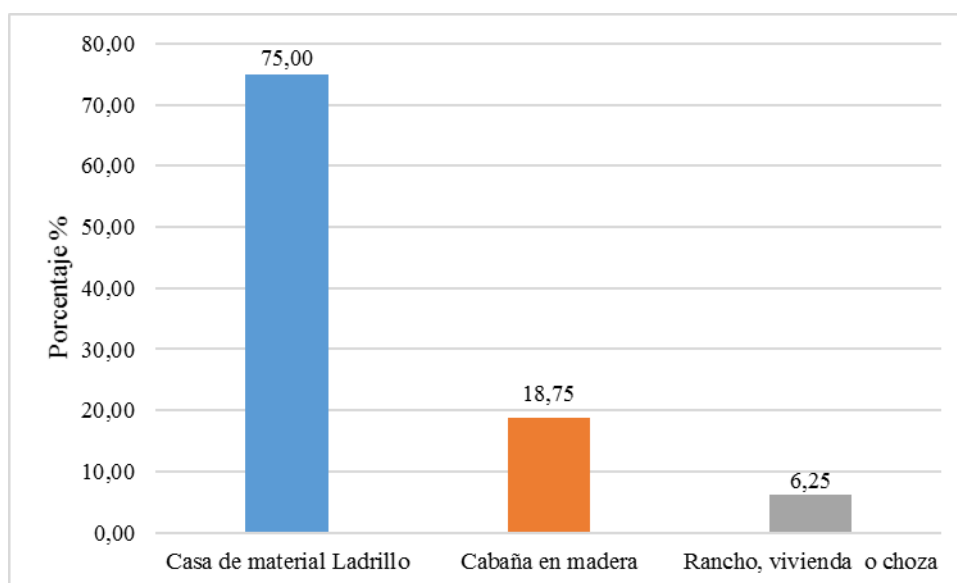


Figura 13. Tipo de vivienda en la que residen los encuestados. Se puede observar que en la comunidad predominaron las viviendas de ladrillo.

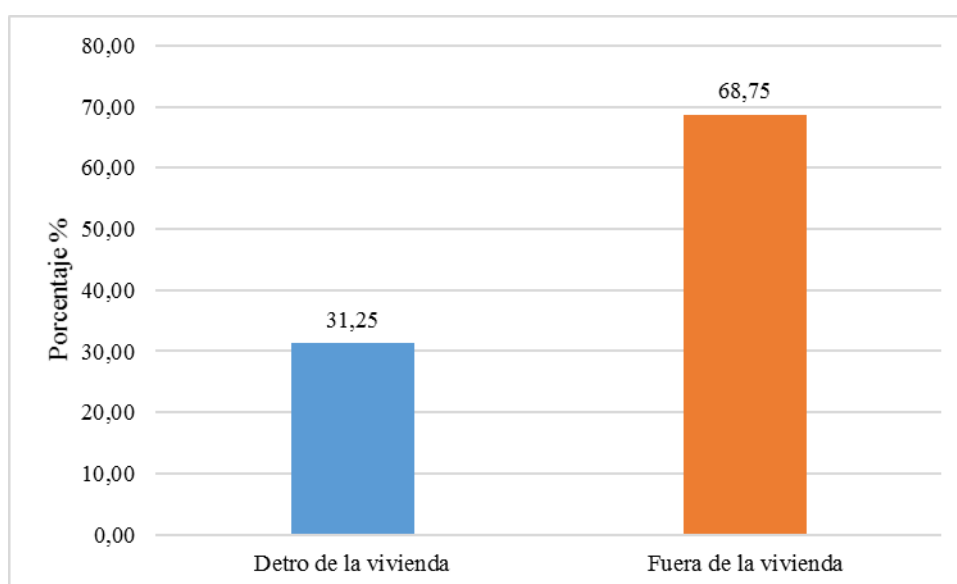


Figura 14. Ubicación del servicio sanitario por los encuestados. La mayoría de la población contaba con un servicio sanitario fuera de la vivienda.

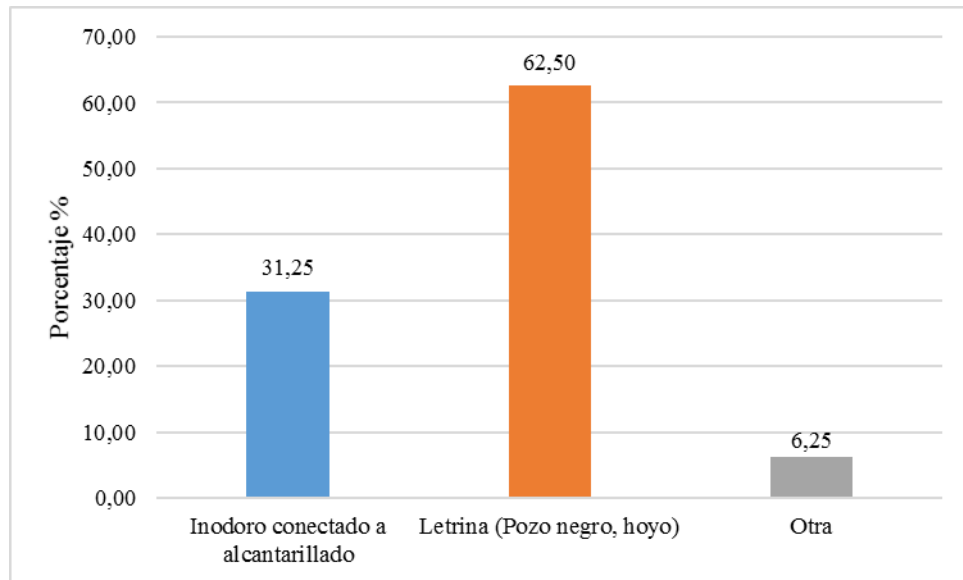


Figura 15. Tipo de servicio sanitario en las viviendas. Se pudo observar que la comunidad de Mataje presentó principalmente letrina como servicio sanitario.

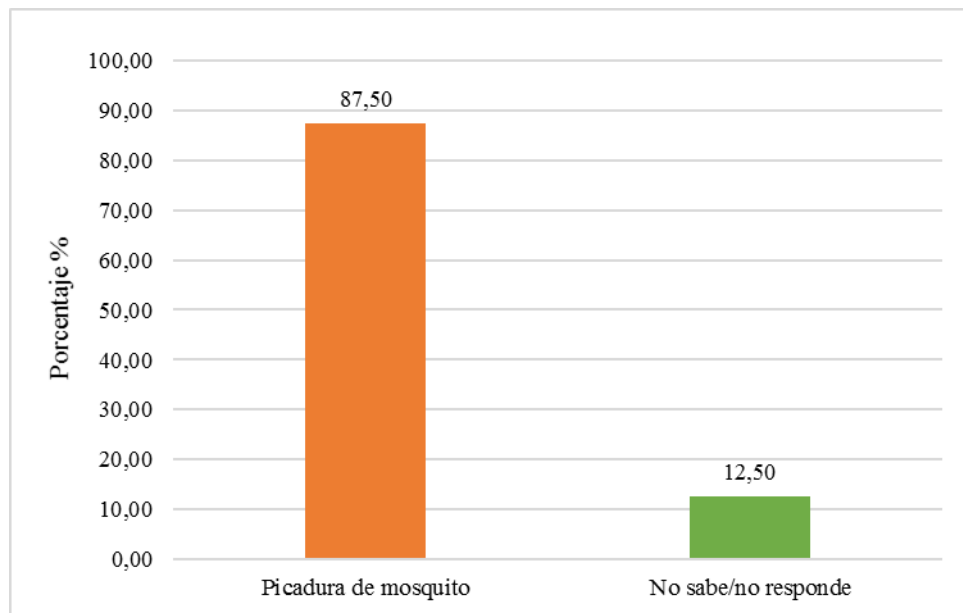


Figura 16. Conocimiento de cómo se transmite la malaria. La mayoría de la población de la comunidad de Mataje conocía la forma de transmisión de la malaria.

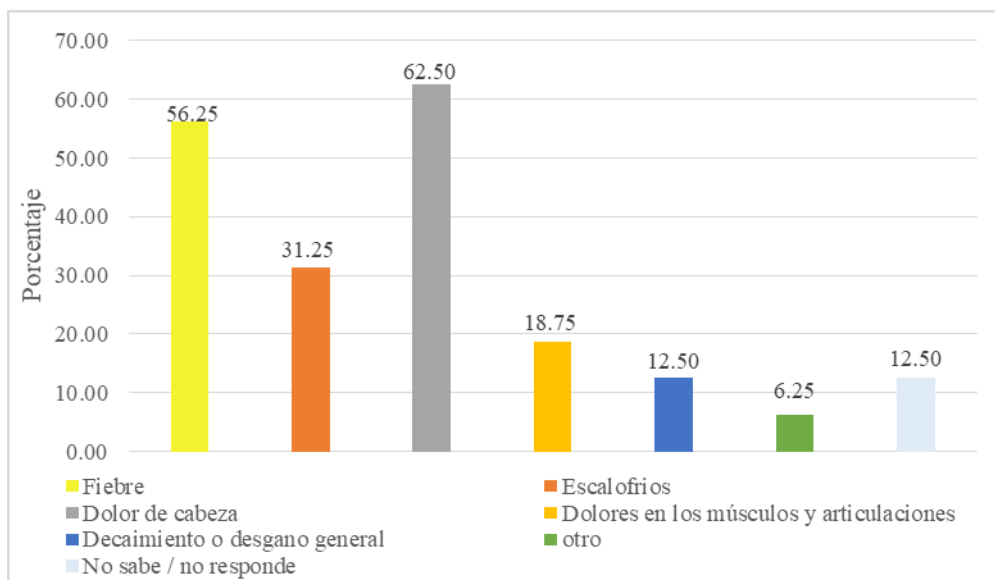


Figura 17. Conocimiento de los síntomas de la malaria. La mayoría de la población respondió que los principales síntomas de la malaria fueron: dolor de cabeza, fiebre y escalofríos.

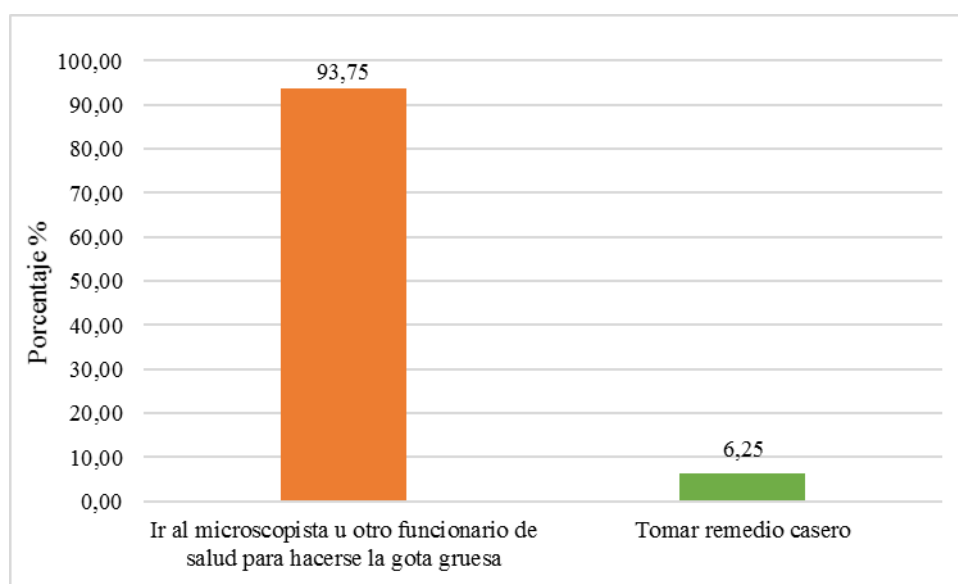


Figura 18. Conocimiento sobre qué es lo primero que se debe hacer al presentar síntomas de malaria. En mayor porcentaje la población respondió ir al microscopista u otro funcionario de salud para hacerse la gota gruesa.

