

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Validación de la prueba CareStart™ para la detección de malaria
en la comunidad Cahaboncito, Panzós, Alta Verapaz**

Luz Elena Vásquez Pinto

Química Bióloga

INDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCION.....	2
III.	ANTECEDENTES	4
	A. Historia de la malaria.....	4
	B. Epidemiología.....	5
	C. Transmisión.....	6
	D. Ciclo vital del <i>Plasmodium</i>	6
	E. Manifestaciones clínicas.....	8
	F. Diagnóstico.....	9
	G. Tratamiento	15
	H. Prevención y control.....	16
	I. Malaria en Guatemala	17
IV.	JUSTIFICACIÓN	20
V.	OBJETIVOS	21
	A. General.....	21
	B. Específicos	21
VI.	HIPOTESIS	21
VII.	MATERIALES Y METODOS	22
	A. Muestra	22
	B. Materiales.....	23
	C. Métodos.....	23

D. Aspectos éticos de la investigación	25
VIII. RESULTADOS	26
IX. DISCUSIÓN.....	28
X. CONCLUSIONES.....	30
XI. RECOMENDACIONES	31
XII. REFERENCIAS.....	32
XIII. ANEXOS	37

Validación de la prueba CareStart™ para la detección de malaria en la comunidad Cahaboncito, Panzós, Alta Verapaz

I. RESUMEN

Las pruebas de diagnóstico rápido están siendo seleccionadas como una alternativa para mejorar los indicadores de diagnóstico y tratamiento oportuno de la malaria a nivel mundial (WHO , 2017). La mayoría de las pruebas recomendadas están basadas en la detección de los antígenos de los parásitos en pacientes infectados (World Health Organization, 2000). La prueba CareStart™ detecta cualitativamente la proteína rica en Histidina 2 (HRP2) para el diagnóstico diferencial de *Plasmodium falciparum* y la lactato deshidrogenasa parasitaria (pLDH) proteína común a *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. ovale*. Para la realización de este estudio, se llevo a cabo la evaluación de esta prueba rápida con el estándar de oro para el diagnóstico de malaria, la gota gruesa.

Se detectaron 7 casos de malaria en un total de 416 pruebas realizadas. Las 7 muestras dieron resultado positivo con la prueba rápida y la gota gruesa. La sensibilidad y especificidad para diagnóstico de malaria con la prueba CareStart™ fue de 100%; con valores predictivos positivo y negativo de 100%.

La prueba CareStar posee un grado de concordancia muy bueno con el estándar de oro, gota gruesa, para el diagnóstico de malaria en comunidades endémicas, con una prevalencia alta de la enfermedad como Cahaboncito, Panzos, Alta Verapaz

II. INTRODUCCION

La infección del ser humano por varias especies del género *Plasmodium* se denomina paludismo o malaria. La alta incidencia y gravedad de la esta enfermedad es la que la hace ser de impacto mundial, afectando a más de 100 países en todo el mundo, principalmente el África subsahariana, Centro y Sudamérica y Sudeste Asiático. El 40% de la población mundial vive en zonas de riesgo palúdico, lo que supone entre 300 y 500 millones de enfermos al año, de los cuales el 90% son niños menores de 5 años. Además, de entre los 25-30 millones de viajeros a países endémicos de malaria, unos 30.000 contraerán la enfermedad. (World Health Organization, 2014). Como reporte del año 2015, el recuento mundial alcanzó 212 millones de casos y 429,000 muertes; Guatemala, con una población en alto riesgo de 4,069,177 habitantes, reportó 5,538 casos. (WHO, 2016)

Las interacciones entre los protozoos del género *Plasmodium* y el hospedador constituyen un auténtico rompecabezas. Así, dependiendo de múltiples factores puede desarrollarse una forma clínica grave, una forma clínica no complicada o establecerse un estado de semi-inmunidad (habitualmente tras infecciones repetidas), propio de áreas endémicas. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010)

La falta de diagnóstico oportuno conlleva una importante morbilidad ya que propicia la transmisión. La detección rápida, accesible y con alta sensibilidad de la malaria desempeña una función importante para abordar y promover el uso racional de fármacos. Las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) ofrecen la posibilidad de proporcionar un diagnóstico alternativo a todas las poblaciones vulnerables, alcanzando a aquellas que no tienen acceso a servicios de microscopía de calidad. El éxito de las PDR en el control de la malaria dependerá de una planificación y ejecución de calidad. (WHO, 2011)

Las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria, detectan antígenos específicos (proteínas) producidos por los parásitos de malaria. Las PDR detectan los antígenos presentes en la sangre de las personas infectadas o recientemente infectadas y muestran su presencia mediante un cambio de color en una tira de nitrocelulosa absorbente. (OMS, 2006)

Se debe comprobar la sensibilidad y la especificidad de las PDR en un laboratorio central al recibirlas del fabricante, y regularmente a lo largo del período recomendado de duración máxima de conservación. El control de la sensibilidad a nivel periférico y la formación y supervisión adecuadas de los usuarios deben integrarse, en la medida de lo posible, a los programas de formación de los agentes de salud y de garantía de la calidad existentes. (WHO, 2011)

El objetivo de este estudio es validar la prueba “CareStart™” para la detección de malaria en una comunidad con prevalencia alta de la enfermedad y que tiene dificultad de acceso a un diagnóstico parasitológico microscópico oportuno (menos de 72 horas).

III. ANTECEDENTES

A. HISTORIA DE LA MALARIA

Es antigua la asociación de aguas estancadas con formas especiales de fiebre, las cuáles fueron descritas por Hipócrates (ca. 400 a. C.) en el libro “Las Epidemias”. Aulo Cornelio Celso (25-54 a. C.) en los “De Medicina” describe tres tipos de fiebre intermitentes, que hoy se sabe corresponden a enfermedades producidas por tres especies de parásitos distintos. Textos chinos recomendaban el uso de plantas como *Dichroa febrifuga* y *Artemisia annua* de la que en la actualidad se han derivado los antimaláricos más eficaces. (Nájera, González Bueno, & Baratas Díaz, 2009; Cunha & Cunha, 2008)

Charles Louis Alphonse Laveran (1745-1822), médico militar francés, en 1880 observó estructuras de carácter parasitario que interpretó como causantes de la enfermedad, los cuales fueron confirmados por un grupo de investigadores italianos dedicados al estudio de la patología y clínica de la enfermedad. Su trabajo fue reconocido con el Premio Nobel de Medicina en 1907. En 1897 el médico militar inglés Ronald Ross (1857-1932) realizando un trabajo sobre malaria aviar logró demostrar la participación del insecto como vector de la enfermedad. La claridad sobre el mecanismo de transmisión de la malaria, permitió el desarrollo de estrategias de lucha en respuesta a la enfermedad: acceso al diagnóstico y tratamiento, lucha antilarval, información y educación de la población así como el saneamiento ambiental. En 1955 la OMS asumió como objetivo principal una campaña mundial de erradicación, sin embargo barrera principalmente sociales, económicas y culturales impidieron que esta estrategia se desarrollara exitosamente en todos los países. (Nájera, González Bueno, & Baratas Díaz, 2009); (Zuckerberg & Barcat, 2007)

B. EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial se estima que 3.2 mil millones de personas están en riesgo de infectarse con malaria y desarrollar la enfermedad, y 1.2 mil millones están en un alto riesgo (probabilidad de >1 en 1000 de contraer malaria en un año). De acuerdo a las últimas estimaciones, ocurrieron 198 millones de casos de malaria en el 2013 y la enfermedad ocasionó 584 000 muertes. Se estima que en África ocurre un 90% de todas las muertes por malaria; niños menores de 5 años, representan el 78% de todas las muertes. (World Health Organization, 2014)

Existen cuatro patrones principales dentro de la epidemiología de la malaria: endémica, importada, introducida e inducida. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010) (INSPM, 2008)

1. Endémica.

Se caracteriza por la presencia de vectores eficaces y un elevado número de personas infectadas. *P. falciparum* se ha descrito en África, Latinoamérica, Asia y Pacífico; *P. ovale* sólo en África; *P. vivax* en latinoamerica, Asia y Turquía; *P. malariae* es de distribución cosmopolita y *P. knowlesi* se limita al Sudeste Asiático.

