

Una prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas para el diagnóstico de malaria por *P. falciparum*¹

Consulta informal de la OMS sobre avances recientes en técnicas de diagnóstico del paludismo y vacunas antipalúdicas²

RESUMEN

Los avances recientes en el diagnóstico de infecciones causadas por *Plasmodium falciparum* han permitido considerar la posibilidad de complementar la microscopía óptica con una prueba estandarizada de captura de antígenos con tiras reactivas basada en la detección de una proteína específica del parásito, que es segregada por los estadios sanguíneos asexuados y los gametocitos inmaduros, pero no por otros estadios. Los ensayos de campo indican que esta prueba proporciona resultados replicables con un umbral de detección de parasitemia de *P. falciparum* similar al obtenido con microscopía habitual de alta calidad para malaria y una especificidad y sensibilidad de alrededor de 90% en comparación con la microscopía habitual con extensión de sangre en capa gruesa. La estabilidad, reproducibilidad y facilidad de uso de la prueba indican claramente sus posibilidades de aplicación en el tratamiento de la malaria, particularmente en el nivel de atención de salud periférico, siempre y cuando se pueda garantizar su precisión y su costo sea módico. También debe considerarse la posibilidad de usarla más ampliamente donde lo justifiquen los requisitos operativos y los recursos y donde las decisiones se basen en una evaluación adecuada de los sistemas de prestación de asistencia de salud existentes.

Cada año, entre 300 y 500 millones de personas padecen malaria clínica, a menudo grave, de las cuales de 1,4 a 2,6 millones fallecen (1). Esta enferme-

dad menoscaba la salud y el bienestar de las familias, pone en peligro la supervivencia de los niños, debilita a la población activa y supone un grave

obstáculo para el desarrollo social y económico.

A pesar de los problemas de farmacoresistencia, la malaria sigue siendo una enfermedad curable y no es una carga inevitable si los que la padecen tienen acceso a diagnóstico temprano y tratamiento inmediato. Este es un derecho fundamental de todas las poblaciones en riesgo de contraer la enfermedad y el pilar fundamental de su control en todas las situaciones, según se indica en la *Estrategia mundial de lucha contra la malaria* adoptada en 1992 (2). Al fortalecimiento de la capacidad nacional de ofrecer diagnóstico y tratamiento tempranos dentro y fuera de los servicios generales de salud se le ha

¹ Se publica en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, 1996, Vol. 74, No. 1, pp. 47-54, con el título "A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of *falciparum* malaria". © Organización Mundial de la Salud, 1996. Basado en el informe de una consulta informal de la OMS sobre avances recientes en técnicas de diagnóstico del paludismo y vacunas antipalúdicas, celebrada en Nueva Delhi, India, del 27 al 28 de marzo de 1995.

² Los participantes fueron los siguientes. *Asesores técnicos*: T. Banchongaksorn, Chiang Mai, Tailandia; A. J. Caraballo Hurtado, Estado Bolívar, Venezuela; V. Chauhan, Nueva Delhi, India; R. Dietz, Maruipa, Brasil; H. M. Kodisinghe, Kurunegala, Sri Lanka; Myint Swe, Mandalay, Myanmar;

D. Payne, Glamorgan Meridional, Gales; J. Perro-ne, Cockeysville, MD, Estados Unidos de América; W. Rooney, Bangkok, Tailandia; R. S. Sharma, Nueva Delhi, India; V. P. Sharma, Nueva Delhi, India; N. Singh, Jabalpur, India; Aung, Yangon, Myanmar; S. Soerjosembodo, Yakarta, Indonesia, y K. Thimasam, Nonthaburi, Tailandia. *Observadores*: A. R. Ache, Maracay, Venezuela; S. Meek, Londres, Inglaterra; K. Suresh, Nueva Delhi, India. *Secretaría de la OMS*: P. R. Arbani; A. E. Beljaev; A. V. Kondrachine; S. Hoyer; R. M. Montanari; V. S. Orlov, y P. I. Trigg (*Secretario*).