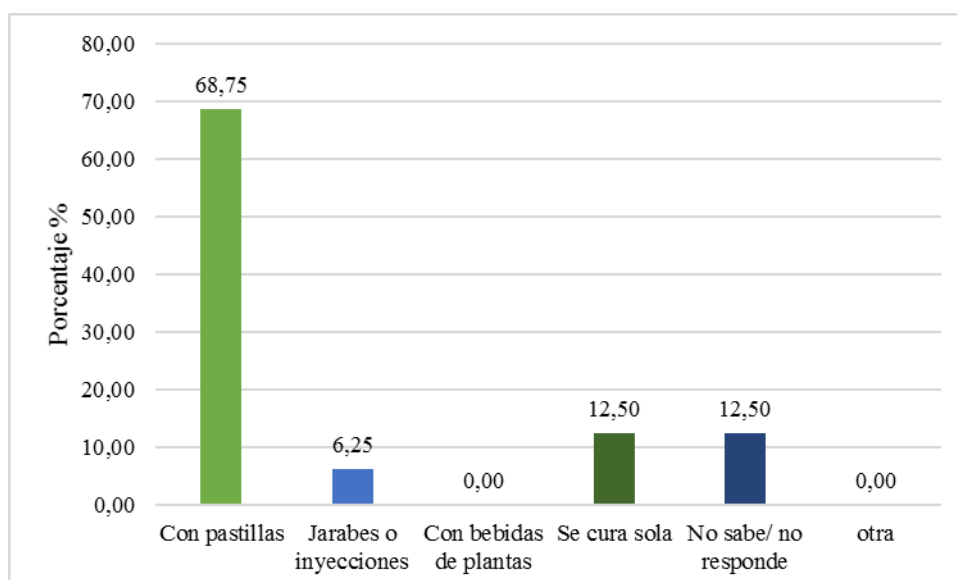


Figura 19. Conocimiento del tratamiento de la malaria. En la comunidad de Mataje 68,75% respondió que se cura con pastillas la enfermedad.

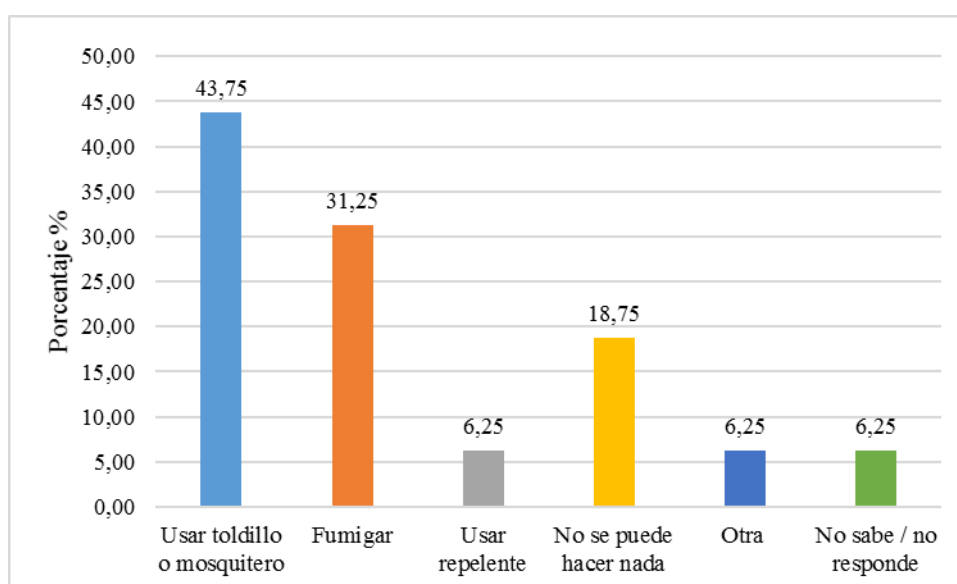


Figura 20. Conocimiento sobre lo que se debe hacer, dentro de la vivienda, para evitar la malaria. En la comunidad de Mataje el 43,75 % de la población utilizaban toldillo o mosquitero para evitar la malaria dentro de la vivienda.

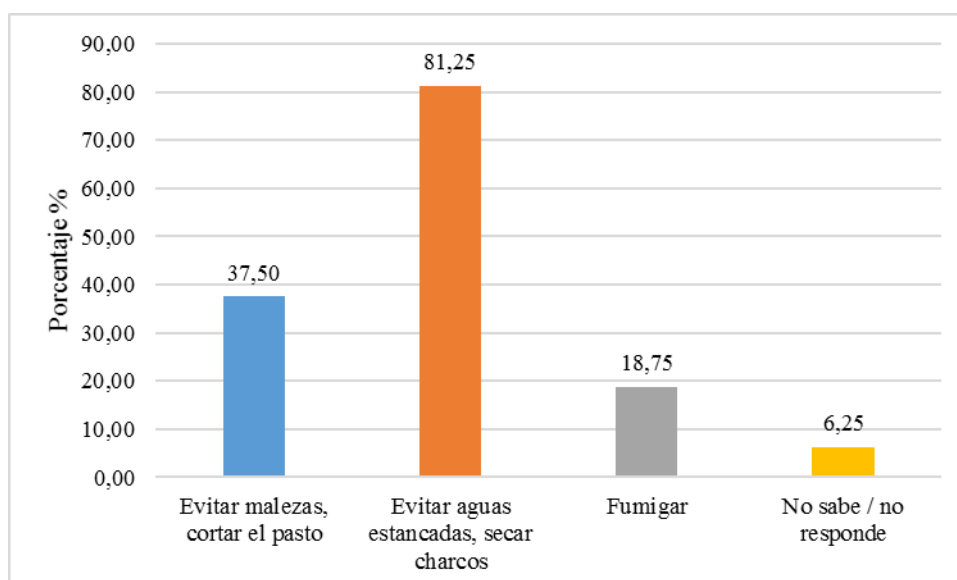


Figura 21. Conocimiento sobre lo que se debe hacer, fuera de la vivienda, para evitar la malaria. En Mataje el 81,25 % evitaba aguas estancadas y secaba los charcos para evitar la malaria fuera de su hogar.

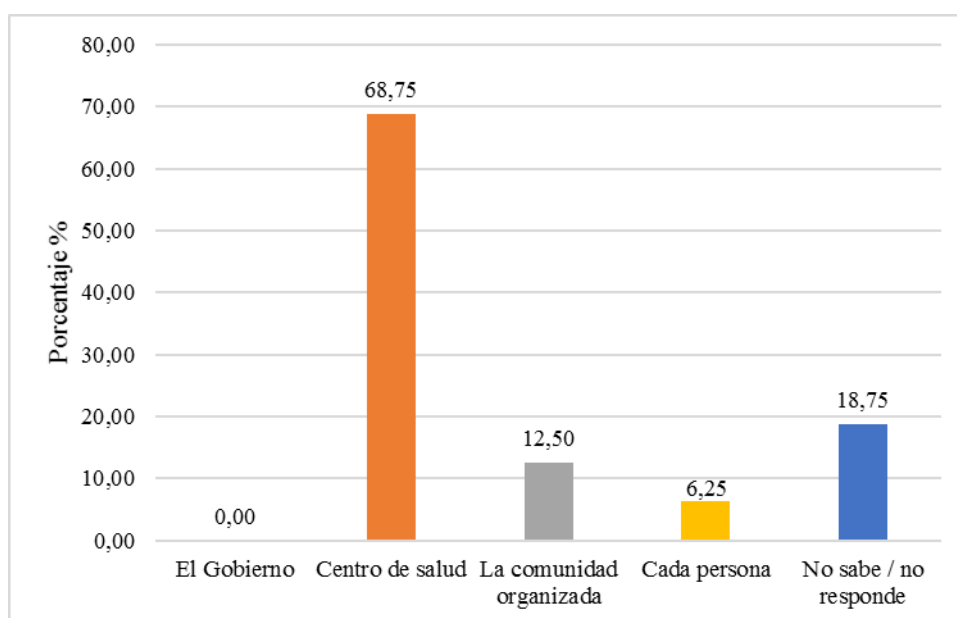


Figura 22. Conocimiento sobre quién es responsable de controlar la malaria. Existe un 68,75% de personas que indicaban que el centro de salud es responsable para el control de la enfermedad.

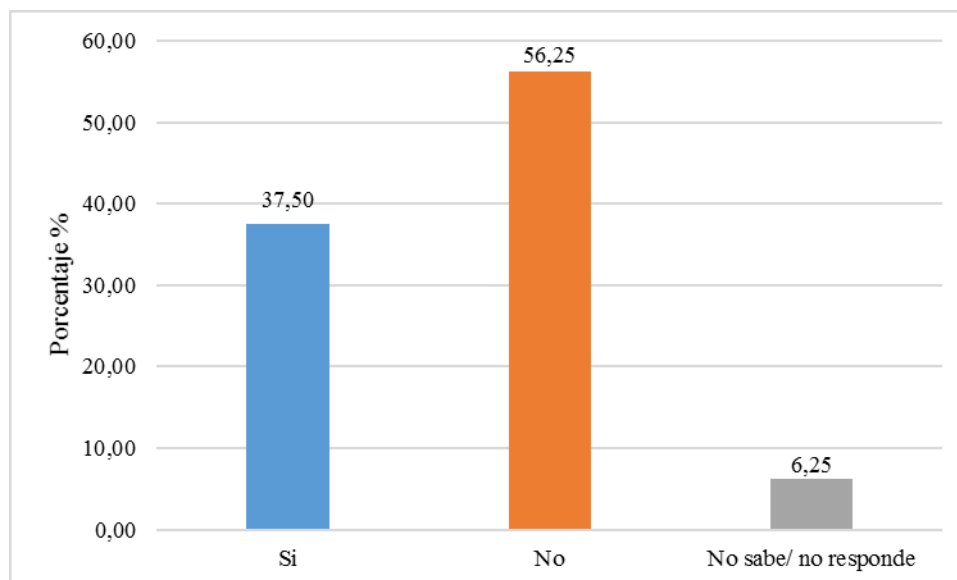


Figura 23. Actitud respecto a si enfermarse de malaria es algo común. La población de la comunidad de Mataje respondió en un 56,25% que no es normal enfermarse de malaria.

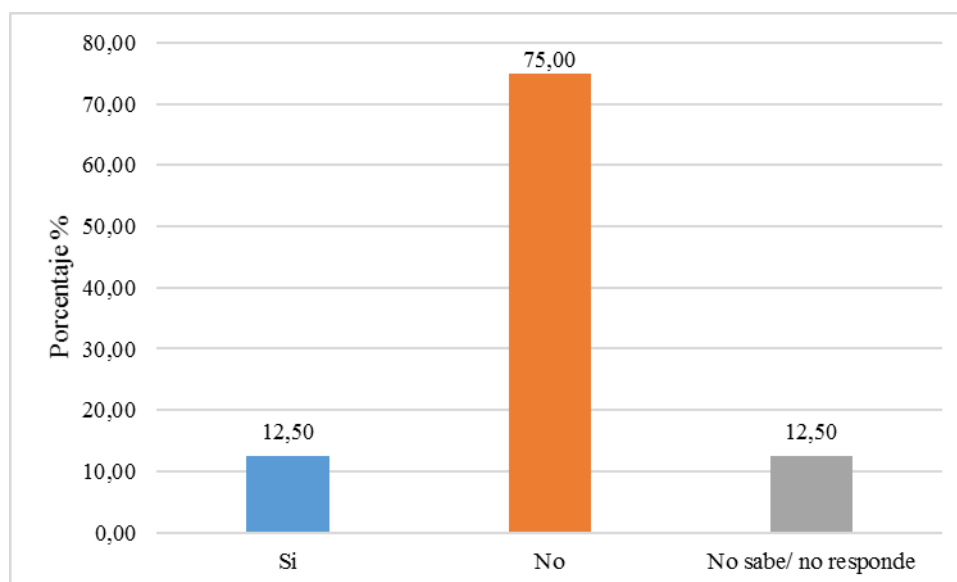


Figura 24. Actitud respecto si la malaria es una enfermedad que se transmite de una persona enferma a una sana. La comunidad de Mataje presentó 75% de personas que respondieron que no se trasmite la enfermedad de una persona enferma a una sana, 12,5% dijeron que si trasmite la enfermedad de una persona enferma a una sana y un 12,5% no conoce si una persona enferma puede transmitir la enfermedad a una persona sana.