2. Importada.

Cuando la enfermedad es adquirida por vía vectorial en regiones endémicas y diagnosticada en zonas donde no hay casos autóctonos.

3. Introducida.

Es la aparición de la enfermedad en una zona no estaba reportada transmisión autóctona. Requiere de vectores eficaces y la presencia de personas infectadas. La relación entre cambio climático y malaria deja libre la posibilidad de la reemergencia de la enfermedad en zonas descritas libres de transmisión.

4. Inducida.

Formas de la enfermedad en que la transmisión no es vectorial (post-transfusional, drogas por vía parenteral, pinchazo accidental, diálisis o trasplantes, congénita). En estos casos el período de incubación es corto y no se generan hipnozoitos en aquellas especies con la capacidad de desarrollarlos.

C. TRANSMISIÓN

La malaria se transmite, en condiciones naturales, por la picadura de mosquitos hembra del género *Anopheles*. La transmisión depende de la intensidad y regularidad de los factores meteorológicos que favorecen la reproducción de los mosquitos vectores (temperatura, humedad y pluviosidad), la vulnerabilidad del huésped humano y del parásito infectante. Aunque la distribución de la enfermedad también coincide con regiones cuya situación socioeconómica e infraestructura sanitaria son precarias. (Fumado & Bassat, 2011)

Hay unas 20 especies diferentes de *Anopheles*, y las especies transmisoras de la malaria pican por la noche. Se crían en agua dulce de poca profundidad. La inmunidad humana es otro factor importante, la inmunidad se desarrolla a lo largo de años de exposición. (OMS, 2013)

Existen otros mecanismos de transmisión, como transfusión de productos sanguíneos que contengan parásitos, uso de jeringas infectadas, la vía vertical (madre-niño) y los trasplantes de órganos. (Purizaca-Benites, 2010)

Las especies de *Plasmodium* son estables en plasma y sangre completa durante, al menos, 18 días, si se almacenan a 4 °C y durante períodos prolongados en estado de congelación, logrando sobrevivir en los componentes criopreservados. Cualquier componente que contenga eritrocitos puede transmitir la infección de las formas asexuales intraeritrocitarias del parásito. (World Health Organization, 2010)

La malaria congénita se explica por el paso del parásito a través de la barrera placentaria, durante el embarazo o trabajo de parto; su frecuencia es 0,3 a 3,6% en hijos de mujeres con malaria gestacional, residentes en áreas de endemidad alta, y 10% en áreas de endemidad baja. (Purizaca-Benites, 2010)

D. CICLO VITAL DEL *PLASMODIUM*

Los *Plasmodium* pertenecen al filum *Apicomplexa*, que presentan 3 fases invasivas: merozoitos, oocinetos y esporozoitos. Un centenar de especies pertenecen al género *Plasmodium*, de ellas, cinco infectan al hombre: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y la última descrita *P. knowlesi*. El ciclo de vida del *Plasmodium* incluye dos hospederos, el vertebrado (fase asexual) y el mosquito (fase sexual). (White, 2008) (Castro R. & Rodriguez, 2008)

La fase asexual inicia tras la picadura del mosquito y la inoculación de esporozoitos al hospedero, éstos infectan las células hepáticas y maduran a esquizontes (5-15 días) cuya ruptura libera merozoitos. *P. vivax* y *P. ovale* pueden originar hipnozoitos, que pueden permanecer silentes durante largos periodos de tiempo (meses-años) y ser responsables de recidivas. Los merozoitos invaden los glóbulos rojos y se multiplican dentro de ellos durante 48-72 horas, con ciclos repetidos y a veces sincrónicos, pasando por fases de anillo, trofozoitos y esquizontes hemáticos. Dentro del eritrocito, los parásitos se encuentran en una vacuola parasitófora, donde pueden seguir dos vías de desarrollo: crecer y diferenciarse en esquizontes productores de nuevos merozoitos, que invaden a otros eritrocitos, o producir formas sexuales: gametocitos macho y hembra. El esporozoito tarda 15 minutos invadir el hepatocito; y un merozoito tarda 30 segundos en invadir un glóbulo rojo. (Castro R. & Rodriguez, 2008) (Centers for Disease Control and Prevention, 2016)

La fase sexual se inicia cuando el mosquito ingiere los parásitos que gracias a la temperatura y acidez, son liberados en su intestino medio o “estomago”, ahí los gametocitos hembra y macho se fusionan para formar un cigoto, que al madurar adquiere movilidad (oocineto), éste atraviesa el estómago del mosquito para formar una cápsula (ooquiste). Después de 8 a 15 días el ooquiste se rompe y libera los esporozoitos que viajan por el cuerpo del mosquito para llegar a las glándulas salivales, en donde el parásito madura. El ciclo continuo cuando el mosquito necesita alimentarse y pica a una persona sana. (CDC, 2016) (González López & de la Cruz Hernandez, 2017)

E. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas de la malaria son variadas y dependen de la epidemiología de la enfermedad, de la especie responsable y otros factores. Los datos clínicos clásicos son fiebre, dolor de cabeza, escalofríos y vómitos). (OPS/OMS, 2015)

1. Características clínicas comunes

El período de incubación, sin manifestación clínica, varía de 10 a 40 días según la especie. La rotura de glóbulos rojos saturados de parásitos y residuos tóxicos, además de la liberación de citosinas (respuesta leucocitaria) desencadenan los síntomas. El acceso palúdico inicia con escalofríos, seguido de aumento de la temperatura corporal, malestar profundo con dolor de cuerpo, luego sudación y al final apirexia; el ritmo de esos accesos dependiendo de la especie adopta patrones de cada 2 o 3 días; debe destacarse es que aunque la presencia de fiebre es característica de la malaria su ausencia no la descarta. *P. falciparum* ocasiona una hemólisis más intensa y puede producir anemia. La esplenomegalia es de desarrollo progresivo, frecuente en áreas endémicas tras episodios repetidos. La ictericia puede aparecer en todos los tipos de malaria. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010) (INSPM, 2008)