Las solicitudes de separatas deben enviarse al Dr. P. I. Trigg, Unidad del Paludismo, División de Lucha contra las Enfermedades Tropicales, Organización Mundial de la Salud, 1211 Ginebra 27, Suiza.

concedido máxima prioridad en el *Plan de acción para el control de la malaria* de la OMS para 1995-2000.³

El diagnóstico definitivo de la malaria humana debe basarse en criterios clínicos apoyados por la confirmación de la parasitemia en el laboratorio. Durante décadas, el examen de frotis sanguíneos mediante microscopía óptica ha sido la piedra angular de esos diagnósticos. Los frotis de muestras de sangre obtenidas por punción digital, debidamente teñidos y examinados con pericia, permiten hacer un diagnóstico por especies, estimar la parasitemia, identificar las diversas formas del parásito y, a menudo, predecir el posible curso de la enfermedad (3). Con todo, ese diagnóstico de laboratorio puede no ser de igual valor en todas las situaciones epidemiológicas. En las zonas muy endémicas, puede tener un valor limitado para confirmar la enfermedad clínica a causa de la elevada prevalencia de portadores asintomáticos de parásitos. No obstante, los exámenes microscópicos son convenientes en situaciones de esa índole para diagnosticar el fracaso del tratamiento y la enfermedad grave. También son convenientes para detectar los casos de malaria no complicados en zonas de transmisión inestable o durante temporadas de baja transmisión. Ello reviste particular importancia donde existe malaria por *Plasmodium falciparum* y *P. vivax* y donde los tratamientos preferidos para las dos infecciones son distintos (4). Por lo tanto, la finalidad del diagnóstico de laboratorio es principalmente apoyar la atención clínica.

A pesar de la sencillez de la tecnología y de los costos directamente bajos, el diagnóstico microscópico de la malaria es todavía costoso, porque exige una infraestructura adecuada para mantener existencias y equipo, adiestrar a los agentes de salud y velar por la garantía de la buena cali-

dad del servicio.⁴ Como consecuencia, el diagnóstico microscópico sistemático suele ser de mala calidad y poco confiable, y tal vez no se ofrezca en la periferia del sistema de atención de salud, donde cada vez es mayor la necesidad de apoyar a los laboratorios debido a problemas de farmacorresistencia que exigen el uso de otros antimaláricos más costosos y potencialmente más tóxicos (5). Durante algún tiempo se ha reconocido la perentoria necesidad de disponer de pruebas diagnósticas nuevas, sencillas y efectivas en función del costo, para subsanar las deficiencias de la microscopía óptica (6). Esos hechos son prioridades para la puesta en práctica de la estrategia mundial mencionada.^{5,6}

Se han introducido numerosas técnicas nuevas para diagnosticar la malaria. Con algunas se ha tratado de mejorar la sensibilidad y facilitar la realización de la microscopía óptica convencional, concentrando los parásitos en la muestra de sangre, o mejorando la visualización y detección mediante tinción con colorantes fluorescentes o una combinación de esos métodos, por ejemplo, la técnica cuantitativa de la capa leucocitaria (prueba QBC) (7) y la técnica de fluorocromo de Kamamoto (8). Todos estos métodos varían en complejidad y en la exigencia de equipo complejo, pero hasta la fecha ninguno ha mostrado tener la amplia aplicabilidad en el diagnóstico de la malaria que goza el examen con microscopio óptico de las extensiones de sangre tratadas con colorante Giemsa. Además, estas nuevas técnicas presentan problemas logísticos similares a los de la microscopía óptica.

Otros métodos de diagnóstico de la malaria se basan en la identificación de

moléculas específicas del parásito, como antígenos y ácidos nucleicos, y la sensibilidad en algunos casos mejora con el uso de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (6, 9, 10). Los límites de detección de estos métodos son iguales que los de la microscopía óptica o mejores. Lamentablemente, la promesa inicial de muchas de estas técnicas no se ha cumplido por las dificultades que han surgido al duplicar los resultados sobre el terreno y producir versiones simplificadas, así como por la baja prioridad que a menudo se concede a los estudios para adaptar estas técnicas a las necesidades y capacidades de los programas de control de la malaria y a los servicios de salud (10).