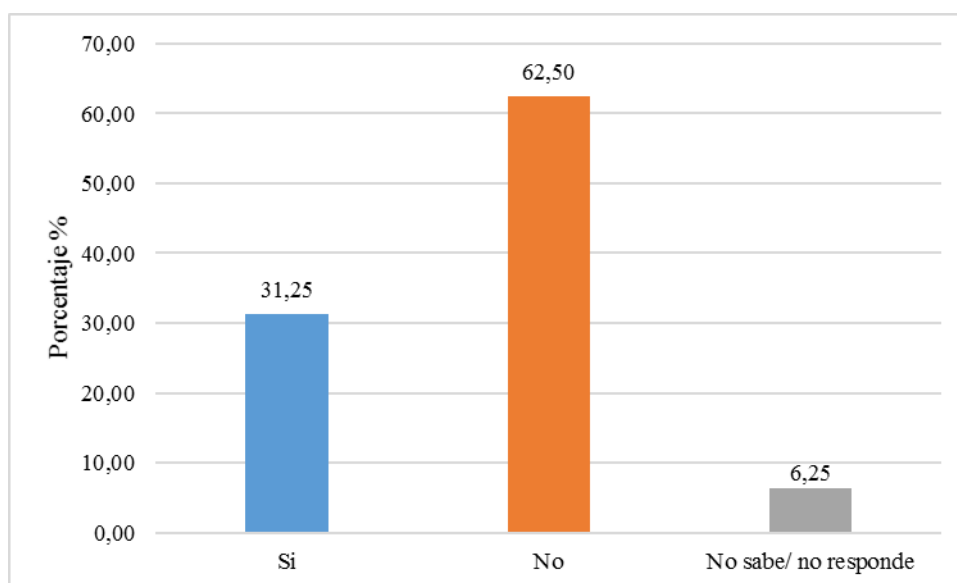


Figura 25. Actitud respecto si utilizar toldillo les parece molesto. Se pudo observar que a la mayoría de la comunidad no les pareció molesto utilizar toldillo o mosquitero.

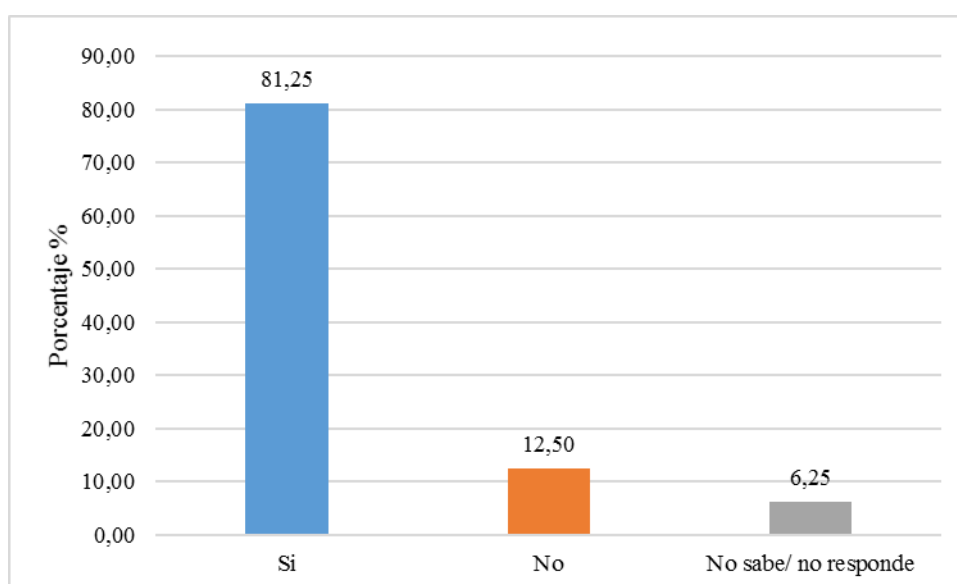


Figura 26. Actitud respecto si hacerse tomar la gota gruesa es necesario para saber si tiene malaria. La mayoría de la comunidad respondió que sí es necesaria la realización de la gota gruesa para el diagnóstico de la malaria (81.25%).

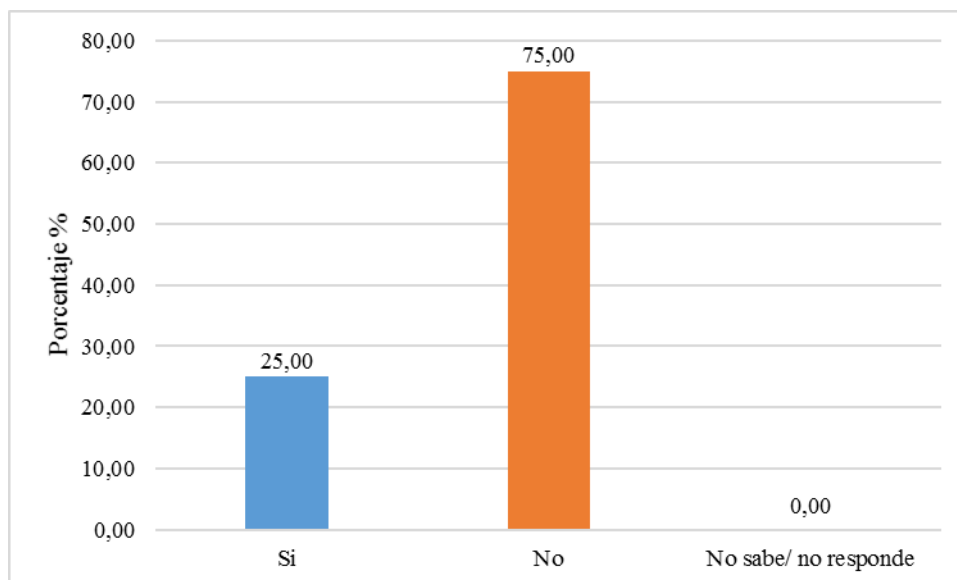


Figura 27. Actitudes respecto a comprar pastillas sin prescripción médica para aliviarse de la malaria. Se pudo observar que el mayor porcentaje de los encuestados respondieron no haber comprado medicamentos sin prescripción médica.

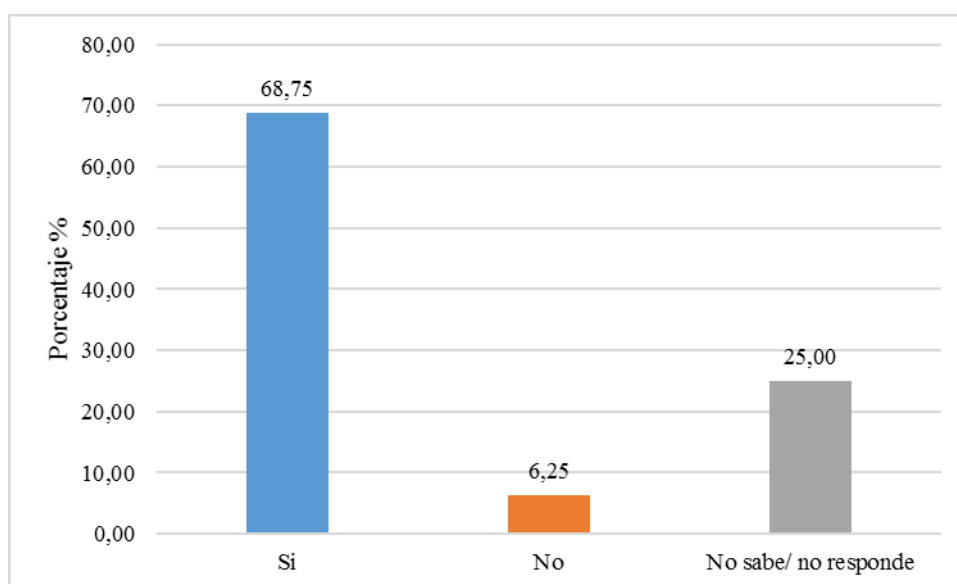


Figura 28. Actitud respecto si la malaria puede dar más de una vez. Se pudo observar que la mayoría de la población respondió que la malaria se puede contraer más de una vez.

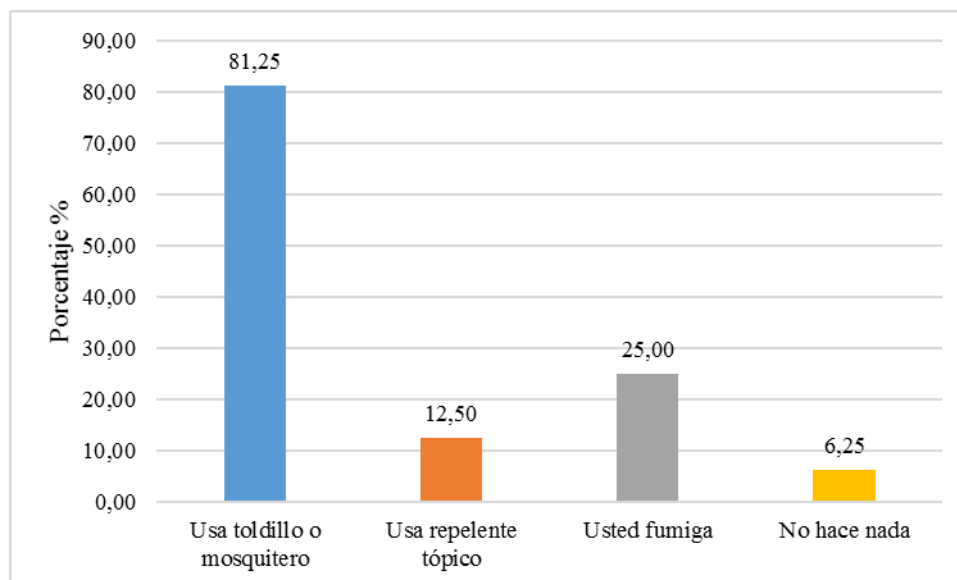


Figura 29. Actividades realizadas dentro de la vivienda para evitar la malaria. Se pudo observar que las respuestas más predominantes en la comunidad fueron: Utilización de toldillo o mosquitero y la fumigación.

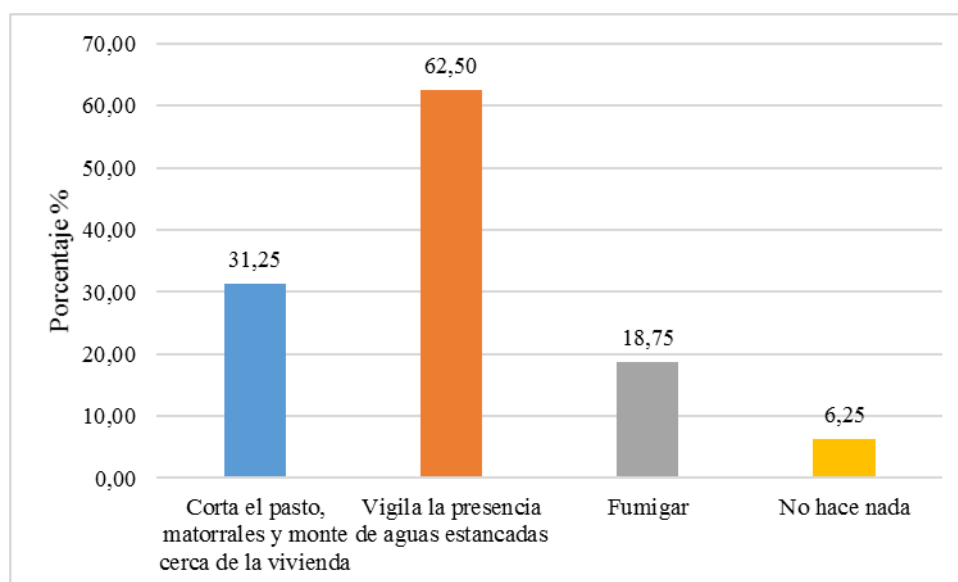


Figura 30. Actividades realizadas fuera de la vivienda para prevenir la malaria. Se pudo observar que las respuestas que predominaron fueron: vigilar la presencia de aguas estancadas y cortar el pasto, matorrales y monte cerca de la vivienda.