2. Características diferenciales

Según epidemiología. En áreas endémicas los niños suelen presentar esplenomegalia y cuadro febril menos intenso incluso ausente, sin embargo en algunos casos las infecciones son graves. La malaria importada presenta un cuadro clínico más floridos, y en ocasiones con manifestaciones atípicas (diarrea, tos, vomitos) (Gancedo-García, 2014). Se debe sospechar malaria en cualquier paciente con fiebre o historia de fiebre, que haya visitado una región tropical, haya o no tomado tratamiento profilaxico, incluso si tiene otra enfermedad que explique la fiebre. (Rivas González, 2012)

Según especie de *Plasmodium* responsable. *P. falciparum* promueve los fenómenos de citoadherencia (capacidad de exportar proteínas parasitarias –knobs- a la superficie del glóbulo infectado), y roseteo, responsables de las formas de malaria grave; no genera hipnozoitos; puede presentar alta parasitemia (mayor producción de merozoitos e invasión de glóbulos jóvenes y maduros), anemia grave, distrés respiratorio del adulto, malaria cerebral. *P. vivax* y *P. ovale* presentan un período de incubación más largo con manifestaciones clínicas más leves. La patogenia de malaria grave por *P. vivax* no se debe a citoadherencia, sino a hiperproducción de citocinas. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010) (Vásquez & Tobón, 2012)

3. Criterios de gravedad

Malaria complicada. Implica la existencia de otro proceso asociado que puede llevar a una evolución fatal, a pesar de un correcto tratamiento de malaria (infecciones, perforación intestinal, rotura de bazo, leucocitosis).

Malaria grave. Depende directamente de la infección protozoaria y/o de la respuesta inflamatoria a la misma. Los agentes causales en forma descendente de frecuencia *P. falciparum*, *P. vivax*, y *P. knowlesi*. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010). La definición de malaria grave se basa en un diagnóstico parasitológico positivo para *P. falciparum* asociado por lo menos a un criterio de gravedad según la OMS de 2000. Entre los criterios de gravedad, los más pertinentes son la implicación neurológica, las fallas hemodinámicas y respiratorias, acidosis metabólica y la hiperlactatemia. La pertinencia de la parasitemia aún se discute. (Bruneel, 2009)

F. DIAGNÓSTICO

Los métodos más utilizados para el diagnóstico de la malaria, pueden dividirse en tres tipos: diagnóstico directo (macroscópico, microscópico), detección antigénica,

y estudios serológicos. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010) (García Lopez, Fumado Perez, & González Tomé, 2012)

La OMS recomienda la confirmación parasitológica previa al uso de cualquier antipalúdico, para evitar tratamientos presuntivos o automedicación que son factores determinantes para la aparición de resistencias. (Lanaspa, Renom, & Bassat, 2010)

1. Diagnóstico directo

El examen microscópico de la sangre de pacientes en gota gruesa es el método más empleado por los programas de malaria, es considerado como el estándar de oro de la sensibilidad y especificidad de otros métodos diagnósticos. (González-Cerón, Rodriguez, Betanzos, & Abadía, 2005)

Comprende la visualización de las diferentes formas del parasito, mediante el uso de microscopia óptica de una muestra sanguínea. Las dos técnicas más utilizadas son la gota gruesa y el frotis, generalmente teñido con giemsa. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010). La tinción de giemsa permite observar las marcas de Shüffner típicas de la infección por *P. vivax*. (Castro-Sancho, Munguía-Ramirez, & Ávila-Agüero, 2002)

Ventajas. Sensibilidad 50 a 100 parásitos/ml de sangre; brinda información sobre especie(s) y estadio(s) del parasito circulante, pueden detectarse alteraciones morfológicas inducidas por medicamentos, también puede cuantificarse la densidad necesaria para la determinación de hiperparasitema asociada a la gravedad de la infección y/o para monitorear la respuesta al tratamiento. Es relativamente barata US\$ 0.12 a US\$ 0.40 por muestra. La técnica de diagnóstico puede ser aprovechada para el diagnóstico de otras enfermedades (tuberculosis). (WHO, 2000)

Desventajas. Requiere de un tiempo de 60 minutos aproximado para el diagnóstico de una muestra; depende de técnicas, reactivos y microscopios de calidad, además de electricidad y equipo, así como de un técnico altamente capacitado. (WHO, 2000)

2. Detección antigénica (PDR)

Pruebas de diagnóstico rápido (PDR). Basados en la detección de antígenos de los parásitos, usando métodos inmunocromatograficos, sensibles de 100 a 500 parásitos/ul de sangre. Los antígenos actualmente disponibles son (Kundu, Ganguly, & Ghosh, 2009):

HRP-II, Proteína rica en Histidina 2 (estructural) producida por estadíos sexuales y gametocitos jóvenes de *P. falciparum*.

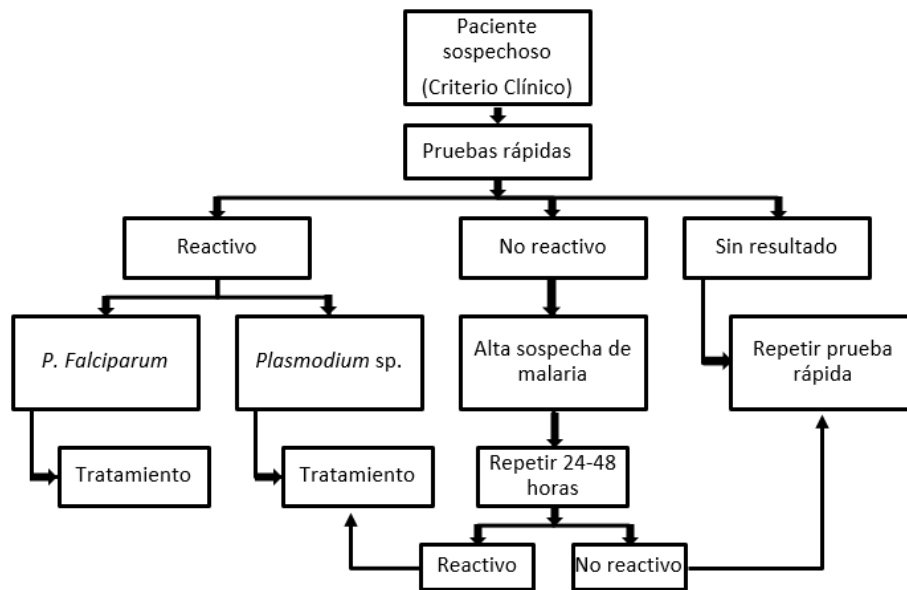
pLDH, pan Lactato deshidrogenasa del parásito, enzima producida por estadíos sexuales y asexuales de las cuatro especies de parásito conocidas, generalmente conocida por “pan” antígeno específico. Expresada solo por parásitos vivos.

Pan-Aldolasa, algunos kits nuevos incluyen la detección de aldolasa producida por las cuatro especies.