Sin embargo, los avances recientes permiten considerar ahora la posibilidad de complementar la microscopía óptica con una prueba estandarizada de detección de antígenos, que emplea métodos de producción de alta tecnología y aplicaciones tecnológicas sencillas. Este análisis se basa en la detección de la proteína II rica en histidina específica del parásito con una técnica basada en tiras reactivas que se emplea con éxito en bioquímica clínica. En la actualidad, se dispone en el mercado de una prueba específica para *P. falciparum* y se está desarrollando otra similar para *P. vivax*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los parásitos *P. falciparum* sintetizan varias proteínas que contienen gran cantidad de histidina. Una de esas proteínas, la Pf HRP II, que se ha secuenciado y clonado, es segregada activamente como antígeno hidrosoluble por los eritrocitos infectados por el parásito. La cantidad de Pf HRP II liberada in vitro aumenta en todo el ciclo intraeritrocitario y durante la ruptura del esquizonte se liberan grandes cantidades (11). Este antígeno se ha detectado en el plasma de personas infectadas por *P. falciparum*, y los anticuerpos monoclonales dirigidos contra él permiten detectar parásitos de distintas zonas geográficas (12).

³ Los interesados en obtener ejemplares sueltos pueden solicitarlos a la siguiente dirección: Unidad del Paludismo, División de Lucha contra las Enfermedades Tropicales, Organización Mundial de la Salud, 1211 Ginebra 27, Suiza.

⁴ World Health Organization. *WHO Expert Committee on Malaria, nineteenth report*. Geneva: WHO; 1992. (Documento inédito WHO/CTD/92.1).

⁵ World Health Organization. *Report of the Interregional Meeting on Malaria Control in Africa, Brazzaville, 21-25 October 1991*. Geneva: WHO; 1992. (Documento inédito de la OMS CTD/MCM/IM92.1).

⁶ World Health Organization. *Report of the Interregional Meeting on Malaria in Asia and the Western Pacific, New Delhi, 3-7 February 1992*. Geneva: WHO; 1992. (Documento inédito de la OMS CTD/MCM/IM/92.2).

La proteína Pf HRP II se encuentra también en los gametocitos inmaduros, pero no en los maduros (13). El antígeno es estable, como lo demuestra su detección en momias egipcias de 1450 a 5200 años de antigüedad (14). Estas observaciones han conformado la base técnica de la prueba descrita a continuación (15), que se presenta en la figura 1.

Un anticuerpo monoclonal murino IgG1 hidrosoluble dirigido contra un segmento de Pf HRP II, el péptido sintético AHH[AHHAAD], se deposita como una línea claramente definida a 1 cm de la base de una tira reactiva absorbente y laminada de nitrocelulosa/fibra de vidrio (de 3 x 0,5 cm). El antígeno Pf HRP II se aplica como una segunda línea interrumpida 1 cm arriba de la otra como reactivo control.

Se toma una muestra de sangre por punción digital en un tubo capilar estandarizado de 50 µl tratado con heparina y se traslada a un tubo de soporte o dispensador que contiene un agente hemolizante (1-5 en la figura 1). Se traslada una gota de la sangre hemolizada del tubo dispensador a una cavidad de un platillo plástico de microtitulación (6 en la figura 1). La tira reactiva se coloca verticalmente en la muestra de sangre hemolizada y esta es absorbida rápidamente por la tira reactiva por acción capilar (7 en la figura 1). Se agrega una gota de un agente de detección, constituido por micelas que contienen anticuerpos policlonales de conejo dirigidos contra Pf HRP II marcada con sulforhodamina B (8 en la figura 1). Cuando se ha completado la absorción, se agregan una o dos gotas de un reactivo de lavado para aclarar la sangre hemolizada (9 en la figura 1).

Si la muestra de sangre es positiva a *P. falciparum*, se forma una línea rosada casi simultáneamente en el lugar de depósito de los anticuerpos monoclonales y una línea rosada interrumpida encima como reactivo de control (10 en la figura 1). En casos negativos, solo se forma la línea rosada interrumpida (11 en la figura 1).

Una sola prueba tarda unos 7 minutos en realizarse. Con el uso de pruebas

en lote es posible analizar un elevado número de muestras en muy poco tiempo. Dos expertos que trabajen en equipo pueden alcanzar con facilidad la meta de una prueba por minuto, con un período de espera máximo de 30 minutos por paciente cuando el acceso al paciente es inmediato (D. Payne, comunicación personal, 1995). Como el antígeno (Pf HRP II) solo se encuentra en los estadios eritrocíticos asexuados y, hasta cierto punto, en los gametocitos inmaduros, la prueba no detecta pacientes que se encuentran en el estadio presintomático de la malaria ni en los que solo tienen gametocitos maduros en la sangre.