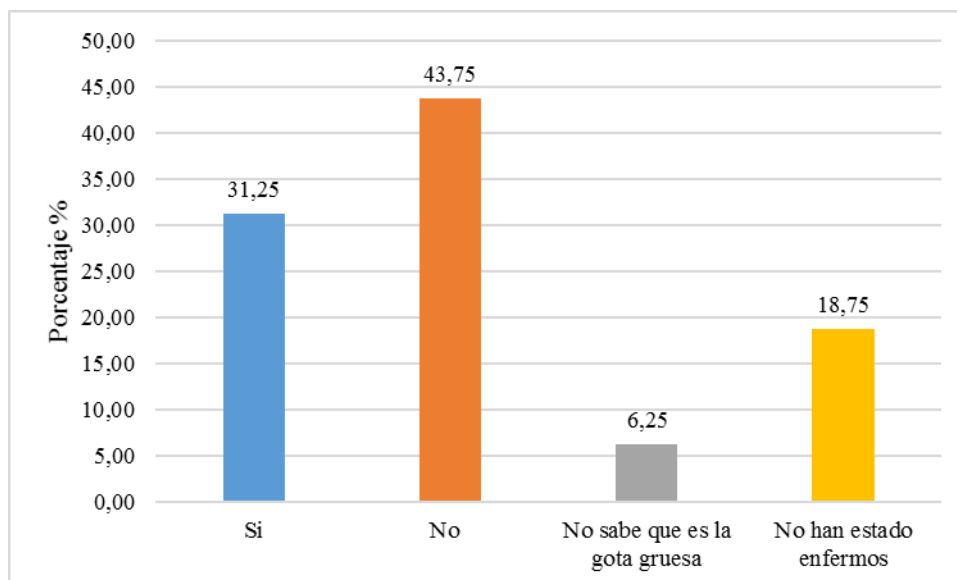


Figura 31. Prácticas respecto a si la última vez que los encuestados o un miembro de su hogar tuvieron malaria se hicieron tomar la gota gruesa. Se observó que la respuesta que predominó es que no se hacen tomar la gota gruesa.

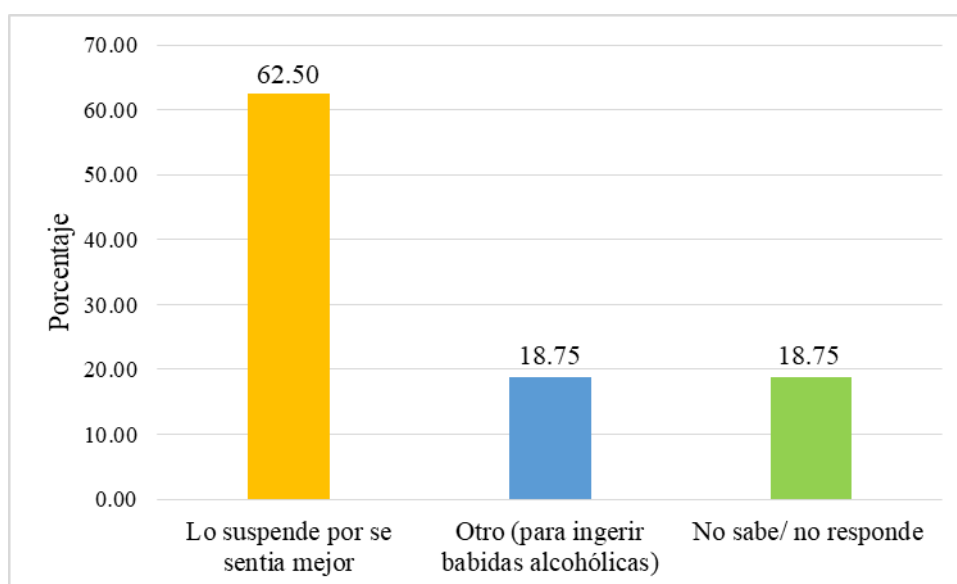


Figura 32. Prácticas sobre el motivo por que no terminan el tratamiento contra la malaria. Se observó que la respuesta que predominó fue porque se sentían mejor, seguido por otro (para ingerir bebidas alcohólicas).

10.TABLAS

Tabla 1. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación del genotipo del grupo sanguíneo Duffy.

Cebadores	Secuencia (5'-3')
FGATA	CCC GGG CCC GCCG CCC TCA TTA GTC CTT GGC TCT TTC
RABGATA	A GGG GCA TAG GGA TAA GGG ACT
FAB	CCC TCA TTA GTC CTT GGC TCT TTT
FY	C TCA AGT CAG CTG GAC TTC GAA GAT
RYA	AG CTG CTT CCA GGT TGG CTC
RYB	CTG CTT CCA GGT TGG CGT

Tabla 2. Secuencias de cebadores y sondas utilizados para la determinación de parasitemia mediante PCR en tiempo real.

Cebadores/ Sonda		Secuencia (5'-3')
Sonda (<i>P. vivax</i>)	Vivprobe	5HEX/ ACA ATG ATA/ ZEN/ ACA TCC ATC GCA ACA GGA/ 3IABkFQ
Sonda Falciprobe (<i>P. falciparum</i>)		56-FAM/ AAG TCC ATC/ ZEN/ CAG TTC CAC CAC/ 3IABkFQ
PfCoxIF1 (<i>P. falciparum</i>)		CAA CCA ATT GCT TTT GTT TTA G
PfCoxIR1 (<i>P. falciparum</i>)		ACA GGA GAT AAT GAC ATT AAA GA
PfCoxIF2 (<i>P. vivax</i>)		GAG CAG AAT TTG GAG GAG
PfCoxIR2 (<i>P. vivax</i>)		CTA GCA ATA CCA GAT ACT AAA AG

Tabla 3. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación de la parasitemia mediante PCR anidada.

Cebadores	Secuencia (5'-3')
PLU5	CCT GTT GCC TTA AAC TTC
PLU6	TTA AAA TTG TTG CAG TTA AAA CG
FAL1	TTA AAC TGG TTT GGG AAA ACC AAA TAT ATT
FAL2	ACA CAA TGA ACT CAA TCA TGA CTA CCC GTC
VIV1	CGC TTC TAG CTT AAT CCA CAT AAC TGA TCA
VIV2	ACT TCC AAG CCG AAG CAA AGA AAG TCC TTA

Tabla 4. Secuencias de cebadores utilizados para la determinación del número de copias del gen *Pvdbp* de *P. vivax*.

Cebadores	Secuencia (5'-3')
Regiones I y II de <i>Pvdbp</i> (forward)	AGGTGGCTTTTGAGAATGAA
Regiones I y II de <i>Pvdbp</i> (reverse)	GAATCTCCTGGAACCTTCTC
Gen de referencia <i>Aldolasa</i> (forward)	GACAGTGCCACCATCCTTACC
Gen de referencia <i>Aldolasa</i> (reverse)	CCTTCTCAACATTCTCCTTCTTCC

Tabla 5. Variables del estudio.

VARIABLES	INDICADORES
Identificación de <i>Plasmodium spp.</i>	Presencia o ausencia de <i>P. falciparum</i> y <i>P. vivax</i> .
Parasitemia de <i>Plasmodium spp.</i>	Porcentaje de <i>P. falciparum</i> y <i>P. vivax</i> presente en las muestras sanguíneas positivas.
Conocimientos	¿Cuánto conoce la población sobre el paludismo?
Actitudes	¿Qué actitud tiene la población respecto aludismo?
Prácticas	¿Qué prácticas realiza la población con respecto al paludismo?
Socio-demográficas	¿En qué condición vive la población de estudio?
gen <i>Pvdbp</i>	Número de copias del gen <i>Pvdbp</i> de <i>P. vivax</i> .
Grupo sanguíneo Duffy	Porcentaje de Duffy positivos y Duffy negativos de la población de estudio.

Tabla 6. Expresión de los alelos FyA y FyB en la determinación del fenotipo del grupo sanguíneo Duffy.

Fenotipo	N° de pacientes	Porcentaje de pacientes
FyA – FyB (+ +)	15	36.58%
FyA – FyB (+ -)	7	17.07%
FyA – FyB (- +)	8	19.51%
FyA – FyB (- -)	11	26.82%

Tabla 7. Fenotipo y genotipo del grupo sanguíneo Duffy de las comunidades de Mataje y Ricaurte.

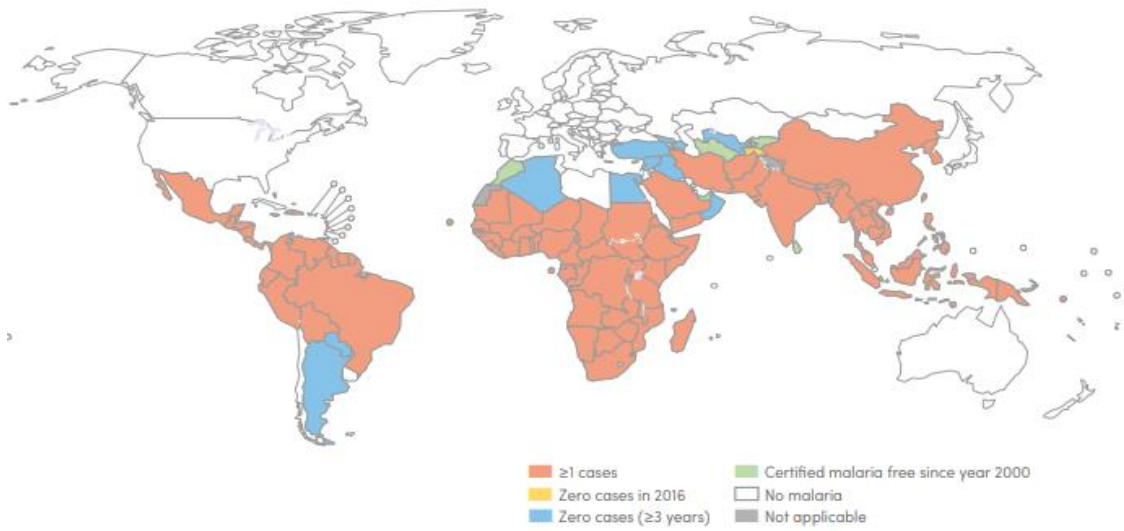
Fenotipo		Genotipo		n	%
	Fy (a+b-)	Fya Fya	9	(6,56)	
		Fya Fyb^{es}	64	(46,71)	
Duffy positivo n= 105 (76,64 %)	Fy (a-b+)	Fyb Fyb	7	(5,10)	
		Fyb Fyb^{es}	6	(4,37)	
	Fy (a+b+)	Fya Fyb	19	(13,86)	
Duffy negativo n= 32 (23,35 %)	Fy (a-b-)	Fyb^{es} Fyb^{es}	32	(23,35)	

Tabla 8. Porcentaje del genotipo del grupo sanguíneo Duffy de las comunidades de Mataje y Ricaurte.

Genotipo	Mataje	Ricaurte
Fya Fyb^{es}	51.72%	38%
Fyb^{es} Fyb^{es}	28,40%	14%
Fya Fyb	7,95%	24%
Fyb Fyb^{es}	5,68%	2%
Fya Fya	3,40%	12%
Fyb Fyb	2.27%	10%

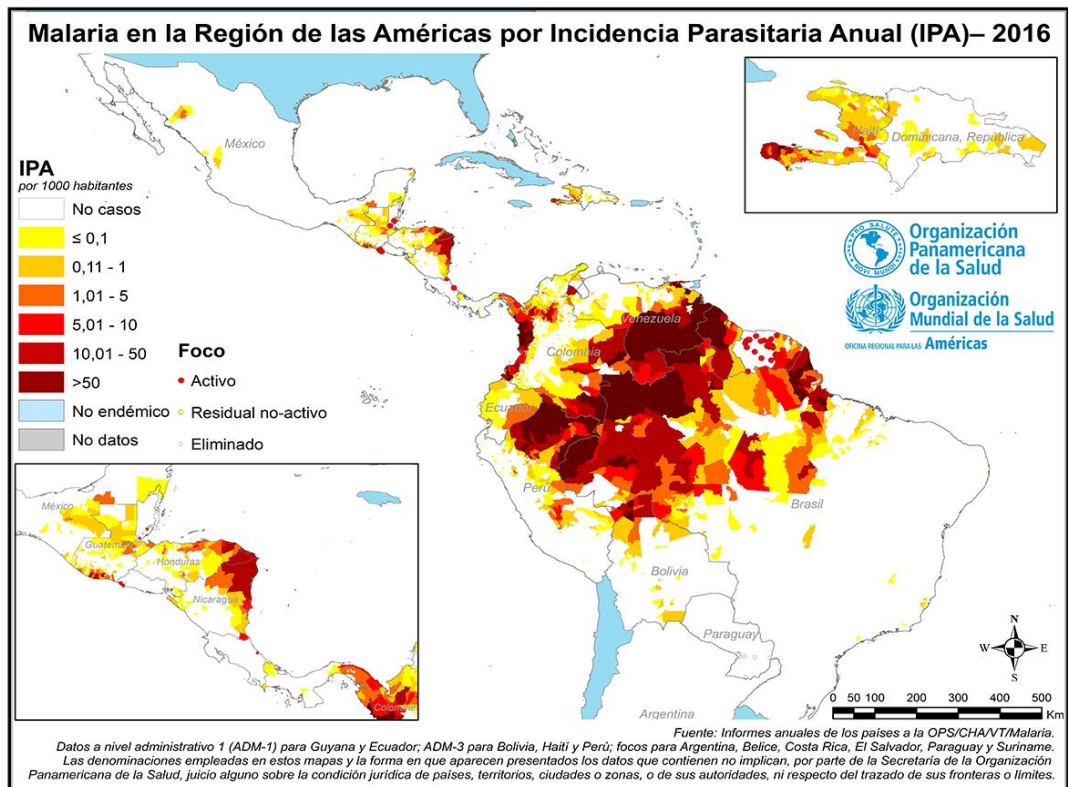
11.ANEXOS

Anexo 1. Distribución de la malaria en el mundo.