Utilidad. El uso de las PDR's de malaria está indicado con la finalidad de mejorar los indicadores de diagnóstico y tratamiento oportuno. La OMS recomienda para vigilancia pasiva como diagnóstico en sitios de toma de muestra distantes de un centro de microscopía, y como diagnóstico fuera de horaria en laboratorios de primer y segundo nivel de atención. Para actividades de vigilancia activa se recomiendan como diagnóstico remoto en personal laboral organizado (militares, mineras) en zonas endémicas, con población migrante, y en la investigación de brotes y estudios de prevalencia. (OMS, 2006)

Interpretación de resultados. Como cualquier prueba de diagnóstico, la PDR depende de la atención y pericia con la que se prepara e interpreta. Un resultado negativo, no siempre descarta con certeza la malaria ya que los parásitos pueden ser insuficientes para evidenciar un resultado positivo o la prueba puede estar dañada. Un resultado positivo no siempre implica la existencia de malaria, porque pueden detectarse los antígenos de parásitos muertos, o existen en la sangre algunas otras sustancias que pueden producir un falso positivo. (OMS, 2006)

El Laboratorio Nacional de Salud recomienda un algoritmo de uso en Guatemala:



(LNS, 2008)

Ventajas. No se necesita de un técnico altamente capacitado, ni equipos sofisticados, tampoco energía eléctrica; el resultado del diagnóstico se obtiene más rápido. Son capaces de detectar *P. falciparum* aun cuando los parásitos son secuestrados por la microvasculatura. (Kundu, Ganguly, & Ghosh, 2009)

Desventajas. Presentan una baja sensibilidad con bajas parasitemias, no permiten evaluar el grado de parasitemias, y no permiten valorar la existencia de parasitemias mixtas; puede presentar resultados falsos positivos cuando solo hay estadios sexuales. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010). Su costo respecto a lo reportado para la microscopía es elevado (US\$ 0.60 a US\$ 2.5), dado que la detección de antígenos parasitarios persiste durante algunos días, incluso después del tratamiento adecuado, estos test tienen el inconveniente que no puede ser usados para evaluar la respuesta al tratamiento. (WHO, 2000)

CareStart™. Es una prueba combo que detecta cualitativamente la proteína rica en Histidina 2 (HRP2) y la lactato deshidrogenasa parasitaria (pLDH) en sangre. Está diseñada para el diagnóstico diferencial entre *Plasmodium falciparum* y otras especies de *Plasmodium*. Contiene un tira de membrana, la cual ha sido cubierta con dos anticuerpos monoclonales como dos líneas separadas. Un anticuerpo monoclonal (línea de prueba 2) es específico al pLDH de las especies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) y la otra línea consiste de un anticuerpo monoclonal específico a la proteína rica en Histidina 2 (HRP2) de las especies de *Plasmodium falciparum*. El cojín del conjugado se dispensa con anticuerpos monoclonales, los cuales son específicos a las proteínas parasitarias. Limitaciones e interferencias. Los anticoagulantes, como la heparina, EDTA y citrato no afectan el resultado de estas pruebas.

Las características del desenvolvimiento, según el fabricante: Muestra confirmada positiva a *P. vivax* mostró sensibilidad de 96%, 98% de sensibilidad para la detección de infecciones por *P. falciparum* y 97.5% de sensibilidad en muestra humana al azar. La precisión fue determinada empleando 10 réplicas de tres muestras dando una concordancia de 100% entre los resultados de la prueba y los esperados.

Un estudio realizado con 590 muestras de pacientes viajeros sospechosos de malaria en Belgica, concluyó que la sensibilidad general para la detección de *P. falciparum* es de 88.8% mientras que en un 77.6% para *P. vivax*; los resultados de la PDR fueron comparados contra microscopia corregida por PCR como método de referencia (índice de Kappa >0.81) (Maltha, y otros, 2010)

En Etiopia, otro estudio tuvo como resultado de una sensibilidad y especificidad general de 95% y 94.2% respectivamente, al comparar muestras de 254 pacientes con sospecha de malaria diagnosticados mediante microscopia y esta PDR (índice de Kappa 0.918). (Moges, y otros, 2012)

En Guatemala, está documentado el uso de la prueba Optimal IT “Diamed” con especificidad de 97.3 – 99% y sensibilidad de 90.5 – 92.0%. (LNS, 2008). Sin embargo no hay documentación que respalde la sensibilidad y especificidad de CareStart™ en el país.

3. Otras técnicas

Microscopía utilizando la tinción fluorescente con naranja de acridina, detecta parásitos en sangre periférica. Puede ser un método más rápido que la gota gruesa. (Castro-Sancho, Munguía-Ramirez, & Ávila-Agüero, 2002). Es más costoso y requiere de más equipo e insumos (centrifuga, tubos de centrifuga, fuentes de luz y filtros especiales). (WHO, 2000)

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa, utilizado cuando la parasitemia no es detectable por métodos convencionales, y también para el diagnóstico de infecciones mixtas. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010). Más sensible y específica que cualquier otra técnica, sin embargo el procedimiento es complejo y tardado, además necesita de condiciones de laboratorio y equipo sofisticados. (WHO, 2000). El método más sensible es *nested-PCR* que tiene un umbral de detección de 1 parásito/ul de sangre, ha permitido demostrar que la prevalencia de infecciones mixtas y asintomáticas es superior que la detectada mediante microscopía. Se han realizado varias modificaciones las cuales permiten detectar ADN de *P. falciparum* en orina y saliva. Con el fin de tener un método cuantitativo se han desarrollado métodos basados en la amplificación de secuencias de ácidos nucleicos del gen SSUrRNA (QT-NASBA en tiempo real). (Borrás Salvador, Cuenca-Estrella, Domínguez Márquez, & Gironés, 2008)

Detección de anticuerpos. Existen varias pruebas serológicas que permiten la detección de anticuerpos frente a *Plasmodium* spp. Ninguna de ellas es útil en el diagnóstico de la enfermedad ni en la identificación del agente causal. Su principal valor consiste en descartar en viajeros o expatriados con historia de fiebre por malaria la infección por este protozoo. (Pérez-Arellano, Carranza-Rodriguez, Rojas, & Muro, 2010)

G. TRATAMIENTO

El tratamiento de la malaria no complicada tiene tres objetivos: salvar la vida, reducir la posibilidad de desarrollar complicaciones, lograr una rápida y sostenida eliminación de parásito en sangre y de sus síntomas mediante una sola dosis o con un ciclo corto de tratamiento. El tratamiento adecuado depende de la especie del parásito, zona de procedencia, estado clínico y criterios de gravedad en el paciente. (García Lopez, Fumado Perez, & González Tomé, 2012)

Las recomendaciones de OMS para el tratamiento del paludismo (2010) por *P. vivax*, la cloroquina sigue siendo el fármaco de elección (en países donde no se han detectado resistencia). Para *P. falciparum*, siempre es necesario completar el tratamiento con un fármaco hipnozoitocida, para evitar recaídas secundarias a los estadios durmientes intrahepáticos, el único fármaco disponible es la primaquina (PQ) que tiene peligrosos efectos hemolíticos en aquellos pacientes con déficit de la enzima G6PDH. Como alternativa, se halla en avanzado estado de desarrollo la tafenoquina, con actividad similar a la primaquina pero con una acción mucho más rápida (3 días en lugar de 14 con PQ). (Lanaspa, Renom, & Bassat, 2010). El tratamiento de la malaria grave, se ha basado fundamentalmente en el uso de la quinina parenteral, complementada siempre por un segundo fármaco antimalárico. (Fumado & Bassat, 2011)

1. Tratamiento de las complicaciones de malaria

La OMS aconseja realización de exanguinotransfusión en el caso de parasitemias elevadas y persistentes (>20%) en un paciente sintomático, en el que se haya iniciado en las 24 h previas quimioterapia antimalárica correcta sin objetivar mejoría. ET debe restringirse únicamente a hospitales y países desarrollados con unidades de cuidados intensivos. Para malaria cerebral utilizar tratamiento anticonvulsivo. Las benzodiacepinas pueden también emplearse en el manejo inicial de estos pacientes (monitorear depresión respiratoria). No se aconseja el uso de corticoides como medida antiedema. (Fumado & Bassat, 2011) (OMS, 2012)

2. Pautas nacionales

En Guatemala, las normas de atención indican que para el tratamiento de *P. vivax* el esquema es de 3 días con CQ y 14 días con PQ, y para *P. falciparum* el esquema es de 3 días con CQ; toda vez que la muestra haya sido confirmada microscópicamente. (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2010) (Anexo 1).