Los reactivos son estables a temperatura ambiente, al menos por un año, y durante un mínimo de 6 meses a 45° C, y pueden almacenarse en un refrigerador, aunque no deben congelarse. Las tiras reactivas se mantienen legibles hasta un año después de realizar el análisis. Los reactivos y las tiras no deben exponerse a la luz solar directa.

RESULTADOS

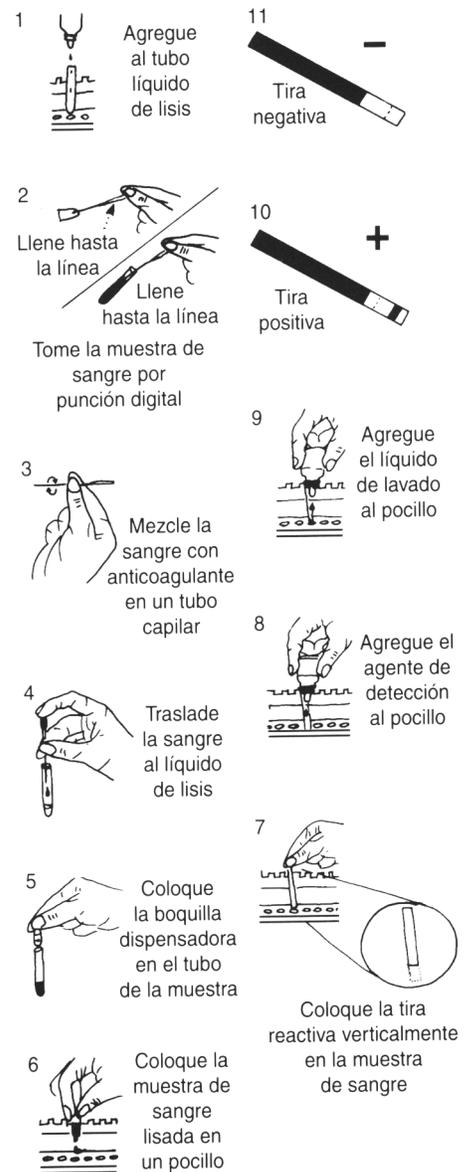
Evaluación de la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas

Se ha acumulado mucha experiencia en el uso de tiras reactivas para el diagnóstico de la malaria en ensayos con casi 8000 pacientes en el Brasil (16), Francia (17), la India (Neeru Singh et al., comunicación personal, 1995), Kenya (13), Indonesia (S. Soerjosembo, comunicación personal, 1995), Sri Lanka (H. M. Kodisinghe, comunicación personal, 1995), la República Unida de Tanzania (18, 19), Tailandia (Trairat Banchongaksorn et al., comunicación personal, 1995) y Venezuela (A. Caraballo y A. Ache, comunicación personal, 1995).

Sensibilidad y especificidad

En el cuadro 1 se resume la escala de sensibilidad y especificidad de la

FIGURA 1. Etapas de la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas para el diagnóstico de malaria causada por *P. falciparum*



prueba con tiras reactivas. La sensibilidad y especificidad estimadas fueron similares al examinar extensiones de sangre en capa gruesa de los "patrones de oro" comparativos, empleando, por lo menos, 100 campos microscópicos con inmersión en aceite (con un prolongado examen de los frotis en caso de negatividad), la prueba cuantitativa de la capa leucocitaria o la PCR con

CUADRO 1. Resumen de los resultados de los ensayos de campo de la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas