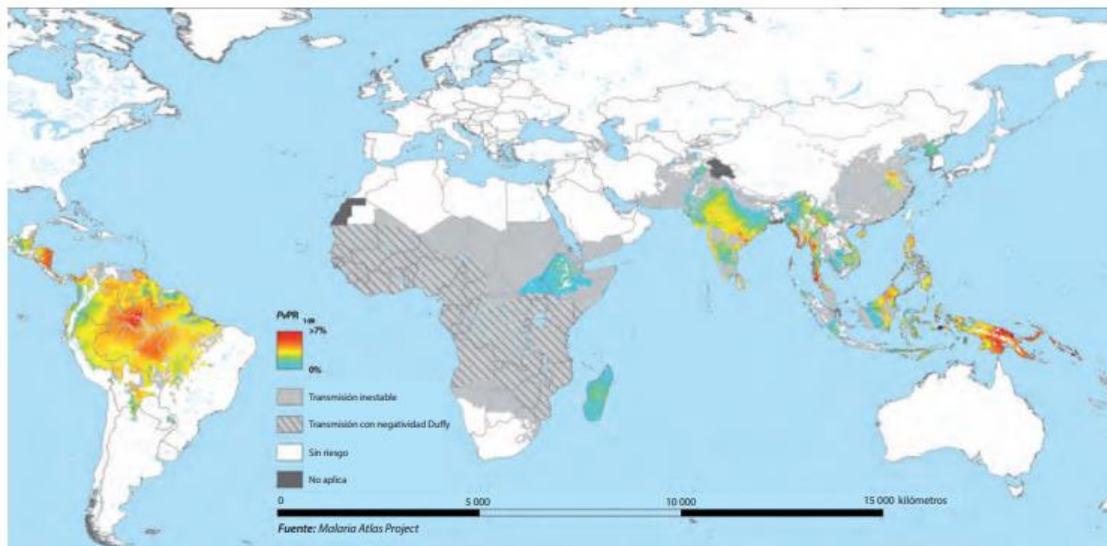
(WHO, 2017)

Anexo 2. Distribución de malaria en la región de las Américas.



(OPS/OMS, 2016)

Anexo 5. Distribución de *Plasmodium vivax* en el mundo.



(Malaria Atlas Project, 2017)

Anexo 6. Consentimiento informado.**Formulario de Consentimiento Informado.****CLÍNICA. Información para el paciente sano y el paciente con enfermedad activa**

Responsable: Dr. Fabián Sáenz

Organización: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Investigación sobre la malaria en Ecuador

Introducción: El Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) se encuentra realizando trabajos de investigación sobre la malaria en el Ecuador y deseamos invitarle a participar en esta investigación. Antes de decidir participar o no, usted puede consultar con alguien más sobre su participación. Vamos a leer este documento que tiene los detalles sobre la investigación, sin embargo, si hay alguna palabra que no entienda, por favor, infórmenos para poder explicarle. Usted puede realizar preguntas en cualquier momento.

Propósito del proyecto: La malaria es una enfermedad que afecta a mucha gente en Ecuador. Este proyecto de investigación quiere saber si hay esta enfermedad en su comunidad y porqué. Pedimos su ayuda voluntaria. Su participación ayudará a obtener información valiosa que ayudará a diseñar maneras de controlar y prevenir esta enfermedad.

Tipo de Intervención: Esta investigación incluirá responder una encuesta con información general sobre conocimientos de la enfermedad y la toma de sangre del dedo o de la vena.

Selección de participantes: Esta es una investigación que se realizará en toda la comunidad, por lo tanto, no se necesita requisitos especiales para su participación.

Participación voluntaria: Usted puede elegir libremente participar o no participar en absoluto en este proyecto de investigación. Si usted no desea participar o se retira del estudio no habrá ninguna consecuencia y no perderá ninguno de los beneficios de atención de salud que existen normalmente. Para que usted pueda participar en este proyecto, es necesario que usted entienda lo que vamos a necesitar. Si acepta colaborar voluntariamente con nosotros, debe firmar (o poner su huella digital) en la línea disponible abajo en este formulario.

Usted puede dejar de participar en este proyecto en cualquier momento, sin necesidad de dar ninguna explicación. De igual manera, los investigadores pueden terminar su participación en el mismo. Si éste es el caso, usted será notificado. No hay costo por participar en esta investigación. Si usted tiene dudas sobre la investigación o sobre sus derechos en este

proyecto de investigación, por favor pregunte al entrevistador o contacte a las personas nombradas abajo.

Procedimientos: Un encuestador le pedirá que responda ciertas preguntas sobre su conocimiento de malaria. Además, personal entrenado tomará muestras de sangre. Las muestras de sangre se tomarán una o dos veces mediante un pinchazo en el dedo, con una lanceta, para obtener 10 gotas de sangre. Es posible que se solicite una muestra más grande de sangre para llevar a cabo estudios más detallados, esta vez la sangre será tomada del brazo usando una jeringa para obtener entre 3 y 10 ml de sangre (entre 1 y 3 cucharaditas). Estas muestras serán examinadas por los médicos, de encontrarse que usted requiere tratamiento médico, será referido a las unidades del Ministerio de Salud.

Investigación: La investigación utilizará parte de la información clínica y parte de las muestras de sangre sin que estos tengan referencia a su nombre. A sus muestras e información privada se le asignará un código. Esta información será utilizada para estudiar las enfermedades en su comunidad, la respuesta a medicamentos y cómo éstas se relacionan con los factores de riesgo a los cuales usted puede estar expuesto. Usted no será identificado por nombre en ningún informe publicado ni en presentaciones de los resultados. Las muestras, sin conexión con su nombre serán almacenadas en refrigeración o congelación y podrán ser utilizadas en el futuro para otros estudios de la biología del parásito, previa aprobación por parte de un comité de ética.

Confidencialidad: Toda la información que usted proporcione será mantenida confidencialmente y utilizada solamente para propósitos de la investigación sin conexión a su nombre. Los resultados generales, serán compartidos con el Ministerio de Salud Pública del Ecuador y su comunidad.

Riesgos: Los riesgos potenciales asociados a su participación son las molestias al sacar la sangre. La toma de muestras de sangre será realizada por profesionales debidamente entrenados, utilizando agujas y lancetas nuevas, siguiendo normas internacionales, lo que reducirá la posibilidad de molestias por la toma de sangre.

Beneficios: Los beneficios potenciales de su participación incluyen un incremento en el conocimiento sobre la prevención de enfermedades tropicales y la futura implementación de estrategias de control e intervención, que tienen el potencial de mejorar la salud de su comunidad.

Compensaciones: No existe compensación financiera por su participación en el estudio.

Declaración general de consentimiento: “Al firmar (o poner mi huella digital) abajo, declaro que los investigadores a cargo de este proyecto me han explicado los propósitos y

los beneficios y riesgos de la investigación, y que los he entendido plenamente. Entiendo claramente que no hay compensación monetaria por mi participación de parte de la PUCE, ni de las otras instituciones implicadas, y/o de sus empleados, y que en caso de alguna lesión que pudiese sufrir por mi participación en esta investigación, se buscarán las prestaciones médicas necesarias sin costo para mí a través de las unidades del Ministerio de Salud”. Al firmar (o poner mi huella digital) abajo declaro que entiendo el alcance y los objetivos del Proyecto, y estoy dispuesto a participar voluntariamente”.

Nombre del participante:

Firma (o huella digital) del participante o su representante legal. _____

Fecha: _____ de ____ del 201_

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del testigo:

Firma del testigo (en caso de analfabetismo) _____ Fecha: _____ de _____ del 201_

Declaración de asentimiento (para menores entre 12 y 18 años de edad)

Yo, _____, tengo ____ años de edad, entiendo los objetivos de esta investigación y que es lo que se espera de mí. Por lo tanto, acepto participar voluntariamente.

Firma, del menor) _____ Fecha: _____ de ____ del 201_

Nombre del investigador/asistente:

Firma del investigador/asistente: _____ Fecha: _____ de _____ del 201_

Ha sido proporcionado, al participante, una copia de este documento _____ (iniciales del investigador/asistente)

Personas a contactar: Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la PUCE, que es un comité cuya tarea es asegurarse de que se proteja de daños a los participantes en la investigación. Si usted tiene preguntas sobre esta investigación por favor comuníquese con el Dr. Fabián Sáenz, CISEAL, PUCE. Ave. 12 de Octubre 1076 y Roca. Tel. (02) 299 1700 ext. 2272 ó 2271. Fax. (02) 299 1689 Email: fsaenz213@puce.edu.ec.

Si tiene preguntas sobre sus derechos como participante en esta investigación comuníquese con el **Dr. Rommel Montúfar Galárraga**, Secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. **Dirección de Investigación y Postgrados**, Av. 12 de Octubre 1076 y Roca (Quito, Ecuador), Teléfonos: 299 1533, 299 1700 ext. 2917.

Anexo 7. Asentimiento del menor de edad**Asentimiento del menor para participar en la investigación**

Título de la investigación: Determinación del origen de infecciones de malaria en comunidades de la Provincia de Esmeraldas, Cantones Muisne, Esmeraldas y San Lorenzo, durante el periodo 2018-2019.

Responsable: Dr. Fabián Sáenz

Organización: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Investigación sobre la malaria en Ecuador

Mi nombre es _____ y estoy de acuerdo con participar en esta investigación. Me han explicado el proyecto, entiendo y me siento cómodo respecto al tema y las actividades del proyecto. Tengo el permiso de mis padres/tutores para participar en él. También entiendo mis derechos y sé que tengo la plena libertad para retirarme de este proyecto y no responder a alguna pregunta o ser parte de alguna actividad si no quiero. Entiendo que no seré penalizado por no participar.

Entiendo que si tengo preguntas sobre el trato o cualquier otro asunto relacionado a mi participación, puedo contactarme con el Dr. Fabián Sáenz, CISEAL, PUCE. Ave. 12 de octubre 1076 y Roca. Tel. (02) 299 1700 ext. 2272 ó 2271. Fax. (02) 299 1689 Email: fsaenz213@puce.edu.ec o con el **Dr. Rommel Montúfar Galárraga**, Secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. **Dirección de Investigación y Postgrados**, Av. 12 de Octubre 1076 y Roca (Quito, Ecuador), Teléfonos: 299 1533, 299 1700 ext. 2917.

Nombre del representante legal del menor

Firma del representante legal del menor

Firma o huella digital del menor

Nombre


Fecha

Información del menor:

Nombre:

Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____

Anexo 8. Encuesta de Conocimientos, Actitudes, Prácticas y Socio-Demográficas.

						Epidemiología Molecular de <i>Plasmodium</i> en Ecuador	Encuesta de Conocimientos, Actitudes, Prácticas y socio demográficas.
P	CP	CA	SC	CE	No. Casa		

Etiquetas:			

- **Georeferenciación:**

- **Fecha y hora de la toma:** ____ / ____ / ____ ; ____ / ____
- **Número de satélites:** _____.