1. Seguimiento con control de gota gruesa

En caso *Plasmodium falciparum*, realizar gota gruesa al día 4 y 14 post tratamiento. En caso de *Plasmodium vivax*, realizar gota gruesa al día 15 y 28 post tratamiento.

2. Recomendaciones

Vigila la adherencia al tratamiento para asegurar la cura radical del paciente.

En malaria asociada (presenta las 2 clases de *Plasmodium*) trate con el esquema de *Plasmodium vivax* (14 días), dando prioridad al *Plasmodium falciparum* (vigilar que se elimine el *P. falciparum*).

Refiera en caso de sospecha de malaria complicada o severa, criterios de referencia por sospecha de malaria complicada o severa:

Todo paciente con diagnóstico sospechoso o confirmado de malaria, especialmente a *Plasmodium falciparum*, que no tiene mejoría en dos días de tratamiento.

Cualquier síntoma del sistema nervioso central, postración, ictericia, parasitemia elevada.

H. PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención de la malaria plantea diferentes problemas dependiendo del contexto en el que se apliquen las diferentes estrategias. Actualmente, las estrategias utilizadas para luchar contra el paludismo se centran en un diagnóstico precoz, el

tratamiento de los episodios agudos y la prevención de nuevos casos. (Lanaspa, Renom, & Bassat, 2010)

Los métodos preventivos disponibles actualmente se basan en el control vectorial, e incluyen el uso de redes mosquiteras impregnadas de insecticida de larga duración, rociamiento intradomiciliario con insecticidas y el uso de larvicidas y otras medidas medioambientales para evitar la proliferación de mosquitos en aguas estancadas. (Lanaspa, Renom, & Bassat, 2010). La OMS presenta el ABCD de la prevención de malaria en el viajero. ABCD: (A) Ser consciente de los riesgos, clasificando a los países según la sensibilidad de los parásitos a los fármacos. (B) Evitar picaduras de mosquitos. (C) Emplear quimioprofilaxis. (D) Buscar atención inmediata en caso de fiebre durante o después del viaje. (Lanaspa, Renom, & Bassat, 2010)

Respecto a una vacuna contra la malaria, en octubre de 2004 se publicaron los resultados preliminares de un ensayo doble ciego, realizado en un grupo de 2,022 niños de Mozambique, con 3 dosis de una vacuna preeritrocitaria que contiene un antígeno de superficie del circunsporozoíto de *P. falciparum*. A los 6 meses objetivaron una eficacia que osciló entre un 57,7 y un 45%, según los grupos de edad. (Alonso, y otros, 2004). El Dr. Manuel Elkin Patarroyo actualmente está en el desarrollo de una vacuna química que ha sido probada en monos de la Amazonía. Según las pruebas, esta vacuna ha sido efectiva con estos animales, sin embargo aún hacen falta investigaciones para poder utilizarla en humanos (Jiménez, 2014).

I. MALARIA EN GUATEMALA

Según el Informe Mundial sobre el Paludismo 2012, Guatemala tiene el segundo número más alto de los casos de malaria en América Central después de Honduras. En 2015, hubo un total de 5,538 casos de malaria confirmados. (WHO, 2016)

Durante la última década, ha habido reducciones en la morbilidad por malaria y mortalidad. La incidencia de casos confirmados de malaria en Guatemala se ha reducido en más de 87% en comparación con el año 2000, la malaria por *P. vivax* se redujo en un 85% y por *P. falciparum* disminuyó en un 95%. Desde 2008, no ha habido muertes por malaria reportados en el país, y el número de casos en los últimos cinco años se ha mantenido relativamente estable.

La malaria en Guatemala no se transmite de manera uniforme en todo el país. En 2012 el 83% de todos los casos confirmados de malaria fueron reportados en sólo 5 de los 27 departamentos del país. De estos cinco, Escuintla fue responsable de 41% los casos y del 100% de todos los casos de *P. falciparum*. Cerca de 100% de sospechoso casos se confirman parasitológicamente, y todos los casos confirmados son tratados con cloroquina y primaquina. La tasa de positividad de muestras tomadas ha sido de aproximadamente 5% desde 2008.

Aproximadamente el 45 % de la población de Guatemala está en riesgo de malaria, con el 26% se considera de alto riesgo. Los grupos de riesgo incluyen a mujeres embarazadas, niños menores de cinco años, migrantes agrícolas y todas las personas que viven en los departamentos endémicos de malaria. Hombres y mujeres son casi igualmente afectados por la malaria en Guatemala con el 53 % de los casos reportado en los hombres y 47 % en mujeres en 2011.

Actualmente el Fondo Mundial brinda apoyo al país a través de la Iniciativa multisectorial para implementar y consolidar las estrategias de prevención y control para la pre-eliminación de la malaria en Guatemala cuya meta principal es contribuir al logro de los objetivos de desarrollo del milenio. Las principales estrategias de esta subvención son ampliación de la prevención y el control selectivo de la malaria (distribución de mosquiteros tratados con insecticida y control de criaderos), fortalecimiento del sistema de vigilancia epidemiológica, fomento de la participación de la sociedad civil en la promoción, prevención, seguimiento y control de la enfermedad, mejora del acceso al diagnóstico precoz (implementación de centros periféricos de microscopía) y el aseguramiento del tratamiento oportuno y

fortalecimiento de la capacidad técnica y de gestión de los centros de salud locales.
(The Global Found, 2012)

En línea con el apoyo del Fondo Mundial para la Iniciativa contra la Malaria Regional para la Eliminación de la Malaria en Mesoamérica (EMMIE), Guatemala está reorientando su estrategia de malaria hacia la eliminación.

IV. JUSTIFICACIÓN

La gota gruesa es el Estándar de Oro para el diagnóstico de malaria, sin embargo las pruebas de diagnóstico rápido han surgido como una opción para su uso, principalmente en lugares postergados, acortando los tiempos de diagnóstico y tratamiento a los casos detectados. Para tener una utilidad extendida, una prueba de diagnóstico rápido debe tener sensibilidad, especificidad y estabilidad altas. (WHO, 2011)

La OMS presenta informes periódicos del desempeño *in vitro* de estas pruebas, como un filtro para que los países puedan elegir a conveniencia según sus necesidades. Sin embargo no hay datos documentados sobre su uso y resultados en Guatemala que demuestren el desempeño de esta prueba.