Ref. ^a	Lugar de estudio; patrón de oro ^b	Prueba del antígeno			Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valores predictivos positivo/negativo (%)	
		Patrón de comparación		Total				
		Positivo	Negativo					
16	Hospital Lyon, Francia	31	4	35	93,9	98,8	88,6	99,4
	Extensión en capa fina/QBC	2	321	323				
		33	325	358				
18	Hospital de distrito, Bagamoyo, República Unida de Tanzania	121	15	136	87,7	88,8	89,0	87,5
	Extensión en capa gruesa/QBC	17	119	136				
		138	134	272				
19	Agentes de salud de poblados, Bagamoyo, República Unida de Tanzania	213	24	237	84,2	81,1	89,9	72,0
	Extensiones en capas gruesa y fina	40	103	143				
		253	127	380				
13	Estudio de campo con adultos Saradidi, Kenya	74	9	83	61,2	90,1	89,2	63,6
	Extensión en capa gruesa	47	82	129				
		121	91	212				
13	Ensayo con vacunas Baltimore, Maryland, EUA	0	1	1		95,0	100,0	
	Extensión en capa gruesa	0	19	19				
		0	20	20				
13	Ensayo con vacunas Baltimore, Maryland, EUA	9	2	11	69,2	98,2	81,8	96,5
	Extensión en capa gruesa	4	110	114				
		13	112	125				
13	Estudio de campo con niños Saradidi, Kenya	137	26	163	86,2	86,6	84,0	88,4
	Extensión en capa gruesa	22	168	190				
		159	194	353				
15	Pacientes ambulatorios de hospitales Mato Grosso, Brasil	50	2	52	90,9	97,0	96,2	92,8
	Extensión en capa gruesa	5	64	69				
		55	66	121				
15	Pacientes ambulatorios de hospitales Mato Grosso, Brasil	49	2	51	89,1	97,0	96,1	91,4
	QBC	6	64	70				
		55	66	121				
A	Hospital de atención primaria de salud India Central	354	64	418	92,7	92,5	84,7	96,6
	Extensión en capa gruesa	28	785	813				
		382	849	1231				
B	Visitas a zonas rurales Estado Bolívar, Venezuela	260	9	269	83,6	99,2	96,7	95,5
	Extensión en capa gruesa	51	1078	1129				
		311	1087	1398				
B	Visitas a zonas rurales Estado Bolívar, Venezuela	215	54	269	87,0	95,3	79,9	97,2
	QBC	32	1097	1129				
		247	1151	1398				
C	Dispensarios móviles, Kurunegala/ Monaragala, Sri Lanka	26	5	31	86,7	97,7	83,9	98,2
	Extensión en capa gruesa	4	217	221				
		30	222	252				
C	Dispensarios móviles, Kurunegala/ Monaragala, Sri Lanka	30	1	31	93,8	99,5	96,8	99,1
	400 campos de extensión en capa gruesa	2	219	221				
		32	220	252				
D	Dispensarios de malaria Mae Sod/Borai, Tailandia	226	12	238	93,4	98,2	95,0	97,6
	Extensión en capa gruesa	16	659	675				
		242	671	913				
D	Dispensarios de malaria Mae Sod/Borai, Tailandia	151	2	153	90,4	99,4	98,7	95,6
	PCR	16	351	367				
		167	353	520				
Todos los lugares de las pruebas		1946	232	2178	87,0	95,9	89,3	94,9
		292	5456	5748				
		2238	5688	7926				

^a Comunicaciones personales: A = Neeru Singh et al., 1995; B = A. Caraballo, A. Ache, 1995; C = H. M. Kodisinghe, 1995, y D = Trairat Banchongaksorn et al., 1995.

^b QBC = prueba cuantitativa de la capa leucocitaria; PCR = reacción en cadena de la polimerasa.

CUADRO 2. Sensibilidad final de la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas

Ref. ^b	Lugar del estudio	Sensibilidad final por parasitemia asexual (por μ l): ^a			Total
		<10	10-100	>100	
13	Kenya, adultos	3/27(11,1) ^c	66/89 (74,2)	5/5 (100)	74/121
13	EUA, vacuna	2/3 (66,6)	7/10 (70,0)	0	9/13
13	Kenya, niños	9/23(39,1)	31/36(86,1)	97/99(98,0)	137/159
18	República Unida de Tanzania	0	5/5 (100)	112/117 (95,7)	117/122
15	Brasil	0	2/2 (100)	44/47 (93,6)	46/49
A	Venezuela	174/201(86,6)	41/44(93,2)	0	215/245
B	Indonesia	6/6 (100)	0	32/35 (91,4)	38/39
Total positivos		194/260 (74,6)	152/187 (81,3)	290/301 (96,3)	874/1002 (85,0)

^a Determinada por microscopía óptica de al menos 100 campos microscópicos con inmersión en aceite. En cada caso se presenta el número de muestras positivas con la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas/No. de muestras positivas con microscopía óptica.

^b Comunicaciones personales: A = A. Caraballo, A. Ache, 1995, B = S. Soerjosembodo, 1995.