	Toma 1	Toma 2	Toma 3
Latitud (N, S)			
Longitud (W, E)			
Altura (en pies)			

Nota para el encuestador: se deben anotar las coordenadas tal y como aparecen en el dispositivo de posicionamiento global, incluyendo la letra inicial de la dirección (N, S, E, W), los ceros a la izquierda y los puntos. La **latitud** es el número que va precedido de la letra **N** o **S**. La **longitud** es el número que va precedido de la letra **W** o **E**.

A. IDENTIFICACIÓN

- 1. Fecha de visita (dd/mm/aa)** ____ / ____ / ____

2. Teléfono fijo o celular propio/ o de un vecino: ____|____|____|
 ____|____|____|____|____|____|

3. Nombre y Apellido del encuestado
 : _____

Marque X

4. La persona entrevistada es: 1) Hombre ____| 2) Mujer ____|

B. ENCUESTA DE CONOCIMIENTOS, ACTITUDES Y PRÁCTICAS

• CONOCIMIENTOS

5. ¿Cuántos miembros de su hogar han tenido malaria en los últimos doce meses?
 ____N° de personas enfermas

NOTA PARA EL ENCUESTADOR: NO lea las opciones de respuesta. Espere a que el encuestado responda y asocie la respuesta a la opción más afín.

6. Para Usted, ¿Cómo se trasmite la malaria? (Varias opciones)

- 1) Picadura de mosquito ____ 2) Transfusión de sangre ____ 3) Pinchazos
 con jeringas contaminadas ____ 4) Otras ¿Cuál? _____
 5) No sabe/No responde ____

NOTA PARA EL ENCUESTADOR: NO lea las opciones de respuesta. Espere a que el encuestado responda y asocie la respuesta a la opción más afín. Coloque un número 1, 2, 3 según el orden en la respuesta.

7. ¿Para Usted, cuáles son los primeros síntomas en una persona que tiene malaria?

- 1) Fiebre _____
 2) Escalofrío _____
 3) Dolor de cabeza _____
 4) Sudoración abundante _____
 5) Dolores en los músculos o las articulaciones _____
 6) Decaimiento o desgano general _____
 7) Todas las anteriores _____
 8) Otro ¿Cuál? _____
 9) No sabe/No responde _____

8. ¿Para Usted, qué es lo primero que debe hacer una persona cuando tiene los síntomas de la malaria? (Varias opciones)

- 1) Ir al microscopista u otro funcionario de salud para hacerse la gota gruesa

- 2) Ir al shamán o curandero _____
- 3) Tomar remedio casero, bebidas de plantas, automedicarse _____
- 4) Otra ¿Cuál? _____
- 5) No sabe/No responde _____

9. ¿En esta comunidad hay microscopista o centro de salud encargados de la toma de Gota Gruesa y haga el diagnóstico de la malaria?

- 1) Si _____
- 2) No _____
- 3) No sabe/No responde _____

Si la respuesta es positiva pase a la siguiente pregunta, de lo contrario pase a la pregunta N° 11.

10. ¿El microscopista o centro de salud cobra por hacer la Gota Gruesa o muestra de sangre?

- 1) Si _____
- 2) No _____
- 3) No sabe/No responde _____

11. De acuerdo con su saber, ¿Con qué se cura la malaria? (varias opciones)

- 1) Con pastillas _____
- 2) Jarabes o inyecciones _____
- 3) Con bebidas de plantas, tratamiento casero _____
- 4) Se cura sola sin hacer nada _____
- 5) Otra ¿Cuál? _____
- 6) No sabe/No responde _____

12. ¿Para Usted, qué puede pasar si una persona no toma el tratamiento de la malaria? (una opción)

- 1) No le pasa nada _____
- 2) Se agrava y puede morir _____
- 3) Se la pasa a los familiares _____
- 4) Otra ¿Cuál? _____
- 5) No sabe/No responde _____

13. ¿Para Usted, qué se puede hacer dentro de la vivienda para evitar la malaria? (Varias opciones)

- 1) Usar el toldillo o mosquitero _____
- 2) Usar anjeo, malla, telas metálicas en puertas y ventanas _____
- 3) Fumigar _____
- 4) Usar repelente que se unta en la piel _____
- 5) Todas las anteriores _____
- 6) No se puede hacer nada _____
- 7) Otra ¿Cuál? _____
- 8) No sabe/No responde _____

14. ¿Para Usted qué se puede hacer fuera de la vivienda para prevenir la malaria? (Varias opciones)

- 1) Usar camisa de manga larga y pantalón _____
- 2) Evitar malezas, cortar el pasto, matorrales y monte cerca de vivienda _____
- 3) Evitar aguas estancadas, secar charcos: tapar pozos, huecos con tierra, etc _____
- 4) Fumigar _____
- 5) Todas los anteriores _____
- 6) No se puede hacer nada _____

- 7) Otra ¿Cuál? _____
 8) No sabe/No responde _____

15. ¿Para usted quiénes son los responsables de controlar la malaria? (Varias opciones)

- 1) El gobierno _____ 2) El Centro de salud _____ 3) La comunidad organizada _____
 4) Cada persona _____ 5) Todos _____
 6) No sabe/No responde _____

16. ¿Quién le enseñó lo que sabe de malaria? (Varias opciones)

- 1) Familia _____
 2) Amigos, vecinos _____
 3) Escuela _____
 4) Trabajadores de salud _____
 5) Medios de comunicación masivos: radio, televisión, afiches, etc. _____
 6) Iglesia _____
 7) ONG _____
 8) Otra ¿Cuál? _____

• **ACTITUDES**

NOTA PARA EL ENCUESTADOR: Al iniciar cada pregunta explique: “Voy a leerle una frase y usted me dice con cuáles de las respuestas se identifica más. Es decir, me dice con cuál frase está de acuerdo o no está de acuerdo”.

17. Para Usted enfermarse de malaria o paludismo es algo común y normal

- 1) SI _____ 2) No _____ 3) No sabe/No responde _____

18. El tener charcas o agua acumulada alrededor de la vivienda facilita la transmisión del paludismo o malaria

- 1) SI _____ 2) No _____ 3) No sabe/No responde _____

19. La malaria es una enfermedad que se transmite de una persona enferma a una persona sana a través de contacto físico

- 1) SI _____ 2) No _____ 3) No sabe/No responde _____

20. Los medicamentos curan la malaria.

- 1) SI _____ 2) No _____ 3) No sabe/No responde _____

21. Usar toldillo es molesto

- 1) SI _____ 2) No _____ 3) No sabe/No responde _____

22. La presencia de los mosquitos o zancudos le molesta

- 1) SI ____ 2) No ____ 3) No sabe/No responde ____

23. Hacerse tomar la Gota Gruesa es necesario para saber si se tiene malaria o paludismo

- 1) SI ____ 2) No ____ 3) No sabe/No responde ____

24. Una persona que está enferma de malaria o paludismo debe continuar tomándose los medicamentos que le recetaron aunque se sienta mejor

- 1) SI ____ 2) No ____ 3) No sabe/No responde ____

25. Ha comprado pastillas sin prescripción médica para aliviarse del paludismo o malaria

- 1) SI ____ 2) No ____ 3) No sabe/No responde ____

26. La malaria puede dar más de una vez

- 1) SI ____ 2) No ____ 3) No sabe/No responde ____

• **PRÁCTICAS**

27. ¿Dentro de la vivienda Usted? (Varias opciones)

- 1) Usa toldillo o mosquitero _____
 2) Usa mallas o telas metálicas en puertas y ventanas _____
 3) Usa repelente tóxico (untado en la piel) _____
 4) Usted fumiga _____
 5) No Hace nada _____

28. ¿Fuera de la vivienda Usted? (Varias opciones)

- 1) Corta el pasto, matorrales y monte cerca de vivienda _____
 2) Vigila la presencia de aguas estancadas para secarlos _____
 3) Fumiga _____
 4) No hace nada _____

29. ¿Cuando Usted o un miembro de su familia estuvo enfermo de malaria a quien acudió primero? (una sola opción)

- 1) Médico, Enfermera, Auxiliar de enfermería _____
 2) Microscopista _____
 3) Promotor o Agente Comunitario _____
 4) Droguería _____
 5) Curandero o chamán _____
 6) Familiar, amigo o vecino _____
 7) Otra _____ ¿Cuál? _____
 8) Se auto-formula _____
 9) No han estado enfermos _____

30. La última vez que usted o un miembro del hogar tuvo malaria o paludismo se hizo tomar la gota gruesa.

Si la respuesta es negativa pase a la siguiente pregunta, de lo contrario pase a la pregunta N°32

- 1) Si _____
- 2) No _____
- 3) No sabe que es una gota gruesa _____
- 4) No han estado enfermos _____

31. ¿Cuáles fueron los motivos por los cuales no acudió a tomarse la Gota Gruesa? (Varias opciones)

- 1) Está Muy lejos _____
- 2) Es costoso el transporte _____
- 3) No lo considera necesario _____
- 4) Ya sabe lo que tiene _____
- 5) Horario de atención _____
- 6) Otro _____ ¿Cuál? _____
- 7) No sabe/No responde _____

32. ¿Qué medio utilizaría para desplazarse al lugar donde le toman la Gota Gruesa? (una sola opción)

- 1) A pie _____
- 2) En caballo, mula o burro _____
- 3) Bote, canoa, chalupa _____
- 4) Carro, bus, chiva, moto _____
- 5) Otra _____ ¿Cuál? _____
- 6) No sabe/No responde _____

33. ¿Cuánto tiempo se demora para llegar al sitio donde le toman la Gota Gruesa? (una sola opción)

- 1) Menos de una hora _____
- 2) Entre 1 y 2 horas _____
- 3) Medio día o un día _____
- 4) Más de un día _____
- 5) No sabe/No responde _____

34. ¿Cuál cree que es el motivo por el cual las personas no terminan el tratamiento? (Varias opciones)

- 1) No se lo dieron _____
- 2) No tenía dinero para comprarlo _____
- 3) Le produjo malestar (nausea, vómito, etc.) _____
- 4) El medicamento tenía muy mal sabor _____
- 5) Lo suspenden porque se sienten mejor _____
- 6) No entienden la fórmula o las indicaciones _____
- 7) Otro _____ ¿Cuál? _____
- 8) No sabe/No responde _____
- 9) Siempre lo toman completo _____

35. ¿El personal de salud le ha regalado (gratis) el tratamiento para malaria o paludismo?

- 1) Si _____
 2) No _____
 3) No sabe/No responde _____

C. ASPECTOS SOCIO-DEMOGRÁFICOS

NOTA PARA EL ENCUESTADOR: En las siguientes preguntas **NO** lea las opciones de respuesta. Espere a que el encuestado responda y asocie la respuesta a la opción más afín. **Marque X en UNA opción.**

36. ¿Usted a qué se dedica? (una sola opción)

- 1) Jornalero _____ 2) Trabajador de minería _____ 3) Pescador _____
 4) Explotador de madera _____ 5) Ganadero _____ 6) Agricultor propietario _____
 7) Industrial _____ 8) Propietario de minas _____ 9) Ama de casa _____
 10) Estudiante _____ 11) Otra ¿Cuál? _____

37. ¿Cuál es el máximo grado de escolaridad? (una sola opción)

- 1) Ninguno _____ 2) Primaria incompleta _____ 3) Primaria completa _____
 4) Secundaria incompleta _____ 5) Secundaria completa _____ 6) Técnico o universitario incompleto _____
 7) Técnico o universitario completo _____
 8) No sabe/No responde _____

38. ¿A qué grupo étnico pertenece? (una sola opción)

- 1) Indígena ¿A qué etnia pertenece? _____
 2) Gitano ___ 3) Negro, Mulato, Afroecuatoriano ___ 4) Blanco o Caucásico ___
 5) Mestizo ___ 6) Extranjero ¿Cuál? _____ 7) No sabe _____
 8) Otra ¿Cuál? _____

3) ¿Con cuáles servicios públicos, cuenta la vivienda? (Varias opciones)

- 1) Energía eléctrica _____ 2) Gas natural conectado _____ 3) Acueducto _____
 4) Alcantarillado _____ 5) Recolección de basuras _____ 6) Teléfono fijo _____
 7) Ninguno _____ 8) Todos _____

Observe:

4) ¿En qué tipo de vivienda reside el encuestado? (una sola opción)

- 1) Casa de material ladrillo _____ 2) Apartamento _____

3) Cuarto en inquilinato____ 4) Cabaña en madera ____ 4) Rancho, vivienda precaria o choza ____ 6) Otra¿Cuál?_____

5) ¿A qué distancia queda la fuente de agua más cercana? (*una sola opción*)

1) Dentro de la casa ____ 2) Menos de 20 metros ____
3) Entre 50 y 100 metros ____ 4) Más de 100 metros ____

6) ¿Cuál es la principal fuente de agua que usan para preparar los alimentos? (*una sola opción*)

1) Acueducto____ 2) Pozo ____ 3)Pila pública____ 4) Río o quebrada ____
5) Agua lluvia ____ 6) Otra ¿Cuál? _____

7) ¿Dónde se encuentra el servicio sanitario (donde realiza las deposiciones) que usan en este hogar? (*una sola opción*)

1) Dentro de la vivienda ____ 2) Fuera de la vivienda ____

8) ¿Con qué clase de servicio sanitario cuenta la vivienda?