Durante el 2015 se detectaron 5538 casos de malaria en Guatemala, de los cuales 796 corresponden al área de salud de Alta Verapaz. La región del río Polochic, representa el 9% de la malaria de todo el país. A nivel nacional, el porcentaje de casos diagnosticados oportunamente es de 75%, y solo en Alta Verapaz se reporta un 64% de casos tratados según las pautas nacionales (menos de 72 horas). La demografía del departamento, entre otras características, hace que la cobertura de los centros de microscopía no sea óptima para brindar un diagnóstico oportuno. (PNETV , 2016)

La validación de esta prueba permitirá conocer los parámetros de sensibilidad y especificidad en campo, así como sus características de equivalencia respecto a la gota gruesa; además los resultados obtenidos como respaldo en la documentación del proceso rumbo a la pre-eliminación de la malaria en el país

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

Validar la prueba “CareStart™” para la detección de malaria en la comunidad de Cahaboncito, Panzos, Alta Verapaz.

B. ESPECÍFICOS

1. Determinar la exactitud (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo) de la prueba “CareStart™”, comparada con el estándar de oro gota gruesa.
2. Determinar la precisión de la prueba, estableciendo concordancia entre esta y la gota gruesa.
3. Determinar las características de equivalencia de la prueba con respecto a la gota gruesa (incluyendo tiempo de realización, los costos, el equipo necesario y la necesidad de capacitación del personal).

VI. HIPOTESIS

Debido a que éste es un estudio de tipo descriptivo, no aplica enunciar una hipótesis.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. MUESTRA

1. Universo

Todas las pruebas rápidas de malaria “Care Start™” disponibles para uso en el país.

2. Muestra

Pruebas rápidas de malaria “Care Start™” en Alta Verapaz

3. Tamaño de la muestra

400 Pruebas rápidas de malaria “Care Start™”

4. Diseño de muestreo

Para la validación de las pruebas, se realizará un muestreo en la comunidad Cahaboncito, Panzos, Alta Verapaz que tiene una población de 3,525 habitantes; con 530 casas

Prevalencia 2014 de 3.6% (127 casos/3,525 hab. * 100)

Nivel de confianza de 95%

Tamaño de muestra: se muestreará hasta completar como mínimo 400 muestras.

5. Criterio de inclusión

Se incluirán dentro del estudio a todos los pacientes de casas malaricas (historia de malaria de 3 años), y a todos los convivientes. Todo aquel que desee participar firmará un consentimiento informado.

B. MATERIALES

1. Equipo

Microscopio

Computadora

2. Insumos

200 Kit de pruebas de diagnóstico rápido de malaria “Care Start™, que incluye lanceta, algodón con alcohol, buffer, cassette y pipeta.

Laminillas portaobjetos

Cajas portalaminillas

Formularios de solicitud de muestra

Marcador permanente

Lápiz

3. Reactivos

Colorante Giemsa

Aceite de inmersión

Agua destilada

C. MÉTODOS

1. Diseño de la investigación

Descriptivo, prospectivo, de evaluación de método por sistema simple ciego.

2. Selección de pacientes

Con el croquis actualizado de la comunidad, se seleccionarán viviendas al azar. Se visitará cada una de las casas seleccionadas hasta completar 400 muestras. Todo

residente que esté de acuerdo en participar, firmará el consentimiento informado (anexo 2).

3. Obtención de muestras de sangre

Se tomarán los datos del paciente en una boleta de solicitud de examen para malaria, formulario E-1 del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, que recolecta la siguiente información: edad, sexo, si está o no embarazada, dirección, fecha de inicio de síntomas, fecha de toma de muestra, tratamiento presuntivo, nombre del notificante; al reverso de dicho formulario debe registrarse los resultados del examen y el tratamiento administrado al paciente (anexo 3).

Se obtendrá una muestra de sangre capilar para la realización de gota gruesa (según la normativa del país en el manual de normas y procedimientos para el diagnóstico de malaria) de igual manera para la realización de la prueba rápida en cada paciente según las normas del fabricante incluidas en el inserto de la prueba (anexo 4).

4. Procedimiento para la realización de la gota gruesa

Preparar el material. Formulario de solicitud de examen, alcohol, algodón, lancetas, laminillas portaobjetos, guantes, lápiz.

Preparación del paciente. Explicar al paciente el procedimiento que se realizará.

Seleccionar el área de punción. Generalmente la parte lateral de la yema del dedo anular de la mano izquierda. En los bebés puede utilizarse el dedo gordo del pie o el talón y también puede usarse el lóbulo de la oreja.

Realizar la punción capilar. Limpiar el dedo con una torunda de algodón con alcohol, dejar salir 3 gotas de sangre y removerlas con algodón seco, colocar dos gotas de sangre sobre el portaobjetos separadas de 2 cm.

Realizar gota gruesa. Esparcir rápidamente la gota de sangre y extenderla uniformemente hasta tener una gota gruesa de 1 cm de diámetro.

Realizar frotis. Deslizado el extensor a lo largo de la laminilla portaobjetos con cuidado de no mezclar con la gota gruesa.

Identificar las muestras en la parte gruesa del frotis.

5. Procedimiento para la realización de la prueba rápida.

Revisión de kit debe incluir: cassette, pipeta, lanceta, almohadilla con alcohol, buffer.

Rotular el cassette.

Hacer punción capilar.

Colectar muestra de sangre con pipeta hasta la línea guía (5uL).

Agregar 5 uL de sangre en el pozo de la muestra "S".

Girar y jalar el tapón para abrir el buffer de ensayo.

Agregar 3 gotas de buffer con presión en el pozo de buffer "A".

Inicie el conteo del tiempo, 20 minutos.

Lea el resultado en 20 minutos.

6. Control de calidad del diagnóstico microscópico

Las gotas gruesas serán procesadas y analizadas en un laboratorio cercano certificado por el LNS para el diagnóstico microscópico de malaria, en donde se desconocerán los resultados obtenidos en pruebas rápidas (simple ciego), su diagnóstico será sometido a control de calidad en el LNS, el cual consiste en la revisión del 100% de muestras positivas y el 10% de muestras negativas.

D. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

Todo residente que esté de acuerdo en participar, firmará el consentimiento informado; casos mayores de 5 años pero menores de 18 años darán su asentimiento y el padre, madre o tutor firmará el consentimiento (anexo 2).

Se notificará a las autoridades locales de salud sobre los casos positivos confirmados con gota gruesa para que se inicie el tratamiento de los pacientes.

VIII. RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 416 muestras tomadas al azar en la comunidad de Cahaboncito, Panzos, Alta Verapaz, durante un periodo comprendido de enero a marzo 2017. Las 416 muestras fueron observadas por gota gruesa y prueba rápida, 7 fueron positivas (1.7%) y 409 negativas (98.3%) por los dos métodos (Tabla 1). Todas las muestras fueron analizadas en el laboratorio de la comunidad y sometidas posteriormente a su respectivo control de calidad.

Tabla 1. Comparación del diagnóstico obtenido por gota gruesa y prueba rápida.