^c Las cifras entre paréntesis son porcentajes.

sondas de ADN. Los valores de sensibilidad oscilaron entre 84,2 y 93,9%, con dos excepciones: el estudio de adultos realizado en Saradidi, Kenya, y el estudio de vacunas en Baltimore, Maryland, Estados Unidos de América. Al parecer, las menores sensibilidades en estos dos estudios guardaron relación con la presencia de parasitemias menores de 60 parásitos por μ l. Con parasitemias asexuals mayores de ese valor, la sensibilidad de la prueba con tiras reactivas superó el 96,5% (16).

Las especificidades variaron de 81,1 a 99,5%, y solo se observaron valores menores de 90% en los estudios efectuados en Kenya y la República Unida de Tanzania. Estos dos estudios se llevaron a cabo en zonas holoendémicas, donde puede ser difícil estimar la verdadera especificidad, ya que tal vez no queda claro si tiene parásitos o no una persona con un solo frotis sanguíneo negativo.

Los valores predictivos positivos y negativos de la prueba en todos los estudios estuvieron comprendidos, respectivamente, entre 79,9 y 98,7%, y entre 63,6 y 100%.

La prueba para *P. falciparum* parece mostrar poca reactividad cruzada con infecciones causadas por otras especies del parásito de la malaria humana, aunque los datos que apoyan esa afirmación son limitados; cuatro casos positivos en frotis sanguíneos de *P. malariae* y *P. ovale* fueron negativos en la

prueba con tiras reactivas en la República Unida de Tanzania (18), al igual que 173 casos positivos en frotis sanguíneos de *P. vivax* y 5 de *P. malariae* en Tailandia, 115 infecciones por *P. vivax* en la India y 3 por *P. vivax* en Venezuela.

Umbral de detección del parásito

En el cuadro 2 se resumen los datos sobre el umbral de detección del parásito de la prueba con tiras reactivas comparada con el examen de extensiones de sangre en capa gruesa de más de 100 campos microscópicos. Con niveles bajos de parasitemia se reduce la sensibilidad, y las sensibilidades máximas —mayores de 96%— se estiman con más de 100 parásitos por μ l de sangre. Sin embargo, cuando la parasitemia es igual a 10 parásitos por μ l o menor, la prueba todavía detectó, en promedio, 74,6% de los casos, 81,3% de los cuales se observaron con una parasitemia de 10 a 100 parásitos por μ l.

Estos datos son coherentes con un umbral de detección de alrededor de

100 parásitos asexuals por μ l. Sin embargo, el consenso de los investigadores sitúa el umbral entre 40 y 60 parásitos por μ l. La mayoría de las personas con malaria sintomática por *P. falciparum* tienen una parasitemia por encima de ese valor.

Persistencia de antígenos en la sangre después del tratamiento

Como indican los datos del cuadro 3, después del tratamiento medicamentoso exitoso en la India se observó que la antigenemia, medida con la prueba de las tiras reactivas, persistía un poco más que la parasitemia. Aunque esta había desaparecido en 110 (97,3%) de los 113 pacientes al segundo día, y en todos los pacientes los resultados del examen parasitológico fueron negativos al séptimo día, la antigenemia persistió en 87 pacientes (77%) al segundo día, en 5 (4,4%) al séptimo, y en 1 (0,9%) al vigésimo octavo. Se observaron resultados similares en la República Unida de Tanzania, donde

CUADRO 3. Persistencia de antigenemia y parasitemia en un estudio en la India^a

	No. de casos positivos varios días después del tratamiento:					
	0	2	7	14	28	45
Parasitemia	113	3				
Antigenemia	113	87	5	2	1	0

^a Neeru Singh et al., comunicación personal, 1995.

no se detectó parasitemia periférica al tercer día, pero sí al quinto y al decimocuarto en 25% y 3% de los pacientes, respectivamente, a pesar de que todos eran asintomáticos (18). La antigenemia también persistió durante más tiempo en los pacientes de los estudios de campo de Kenia, pero no se detectó 6 días después del tratamiento (16).

El análisis de todos los datos actuales indica que la antigenemia desapareció en 55% de los pacientes el mismo día que se eliminaron los parásitos, y que en 85% de los pacientes la prueba con tiras reactivas fue negativa una semana después de que eliminaron los parásitos.