1) Inodoro conectado al alcantarillado____ 2) Inodoro conectado al pozo séptico____ 3) Letrina (pozo, hoyo)____ 4) Zanja, directo al mar____
5) Otra ¿Cuál? _____

9) ¿Qué tipo de alumbrado utilizan principalmente?

1) Eléctrica (bombillos) ____ 2) Lámparas con petróleo o combustible ____
3) Vela ____ 4) Energía solar____ 5) Otra ¿Cuál?_____

Código encuestador: ____|____|____|

Código supervisor: ____|____|____|

Anexo 9. Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*.

<i>Pvdbp</i>							<i>Aldolasa</i>								
Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de CT	Des. Estándar	Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de Ct	Des. Estándar		
Sal I	32,93	32,42	32,47	33,1	32,93	32,77	0,31	Sal I	30,51	30,38	31,12	30,51	30,38	30,58	0,31
Pv 065	36,63	36,27	35,56			36,15	0,54	Pv 065	34,49	34,02	33,85			34,12	0
Pv 004	37,19	35,26	37,67			36,71	1,28	Pv 004	36,31	36,26	37			36,52	0,41
Pv 024	34,8	35,22	35,4			35,14	0,31	Pv 024	33,04	34,77	35,03			34,28	1,08
Pv 009	37,92	38,85	39,86			38,88	0,97	Pv 009	38,9	36,64	37,53			37,69	1,14
Pv 012	37,7	35,29	35,5			36,16	1,33	Pv 012	38,8	39,34	34,45			37,53	2,68
Pv 015	33,63	35,06	34,16			34,28	0,72	Pv 015	32,81	31,97	32,5			32,43	0,42
Pv 023	24,32	24,56	24,93			24,60	0,31	Pv 023	23,15	24,81	23,71			23,89	0,84
Pv 026	35,83	36,73	37,94			36,83	1,06	Pv 026	35,51	36,1	36,61			36,07	0,55
Pv 028	34,07	35,08	34,78			34,64	0,52	Pv 028	34,62	33,83	33			33,82	0,81
Pv 030	37,69	38,62	36,64			37,65	0,99	Pv 030	35,75	36,62	38,68			37,02	1,50
Pv 031	36,15	37,2	35,9			36,42	0,69	Pv 031	36,12	34,63	36,91			35,89	1,16
Pv 034	38,41	36,63	35,16			36,73	1,63	Pv 034	37,09	36,51	35,27			36,29	0,93
Pv 050	32,53	33,28	33,71			33,17	0,60	Pv 050	32,22	31,18	30,98			31,46	0,67
Pv 046	35,25	37,2	36,01			36,15	0,98	Pv 046	34,58	34,62	34,94			34,71	0,20
Pv 049	32,55	36,52	34,09			34,39	2,00	Pv 049	33,79	36,64	33,66			34,70	1,68
Pv 079	34,82	36,54	33,05			34,80	1,75	Pv 079	33,84	36,63	33,82			34,76	1,62
Pv 061	37,57	39,65	37,69			38,30	1,17	Pv 061	36,53	37,6	38,66			37,60	1,07
Pv 064	39,74	38,95	39,4			39,36	0,40	Pv 064	38,63	36,92	37,95			37,83	0,86
Pv 066	37,13	37,74	38,58			37,82	0,73	Pv 066	35,74	36,66	36,2			36,20	0,46
Pv 068	36,79	37,72	37,54			37,35	0,49	Pv 068	36,03	37,72	35,28			36,34	1,25

Anexo 9. (Continuación...) Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*.

<i>Pvdbp</i>							<i>Aldolasa</i>						
Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de CT	Des. Estándar	Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de Ct	Des. Estándar
Pv 069	37,61	37,46	35,58		36,88	1,13	Pv 069	35,04	37,58	36,24		36,29	1,27
Pv 075	33,06	37,46	35,33		35,28	2,20	Pv 075	34,49	37,59	35,05		35,71	1,65
Pv 076	38,43	37,56	37,85		37,95	0,44	Pv 076	36,83	36,53	36,52		36,53	0,01
Pv 080	35,04	36,22	33,33		34,86	1,45	Pv 080	34,82	36,79	32,71		34,77	2,04
Pv 083	34,77	39,03	36,18		36,66	2,17	Pv 083	35,09	38,45	37,33		36,96	1,71
Pv 084	37,42	36,61	37,53		37,19	0,50	Pv 084	35,79	36,71	36,63		36,38	0,51
Pv 090	38,01	37,57	38,59		38,08	0,72	Pv 090	35,31	36,85	36,13		36,49	0,51
Pv 39	35,26	36,68	34,84		35,59	0,96	Pv 39	34,74	34,81	35,59		35,05	0,47
Pv 48	37,33	36,63	35,26		36,41	1,05	Pv 48	36,15	34,05	35,15		35,12	1,05
Pv 55	37,99	38,21	36,05		37,42	1,19	Pv 55	36,69	39,47	35,58		37,25	2,00
Pv 63	36,25	36,25	38,4		36,97	1,24	Pv 63	36,73	35,22	38,06		36,67	1,42
Pv 67	35,53	38,34	36,89		36,92	1,41	Pv 67	35,23	36,66	39,15		37,01	1,98
Pv 72	34,09	38,2	36,61		36,30	2,07	Pv 72	36,61	35,18	38,69		36,83	1,77
Pv 86	37,09	35	36,28		36,12	1,05	Pv 86	35,25	35,93	38,06		36,41	1,47
Pv 08	36,69	37,68	36,43		36,93	0,66	Pv 08	35,03	39,68	36,36		37,02	2,39
Pv11	33,21	33,33	37,34		34,63	2,35	Pv11	33,65	34,26	38,03		35,31	2,37
Pv 47	31,33	33,2	38,46		34,33	3,70	Pv 47	34,01	39,63	35,19		36,28	2,96
Pv 53	37,23	36,17	33,66		35,69	1,83	Pv 53	35,48	34,84	36,06		35,46	0,61
Pv 57	37,21	35,72	35,18		36,04	1,05	Pv 57	35,04	36,32	39		36,79	2,02
Pv 85	34,62	34,75	36,41		35,26	1,00	Pv 85	33,63	35,35	38,18		35,72	2,30
Pv 91	34,57	36,28	35,14		35,33	0,87	Pv 91	35,14	34,02	38,49		35,88	2,33

Anexo 9. (Continuación...) Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*.

<i>Pvdbp</i>							<i>Aldolasa</i>						
Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de CT	Des. Estándar	Muestra	Ct1	Ct2	Ct3	Ct4	Promedio de Ct	Des. Estándar
Pv 14	33,32	32,57	35,49		33,79	1,52	Pv 14	34,46	32,76	38,17		35,13	2,77
Pv 18	35,42	34,36	38,19		35,99	1,98	Pv 18	35,14	34,89	36,14		35,39	0,66
Pv 22	35,62	36,78	37,9		36,77	1,14	Pv 22	35,94	34,72	35,38		35,35	0,61
Pv 44	39,51	36,02	37,71		37,75	1,75	Pv 44	37,84	35,55	38,24		37,21	1,45
Pv 45	37,43	36,39	34,13		35,98	1,69	Pv 45	35,19	35,24	39,82		36,75	2,66
Pv 58	38,13	39,05	36,54		37,91	1,27	Pv 58	36,01	37,34	38,57		37,31	1,28
Pv 59	36,65	38,84	35,37		36,95	1,75	Pv 59	37,48	36,51	35,54		36,51	0,97
Pv 60	38,6	35,7	37,39		37,23	1,46	Pv 60	35,19	36,69	37,83		36,57	1,32
Pv 62	33,7	36,2	36,08		35,33	1,41	Pv 62	35,92	34,45	39,33		36,57	2,50

Anexo 9. (Continuación...) Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*.

Diferencia de repeticiones de Sal 1										
Muestra	rep 1	rep 2	rep 3	rep 4	rep 5	Desviación estándar de cal	$\Delta\Delta Ct$	SD	Número de copias (+)	Número de copias (-)
Sal I	2,42	2,04	1,35	2,59	2,55	0,52	0,00	0,68	1,60	0,63
Pv 065							0,16	0,82		0,63
Pv 004							2,01	1,44		1,48
Pv 024							1,33	1,24		1,07
Pv 009							1,00	1,58		0,67
Pv 012							3,56	3,04		1,43
Pv 015							0,33	0,99		0,64
Pv 023							1,48	1,04		1,36
Pv 026							1,43	1,30		1,09
Pv 028							1,36	1,09		1,21
Pv 030							1,56	1,87		0,80
Pv 031							1,66	1,44		1,16
Pv 034							1,75	1,94		0,87
Pv 050							0,48	1,03		0,68
Pv 046							0,75	1,13		0,77
Pv 049							2,50	2,67		0,89
Pv 079							2,15	2,43		0,82
Pv 061							1,48	1,66		0,88
Pv 064							0,66	1,08		0,75
Pv 066							0,57	1,00		0,74
Pv 068							1,18	1,44		0,84
Pv 069							1,59	1,78		0,88

Anexo 9. (Continuación...) Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*

Diferencia de repeticiones de Sal 1

Muestra	rep 1	rep 2	rep 3	rep 4	rep 5	Desviación estándar de cal	$\Delta\Delta Ct$	SD	Número de copias (+)	Número de copias (-)
Sal I	2,42	2,04	1,35	2,59	2,55	0,52	0,00	0,68	1,60	0,63
Pv 075							2,62	2,80		0,88
Pv 076							0,77	0,68		1,06
Pv 080							2,10	2,56		0,73
Pv 083							2,49	2,81		0,80
Pv 084							1,38	0,88		1,41
Pv 090							0,60	1,02		0,75
Pv 39							1,64	1,19		1,37
Pv 48							0,90	1,57		0,63
Pv 55							2,02	2,39		0,78
Pv 63							1,89	1,96		0,96
Pv 67							2,28	2,49		0,87
Pv 72							2,72	2,77		0,96
Pv 86							2,48	1,88		1,52
Pv 08							2,28	2,54		0,84
Pv11							2,88	3,38		0,71
Pv 47							4,14	4,77		0,65
Pv 53							1,96	2,00		0,97
Pv 57							2,94	2,34		1,52
Pv 85							2,65	2,56		1,07
Pv 91							2,74	2,54		1,15
Pv 14							3,53	3,20		1,26
Pv 18							1,59	2,15		0,68

Anexo 9. (Continuación...) Cálculos en la determinación del número de copias de *Pvdbp*.