Gota Gruesa		
Prueba rápida	Positivo	Negativo
Positivas	7 (1.7%)	0
Negativas	0	409 (98.3%)

La sensibilidad de la prueba fue de 100% (IC 95%: 92.86 – 100) y la especificidad fue de 100% (IC 95%: 99.89 – 100). Entre el estándar de oro y la prueba rápida evaluada se obtuvo una concordancia casi perfecta (McHugh, 2012); un valor predictivo positivo de 100% (IC 95%: 99.89 - 100) y un valor predictivo negativo de 100% (IC 95%: 99.89 – 100). En la Tabla 2 se encuentran los valores obtenidos con EpiDAT 3.1.

Tabla 2. Evaluación de la exactitud y fiabilidad de las prueba en estudio (N=416)

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad	100.00	92.86	100.00
Especificidad	100.00	99.89	100.00
Valor predictivo positivo	100.00	99.89	100.00
Valor predictivo negativo	100.00	99.89	100.00

Datos obtenidos con EpiDAT versión 3.1

En cuanto al tiempo de realización de las pruebas, desde la toma de muestra a la obtención del resultado, para la prueba rápida fueron de 20 a 25 minutos y para la gota gruesa 30 a 40 minutos desde la toma de muestra (no se ha tomado en cuenta tiempos de traslado de muestra). El costo por examen de la prueba rápida fue aproximadamente de Q2.70 a Q3.00, mientras que de la gota gruesa se encontraba en un rango de Q1.60 a Q2.00; datos según cotizaciones, (para la prueba rápida no se han incluido los costos indirectos de envío y seguro). La realización de la prueba rápida no necesitó de ningún equipo, el análisis de la gota gruesa requirió de un microscopio con objetivo de inmersión (100X) en buen estado. La capacitación para el procedimiento e interpretación de esta prueba rápida se lleva a cabo en un día; en Cahaboncito, se han capacitado a trabajadores de salud varios e incluso personal comunitario para llevar a cabo pruebas rápidas. La capacitación para un microscopista requiere por lo menos 3 meses, en el entendido que el personal a especializar ya sea un técnico de laboratorio.

En la Tabla 3 se menciona una comparación entre las características de la prueba rápida CareStart™ con el estándar de oro gota gruesa.

Tabla 3. Características de equivalencia de la prueba rápida respecto a la gota gruesa

	Gota Gruesa	Prueba Rápida Care Start™
Tiempo de realización	30 – 40 minutos	20 - 25 minutos
Costos	Q1.60 – Q2.00	Q2.70 – Q3.00
Equipo necesario	Microscopio	Ninguno
Capacitación del personal	1 a 3 meses	1 día

IX. DISCUSIÓN

Care Start™ Malaria Combo PAN/Pf fue una prueba confiable para el diagnóstico de malaria, según los resultados obtenidos tiene altos valores de sensibilidad y especificidad. A pesar de diversos estudios internacionales, a nivel de país aún existe incertidumbre, especialmente respecto a la sensibilidad de las pruebas rápidas, pues en la literatura se estima el límite de detección alrededor de 100 parásitos/ul (World Health Organization, 2000).

Los resultados del diagnóstico por la prueba rápida y la gota gruesa obtenidos en este estudio son altamente comparables, con especificidad y sensibilidad general del 100%, que se acerca a lo reportado en otros estudios (Maltha, y otros, 2010) y (Moges, y otros, 2012).

Las pruebas rápidas Care Start™ utilizadas en el muestreo realizado en Cahaboncito contaban con instrucciones precisas y fáciles de realizar e interpretar, no se obtuvo ningún diagnóstico indefinido por lo que puede decirse que su desempeño en campo fue bueno. Las pruebas de diagnóstico deben tener un buen desempeño en campo, y buenos niveles de sensibilidad y especificidad, fácil de realizar, económica; características que la gota gruesa cumple, por lo que continúa siendo el estándar de oro para el diagnóstico de malaria, sin embargo, presenta la desventaja de requerir de un recurso humano altamente calificado y un microscopio en buen estado (Arróspide V, Flores P, & Ruíz C, 2006).

El uso adecuado de las pruebas de diagnóstico rápido pueden ayudar a mejorar la cobertura del diagnóstico de malaria, y contribuir a tener un mejor control del tratamiento antimalárico, disminuyendo la automedicación y tratamientos presuntivos, además permite la detección oportuna de casos, que es determinante en la transmisión de la enfermedad (Cabezas, y otros, 2004). No obstante los costos son un dato importante a considerar antes de incluirlas en los programas de atención. Según esta investigación, el costo de la prueba rápida fue más alto que el de la gota gruesa, aunque en caso de la microscopia no se están considerando costos de infraestructura, mantenimiento de equipo.

Care Start™ para el diagnóstico de malaria se ha distribuido a todos los departamentos del país como una opción para mejorar los indicadores de diagnóstico oportuno, diagnóstico antes de 72 horas de tomada la muestra (MSPAS, 2010). Se ha documentado que las condiciones de almacenamiento y transporte podrían afectar el rendimiento de las pruebas rápidas, su calidad puede ser de bajo rendimiento cuando están expuestas al calor y humedad (Endeshaw, y otros, 2008), por lo que durante este estudio se verificó que el transporte, almacenaje y estado en general de las pruebas utilizadas fuera adecuado (OMS, 2006).

Se recomienda realizar estudios que evalúen si el uso de estas pruebas en los programas nacionales de malaria es costo efectivo, especialmente por las metodologías utilizadas en los estudios de tamizaje como parte de la vigilancia epidemiológica activa, donde son utilizadas en par con la gota gruesa, además es necesario establecer directrices oficiales para su uso y reporte.

Este estudio muestra que la prueba CareStart™ tiene una concordancia casi perfecta frente a la microscopía en una comunidad endémica de malaria, lo que podría proporcionar una base para establecer una normativa para su uso comunitario en el país.

X. CONCLUSIONES

1. El grado de concordancia entre la prueba rápida CareStart™ y la gota gruesa fue casi perfecto.
2. La sensibilidad de la prueba rápida CareStart™ en este estudio fue de 100% (IC 95%: 92.86 – 100). La especificidad de la prueba rápida CareStar™ fue de 100% (IC 95%: 99.89 – 100). El valor predictivo positivo y negativo fueron de 100% (IC 95%: 99.89 - 100).
3. Las ventajas de la prueba rápida respecto de la gota gruesa fueron que no necesita equipos y que es de fácil ejecución e interpretación. Las desventajas de la prueba rápida respecto de la gota gruesa son que su costo es más elevado, su efectividad depende de la garantía en el transporte y almacenamiento de las mismas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Utilizar la prueba rápida CareStart™ como una alternativa para diagnosticar de manera oportuna casos de malaria en comunidades de difícil acceso.
2. Para un desempeño óptimo, garantizar las condiciones adecuadas de transporte y almacenamiento de la pruebas en todos los niveles de distribución.
3. Realizar estudios en comunidades con baja prevalencia de la enfermedad para determinar los alcances de la prueba en estas poblaciones.