Uso de la prueba por agentes de salud de los servicios periféricos

El adiestramiento de agentes de salud en el uso de la prueba con tiras reactivas es sencillo y puede realizarse en pocas horas. En la República Unida de Tanzania, la técnica se introdujo en pequeños poblados sin la participación de técnicos calificados (19). No hubo diferencia significativa alguna entre la actuación de los agentes de salud de los pueblos y esos técnicos en lo relativo a especificidad, sensibilidad o valores predictivos positivos o negativos de la prueba. Sin embargo, un agente de salud de un poblado tuvo dificultad para interpretar las pruebas positivas débiles, problema que también han señalado otros trabajadores.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En contraposición a la microscopía óptica, la prueba con tiras reactivas aquí descrita es rápida y fácil de realizar. Se puede hacer una prueba en menos de 10 minutos y muchas simultáneamente, con lo cual se reduce el tiempo de entrega de los resultados para respaldar el diagnóstico clínico. La prueba requiere adiestramiento mínimo y puede ser realizada por personal relativamente inexperto. Además, causa poca fatiga al operador y,

por tanto, reduce muchos de los errores relacionados con la microscopía. Puesto que el equipo necesario es mínimo, sencillo y duradero, exige poco espacio y funciona sin electricidad, el método tiene mucha utilidad potencial en el tratamiento de la malaria, particularmente en la periferia del sistema de atención de salud, siempre y cuando se pueda asegurar su precisión y su precio sea accesible.

La especificidad y sensibilidad de la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas en relación con los actuales "patrones de oro" son generalmente de 90%. Ese valor es por lo menos igual a los que se alcanzan en la actualidad en los laboratorios de diagnóstico de malaria bien organizados y tal vez sobrepasa con creces los de muchos servicios generales de salud, sobre todo los de la periferia.

La prueba plantea el posible problema de detectar el antígeno circulante después de la eliminación de parásitos viables del torrente circulatorio. Esos positivos falsos son relativamente frecuentes y se producen hasta en 75% de los pacientes 2 días después del tratamiento. No obstante, estos pacientes antigenémicos suelen quedar clínicamente asintomáticos después de la eliminación de la parasitemia. Por consiguiente, como el tratamiento debe basarse en criterios clínicos apoyados por resultados de laboratorio y no solo en estos, probablemente este tipo de resultado positivo falso o de resultados positivos falsos debidos a la presencia de gametocitos inmaduros, no conduzcan a administrar un elevado número de tratamientos innecesarios. La prueba no detecta gametocitos maduros. Esta es una característica deseable de una prueba destinada a respaldar el tratamiento de la malaria, pero sería inapropiado usarla en estudios epidemiológicos sobre el potencial de transmisión.

Sin embargo, es motivo de preocupación que en dos personas con más de 1000 parásitos por μl de sangre la prueba con tiras reactivas fuese negativa. Las razones de ello son ambiguas, pero no parecieron deberse a la variación antigénica de la secuencia usada para producir los anticuerpos monoclonales para la prueba (13).

En conclusión, la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas proporcionó resultados duplicables y coherentes en ensayos de campo, con un umbral de detección de parasitemia por *P. falciparum* similar al obtenido con la microscopía habitual de alta calidad para la malaria. Su especificidad y sensibilidad fueron constantes y cercanas a 90% en relación con la extensión normal de sangre en capa gruesa. La estabilidad, reproducibilidad y simplicidad de la prueba indican claramente que debe considerarse su uso más amplio cuando lo justifiquen los requisitos operativos y los recursos disponibles y donde las decisiones se basen en una evaluación adecuada de los sistemas existentes de asistencia sanitaria.

El empleo de la prueba podría ser efectivo en función del costo en las siguientes circunstancias: en zonas afectadas por malaria epidémica y en situaciones de emergencia donde se precisa confirmación rápida de la escala y distribución de la enfermedad; en zonas donde el servicio de laboratorio existente es inadecuado o inaceptable, o la demora del diagnóstico es excesiva; en dispensarios móviles, donde es difícil mantener la calidad de la microscopía habitual; en zonas de baja transmisión y con alto grado de resistencia a los medicamentos antimaláricos; en zonas donde el tratamiento de primera línea es mucho más costoso que la prueba de captura rápida de antígenos con tiras reactivas, y en casos de malaria graves y complicados, cuya parasitemia periférica puede ser negativa, pero en los que puede esperarse que la prueba demuestre la presencia de antigenemia.