Diferencia de repeticiones de Sal 1

Muestra	rep 1	rep 2	rep 3	rep 4	rep 5	Desviación estándar de cal	$\Delta\Delta Ct$	SD	Número de copias (+)	Número de copias (-)
Sal I	2,42	2,04	1,35	2,59	2,55	0,52	0,00	0,68	1,60	0,63
Pv 22							0,77	1,39	0,65	
Pv 44							1,65	2,33	0,63	
Pv 45							2,96	3,19	0,85	
Pv 58							1,59	1,88	0,82	
Pv 59							1,75	2,07	0,80	
Pv 60							1,53	2,04	0,70	
Pv 62							3,43	2,92	1,42	

Anexo 10. Frecuencias totales de la encuesta socio-demográfica

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
1. La persona entrevistada es:	Hombre	7	43,75	0,000
	Mujer	9	56,25	
	Total de encuestas	16	100	
2. ¿Usted a qué se dedica?	Jornalero	3	18,75	0,000
	Trabajador de minería	0	0	
	Pescador	0	0	
	Explotador de madera	1	6,25	
	Ganadero	0	0	
	Agricultor propietario	1	6,25	
	Industrial	0	0	
	Propietario de minas	8	50	
	Ama de casa	1	6,25	
	Estudiante	1	6,25	
	Otra	2	12,5	
	Total de encuestas	16	100	
3. ¿Cuál es el máximo grado de escolaridad?	Ninguno	1	6,25	0,000
	Primaria incompleta	4	25	
	Primaria completa	2	12,5	
	Secundaria incompleta	4	25	
	Secundaria completa	4	25	
	Técnico o universitario incompleto	0	0	
	Técnico o universitario completo	1	6,25	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
4. ¿A qué grupo étnico pertenece?	Indígena	0	0	0,000
	Gitano	0	0	
	Negro, mulato, Afroecuatoriano	16	100	
	Blanco o caucásico	0	0	
	Mestizo	0	0	
	Extranjero	0	0	
	No sabe	0	0	
	Otro	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
5. ¿Con cuáles servicios públicos, cuenta la vivienda?	Energía Eléctrica	16	100	0,000
	Gas natural o Conectado	0	0	
	Acueducto	15	93,75	
	Alcantarillado	2	12,5	
	Recolección de basura	1	6,25	
	Teléfono fijo	1	6,25	
	Ninguno	0	0	
	Todos	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 10. (Continuación...) Frecuencias totales de la encuesta socio-demográfica

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
6. ¿En qué tipo de vivienda reside el encuestado?	Casa de material Ladrillo	12	75	0,000
	Apartamento	0	0	
	Cuarto en inquilinato	0	0	
	Cabaña en madera	3	18,75	
	Rancho, vivienda precaria o choza	1	6,25	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
7. ¿A qué distancia queda la fuente de agua más cercana?	Dentro de la casa	0	0	0,000
	Menos de 20 metros	0	0	
	Entre 50 y 100 metros	16	100	
	Más de 100 metros	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
8. ¿Cuál es la principal fuente de agua que usan para preparar los alimentos?	Acueducto	15	93,75	0,000
	Pozo	1	6,25	
	Pila Pública	0	0	
	Río o Quebrada	0	0	
	Agua Lluvia	0	0	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
9. ¿Dónde se encuentra el servicio sanitario (donde realiza las deposiciones) que usan en este hogar?	Dentro de la vivienda	5	31,25	0,000
	Fuera de la vivienda	11	68,75	
	Total de encuestas	16	100	
10. ¿Con qué clase de servicio sanitario cuenta la vivienda?	Inodoro conectado a alcantarillado	5	31,25	0,000
	Inodoro conectado al pozo séptico	0	0	
	Letrina (Pozo negro, hoyo)	10	62,5	
	Bajamar, volador	0	0	
	Otra	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
11. ¿Qué tipo de alumbrado utilizan principalmente?	Eléctrica (Bombillos)	16	100	0,000
	Lámparas con petróleo o combustible (Guaricha)	0	0	
	Vela	0	0	
	Energía Solar	0	0	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 11. Frecuencias totales de la encuesta de conocimientos

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
12. Para Usted, ¿Cómo se trasmite la malaria?	Picadura de mosquito	14	87,5	0,000
	Transfusión de sangre	0	0	
	Pinchazos con jeringas contaminadas	0	0	
	Otro	0	0	
	No sabe/No responde	2	12,5	
	Total de encuestas	16	100	
13. ¿Para Usted, cuáles son los primeros síntomas en una persona que tiene malaria?	Fiebre	9	56,25	0,000
	Escalofríos	5	31,25	
	Dolor de cabeza	10	62,5	
	Sudoración abundante	0	0	
	Dolores en los músculos y articulaciones	3	18,75	
	Decaimiento o desgano general	2	12,5	
	Todas las anteriores	0	0	
	Otro	1	6,25	
	No sabe / no responde	2	12,5	
Total de encuestas	16	100		
14. ¿Para Usted, qué es lo primero que debe hacer una persona cuando tiene los síntomas de la malaria?	Ir al microscopista u otro funcionario de salud para hacerse la gota gruesa	15	93,75	0,000
	Ir al Chaman o curandero	0	0	
	Tomar remedio casero	1	6,25	
	Otra	0	0	
	No sabe / no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
15. ¿En esta comunidad hay microscopista o centro de salud encargados de la toma de Gota Gruesa y haga el diagnóstico de la malaria?	Si	15	93,75	0,000
	No	1	6,25	
	No sabe / no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
16. ¿El microscopista o centro de salud cobra por hacer la Gota Gruesa o muestra de sangre?	Si	0	0	0,000
	No	16	100	
	No sabe / no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 11. (Continuación...) Frecuencias totales de la encuesta de conocimientos

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
17. De acuerdo con su saber, ¿Con qué se cura la malaria?	Con pastillas	11	68,75	0,000
	Jarabes o inyecciones	1	6,25	
	Con bebidas de plantas	0	0	
	Se cura sola	2	12,5	
	No sabe/ no responde	2	12,5	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
18. Para Usted, qué puede pasar si una persona no toma el tratamiento de la malaria?	No le pasa nada	0	0	0,000
	Se agrava y puede morir	15	93,75	
	Se le pasa a los familiares	0	0	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
19. ¿Para Usted, qué se puede hacer dentro de la vivienda para evitar la malaria?	Usar toldillo o mosquitero	7	43,75	0,000
	Usar anejo, malla, telas metálicas en puertas y ventanas	0	0	
	Fumigar	5	31,25	
	Usar repelente que se unta en la piel	1	6,25	
	Todas las anteriores	0	0	
	No se puede hacer nada	3	18,75	
	Total de encuestas	16	100	
20. ¿Para Usted qué se puede hacer fuera de la vivienda para prevenir la malaria?	Usar camisa de manga larga y pantalón	0	0	0,000
	Evitar malezas, cortar el pasto	6	37,5	
	Evitar aguas estancadas, secar charcos	13	81,25	
	Fumigar	3	18,75	
	Todas las anteriores	0	0	
	No se puede hacer nada	0	0	
	Otra	0	0	
	No sabe / no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
21. ¿Para usted quiénes son los responsables de controlar la malaria?	El Gobierno	0	0	0,000
	Centro de salud	11	68,75	
	La comunidad organizada	2	12,5	
	Cada persona	1	6,25	
	Todos	0	0	
	No sabe / no responde	3	18,75	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 11. (Continuación...) Frecuencias totales de la encuesta de conocimientos.

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
22. ¿Quién le enseñó lo que sabe de malaria? (varias opciones)	Familia	2	12,5	0,000
	Amigos , vecinos	1	6,25	
	Escuela	0	0	
	Trabajadores de la Salud	14	87,5	
	Medios de Comunicación masivos: radio, televisión, afiches, etc.	2	12,5	
	Iglesia	0	0	
	ONG	0	0	
	Otra	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 12. Frecuencias totales de la encuesta de actitudes

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
23. Para Usted enfermarse de malaria o paludismo es algo común y normal.	Si	6	37,5	0,000
	No	9	56,25	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
24. El tener charcas o agua acumulada alrededor de la vivienda facilita la transmisión del paludismo o malaria.	Si	15	93,75	0,000
	No	0	0	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
25. La malaria es una enfermedad que se transmite de una persona enferma a una persona sana a través de contacto físico.	Si	2	12,5	0,000
	No	12	75	
	No sabe/ no responde	2	12,5	
	Total de encuestas	16	100	
26. Los medicamentos curan la malaria.	Si	14	31,25	0,000
	No	1	62,5	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
27. Usar toldillo es molesto.	Si	5	87,5	0,000
	No	10	6,25	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
28. La presencia de los mosquitos o zancudos le molesta.	Si	15	93,75	0,000
	No	1	6,25	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
29. Hacerse tomar la Gota Gruesa es necesario para saber si se tiene malaria o paludismo	Si	13	81,25	0,000
	No	2	12,5	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
30. Una persona que está enferma de malaria o paludismo debe continuar tomándose los medicamentos que le recetaron aunque se sienta mejor.	Si	15	93,75	0,000
	No	1	6,25	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 12. (Continuación...) Frecuencias totales de la encuesta de actitudes.

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
20. Ha comprado pastillas sin prescripción médica para aliviarse del paludismo o malaria.	Si	4	25	0,000
	No	12	75	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
21. La malaria puede dar más de una vez.	Si	11	68,75	0,000
	No	1	6,25	
	No sabe/ no responde	4	25	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 13. Frecuencias totales de la encuesta de prácticas.

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
22. ¿Dentro de la vivienda Usted?	Usa toldillo o mosquitero	13	81,25	0,000
	Usa malla o telas metálicas en las puertas y ventanas	0	0	
	Usa repelente tóxico	2	12,5	
	Usted fumiga	4	25	
	No hace nada	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
23. ¿Fuera de la vivienda Usted?	Corta el pasto, matorrales y monte cerca de la vivienda	5	31,25	0,000
	Vigila la presencia de aguas estancadas	10	62,5	
	Fumiga	3	18,75	
	No hace nada	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
24. ¿Cuándo Usted o un miembro de su familia estuvo enfermo de malaria a quien acudió primero?	Médico, enfermera, auxiliar de enfermería	13	81,25	0,000
	Microscopista	0	0	
	Promotor o agente comunitario	0	0	
	Droguería	0	0	
	Curandero o Chaman	0	0	
	Familiar, amigo o vecino	0	0	
	Otra	2	12,5	
	Se auto-formula	0	0	
	No han estado enfermos	1	6,25	
Total de encuestas	16	100		
25. La última vez que usted o un miembro del hogar tuvo malaria o paludismo se hizo tomar la gota gruesa.	Si	5	31,25	0,000
	No	7	43,75	
	No sabe que es la gota gruesa	1	6,25	
	No han estado enfermos	3	18,75	
	Total de encuestas	16	100	
26. ¿Cuáles fueron los motivos por los cuales no acudió a tomarse la Gota Gruesa?	Está muy lejos	0	0	0,000
	Es costoso el transporte	1	6,25	
	No lo considera necesario	2	12,5	
	Ya sabe lo que tiene	0	0	
	Horario de atención	0	0	
	Otro	0	0	
	No sabe/ no responde	5	31,25	
	Perdida de encuestas	8	50	
Total de encuestas	16	100		

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

Anexo 13. (Continuación...) Frecuencias totales de la encuesta de prácticas.

Pregunta	Respuesta	Frecuencia	Porcentaje	Valor P
27. ¿Qué medio utilizaría para desplazarse al lugar donde le toman la Gota Gruesa?	A pie	15	93,75	0,000
	En bestia (caballo, mula, burro)	0	0	
	Bote, canoa, chalupa	0	0	
	Carro, bus, chiva, moto	0	0	
	Otro	0	0	
	No sabe/ no responde	1	6,25	
	Total de encuestas	16	100	
28. ¿Cuánto tiempo se demora para llegar al sitio donde le toman la Gota Gruesa?	Menos de una hora	16	100	0,000
	Entre una y dos horas	0	0	
	Medio día o un día	0	0	
	Más de un día	0	0	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	
29. ¿Cuál cree que es el motivo por el cual las personas no terminan el tratamiento?	No se lo dieron	0	0	0,000
	No tenían dinero para comprarlo	0	0	
	Le produjo malestar	0	0	
	El medicamento tenía muy mal sabor	0	0	
	Lo suspende por se sienten mejor	10	62,5	
	No entienden la formula o las indicaciones	0	0	
	Siempre se lo toma completo	0	0	
	Otro	3	18,75	
	No sabe/ no responde	3	18,75	
	Total de encuestas	16	100	
30. ¿El personal de salud le ha regalado (gratis) el tratamiento para malaria o paludismo?	Si	15	93,75	0,000
	No	1	6,25	
	No sabe/ no responde	0	0	
	Total de encuestas	16	100	

El valor P, fue determinado mediante la prueba Ji cuadrado.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Bibiana Estefanía Salazar Costa, con CC.# 1723122113, autor del trabajo de graduación intitulado “Prevalencia de *Plasmodium* spp. y del grupo sanguíneo Duffy en las comunidades de Mataje y Ricaurte del norte de la provincia de Esmeraldas y cuantificación del número de copias de *Pvdbp* en *P. vivax* ecuatorianos” previa la obtención del grado académico de Microbióloga, en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 22 de febrero de 2019

Bibiana Estefanía Salazar Costa

1723122113