XII. REFERENCIAS

- Alonso, P., Sacarlat, J., Aponte, J., Leach, A., Macete, E., & Milman, J. (2004). Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial. *Lancet*, 1411-1420.
- Arróspide V, N., Flores P, R., & Ruíz C, J. (2006). Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de malaria en áreas endémicas del Perú. *Peru Salud Publica*, 81-86.
- Borrás Salvador, R., Cuenca-Estrella, M., Domínguez Márquez, M., & Gironés, I. G. (2008). El diagnóstico molecular en la infecciones parasitarias y fúngicas. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*, 50-57.
- Bruneel, F. (2009). Malaria grave. *Elsevier Masson SAAS, Paris*, 1-15.
- Cabezas, C., Arróspide V, N., Marquiño Q, W., Gutierrez S, S., Álvarez M, E., Chuquipiondo R, J., . . . Chuquipiondo L, G. (2004). Evaluación del uso de una prueba rápida inmunocromatográfica en promotores de salud para el diagnóstico de la malaria en areas rurales de la Amazonia Peruana. *Peru Salud Pública*, 4-11.
- Castro R., I., & Rodriguez, M. (2008). Análisis proteómico de *Plasmodium*, el agente causal de la malaria. *Salud Pública de México*, S395-S402.
- Castro-Sancho, J., Munguía-Ramirez, M., & Ávila-Agüero, M. (2002). Malaria: una actualización. *Acta Médica Costarricense*, 107-112.
- Centers for Disease Control and Prevention. (3 de Mayo de 2016). *Centers for Disease Control and Prevention*. Obtenido de DPDx - Laboratory Identification

of Parasitic Diseases of Public Health Concern:
<https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/>

Cunha, C., & Cunha, B. (2008). Brief history of the clinical diagnosis of malaria: from Hippocrates to Osler. *Journal of vector borne diseases*, 194-199.

Díaz , S., & Lorenzana, R. (2011). *Protocolo genérico de verificación de pruebas rápidas en el Laboratorio Nacional de Salud*. Guatemala.

Endeshaw, T., Gebre, T., Ngondi, J., Graves, P., Shargie, E., Teferi, T., . . . Richards, F. (2008). Evaluation of light microscopy and rapid diagnostic test for the detection of malaria under operational field conditions: a household survey in Ethiopia. *Malaria Journal*, 7:118.

Fumado, V., & Bassat, Q. (2011). Estado actual de la malaria (I): diagnóstico y tratamiento. *Red de epidemiología y salud pública (CIBERESP)*, 162-9.

Gancedo-García, A. (2014). Prevención y diagnóstico de paludismo importado en atención primaria. Asturias 2002-2012. *Atención Primaria*, 313-319.

García Lopez, M., Fumado Perez, V., & González Tomé, M. I. (2012). Actualización en el diagnóstico y tratamiento de la malaria. *Anales de pediatría*, 124. e1 - 124.e8.

González López, L., & de la Cruz Hernandez, F. (2017). Malaria: vectores. *Ciencia*, 50-53.

González-Cerón, L., Rodríguez, M. H., Betanzos, A. F., & Abadía, A. (2005). Eficacia de una prueba rápida para el diagnóstico de Plasmodium vivax en pacientes sintomáticas de Chiapas, México. *Salud Pública de México*, 282-287.

Instituto Nacional de Salud Pública México. (2008). Manual para la vigilancia y el control del paludismo en Mesoamérica. Mexico: INSP.

- Jiménez, A. S. (14 de Marzo de 2014). Frenan investigación de nueva vacuna contra malaria: Patarroyo. *La Jornada*, pág. 2.
- Kundu, R., Ganguly, N., & Ghosh, T. (2009). Rapid Diagnostic Test (RDTs) in Malaria: Current Status. *Pediatric Infectious Disease*, 25-27.
- Lanaspa, M., Renom, M., & Bassat, Q. (2010). La malaria en el mundo en 2010: ¿Qué hay de nuevo acerca de esta vieja enfermedad? *Revista Pediatría de Atención Primaria*, 685-700.
- Laboratorio Nacional de Salud. (2008). *Manual de normas y prodecimientos de laboatorio para el diagnóstico de malaria*. Guatemala: MSPAS. DGRVCS. Laboratorio Nacional de Salud.
- Maltha, J., Gillet, P., Bottieau, E., Cnops, L., van Esbroeck, M., & Jacobs, J. (2010). Evaluation of a rapid diagnostic test (CareStart (TM) Malaria HRP-2/pLDH (Pf/pan) Combo Test) for the diagnosis of malaria in a reference setting. *Malaria Journal*.
- McHugh, M. (2012). Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemia Medica*, 276-282.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2010). *Normas de atención en salud integral para primer y segundo nivel*. Guatemala.
- Moges, B., Amare, B., Belyhun, Y., Tekeste, Z., Gizachew, M., Workineh, M., . . . Kassu, A. (2012). Comparison of CareStart TM HRP2/pLDH Combo rapid malaria test with light microscopy in north-west Ethiopia. *Malaria Journal*.
- Nájera, J., González Bueno, A., & Baratas Díaz, A. (2009). *Guía didáctica de la exposición Malaria*. Madrid: Biblioteca Nacional de España.

- Organización Mundial de la Salud. (2006). *Uso de las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria*. Ginebra.
- Organización Mundial de la Salud. (2012). *Tratamiento del paludismo grave: manual práctico. 3a. Edición*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud. (Marzo de 2013). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2015). *Estrategia Técnica Mundial contra la Malaria 2016-2030*. Ginebra.
- Organización Panamericana de la Salud/OMS. (28 de Abril de 2015). *Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Información general: Paludismo: http://www2.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2573&Itemid=2060&lang=es
- Pérez-Arellano, J. L., Carranza-Rodriguez, C., Rojas, J. V., & Muro, A. (2010). Malaria. *Medicine*, 3642-53.
- Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores . (2016). *Memoria de labores 2015*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores.
- Purizaca-Benites, M. (2010). Malaria Gestacional. *Revista Peruana de Ginecología y Ginecobstetricia*, 193-201.
- Rivas González, P. (2012). Malaria y gripe: una confusión diagnóstica potencialmente mortal. *Atención Primaria*, e5-e6.

- The Global Found. (2012). Program Grant Agreement . *Multisector Initiative to Implement Malaria Prevention, Control and Pre-elimination Strategies in Guatemala*.
- Vásquez, A., & Tobón, A. (2012). Mecanismos de patogenia en la malaria por *Plasmodium falciparum*. *Biomédica*, 106-120.
- White, N. J. (2008). *Plasmodium knowlesi*: The Fifth Human Malaria Parasite. *Clinical Infectious Diseases*, 172-173.
- World Health Organization. (2000). *New perspectives: Malaria diagnosis. Report of a joint WHO/USAD consultation*. Ginebra, Suiza: WHO.
- World Health Organization. (2010). *Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: Recommendations*. Geneva.
- World Health Organization. (2011). *Good practices for selecting and procuring rapid diagnostic test for malaria*. Malta.
- World Health Organization. (2014). *World Malaria Report 2014*. Ginebra: World Health Organization.
- World Health Organization. (2016). *World Malaria Report 2016*. Ginebra: World Health Organization.
- Zuckerberg, C., & Barcat, J. (2007). Alphonse Laveran y la malaria. *Medicina*, 763-766.