Aunque, idealmente, la aplicación de esta prueba para el diagnóstico de la malaria debería determinarse mediante un análisis de costo-efectividad, el costo unitario de la prueba determinará su futura aplicación en muchas partes del mundo. Las poblaciones y los países en riesgo más alto de padecer malaria son principalmente los más pobres y desfavorecidos. Por lo tanto, acaso se necesiten métodos innovadores para asegurar que este instrumento potencialmente útil esté al alcance de quienes más lo necesiten.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. World malaria situation 1992—parts I, II, and III. *Weekly Epidemiol Rec* 1992;69(42):309-314; 69(43):317-321, y 69(44):325-330, respectivamente.
2. World Health Organization. *A global strategy for malaria control*. Geneva: WHO; 1993.
3. Payne D. Use and limitations of light microscopy for diagnosing malaria at the primary health care level. *Bull World Health Organ* 1988;66:621-626.
4. World Health Organization. *Implementation of the Global Malaria Control Strategy: report of a WHO Study Group*. Geneva: WHO; 1993. (WHO Technical Report Series No. 839).
5. World Health Organization. *Practical chemotherapy of malaria: report of a WHO Scientific Group*. Geneva: WHO; 1990. (WHO Technical Report Series No. 805).
6. World Health Organization. Malaria diagnosis: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1988;66:575-594.
7. Wardlaw SC, Levine RA. Quantitative buffy coat analysis: a new laboratory tool functioning as a screening complete blood cell count. *JAMA* 1983;249:617-620.
8. Kawamoto F. Rapid diagnosis of malaria by fluorescence microscopy with light microscope and interference filter. *Lancet* 1991; 337:200-202.
9. Tharavanij S. New developments in malaria diagnostic techniques. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990;21:3-16.
10. Oaks SJ, et al., eds. *Malaria: obstacles and opportunities*. Washington, DC: National Academy Press; 1991.
11. Howard RJ, et al. Secretion of a malarial histidine-rich protein (Pf HRP II) from *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J Cell Biol* 1986;103:1269-1277.
12. Parra ME, et al. Identification of *Plasmodium falciparum* histidine rich protein 2 in the plasma of humans with malaria. *J Clin Microbiol* 1991;29:1629-1634.
13. Beadle C, et al. Diagnosis of malaria detection of *Plasmodium falciparum* HRP-2 antigen with rapid dipstick antigen capture assay. *Lancet* 1994;343:564-568.
14. Miller RL, et al. Diagnosis of *Plasmodium falciparum* infections in mummies using the rapid manual ParaSight™-F test. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1994;88:31-32.
15. Shiff CJ, et al. The ParaSight-F test: a simple rapid manual dipstick test to detect *Plasmodium falciparum* infection. *Parasitol Today* 1994;10:494-495.
16. Dietze R, et al. The diagnosis of *Plasmodium falciparum* infection using a new antigen detection system. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52:45-49.
17. Uguen C, et al. ParaSight-F rapid manual diagnostic test of *Plasmodium falciparum* infection. *Bull World Health Organ* 1995;73:643-649.
18. Shiff CJ, et al. The rapid manual ParaSight-F test: a new diagnostic tool for *Plasmodium falciparum* infection. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1993;87:646-648.
19. Premji Z, et al. Laboratory diagnosis of malaria by village health workers using the rapid manual ParaSight-F test. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1994;88:418.

ABSTRACT

A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria

Recent advances in the diagnosis of *Plasmodium falciparum* infections have made it possible to consider supplementing light microscopy with a standardized dipstick antigen capture assay based on the detection of a parasite-specific protein, which is secreted by the asexual blood stages and immature gametocytes but not by the other stages. Field trials indicate that this dipstick assay provides consistently reproducible results, with a threshold of detection of *P. falciparum* parasitaemia similar to that obtained by high quality routine malaria microscopy and a specificity and sensitivity of around 90% compared with standard thick blood film microscopy. The stability, reproducibility, and ease of use of the assay clearly indicate that it has potential for application in the management of malaria, particularly at the peripheral health care level, provided its accuracy can be assured and that it can be made affordable. Consideration should be given to its wider use where operational requirements and resources so justify, and where decisions are based on adequate evaluation of the existing health delivery systems.
