

COMUNICACIÓN CORTA

EVALUACIÓN DE LA PRUEBA ICT MALARIA *P. f/P.v* (AMRAD®) PARA LA DETECCIÓN DE *P. falciparum* y *P. vivax* EN UNA ZONA ENDÉMICA DE LA AMAZONÍA PERUANA

Fernando Llanos-Zavalaga¹, José Villacorta V², Roberto Reyes L², Leonid Lecca G², Daniel Mendoza R², Julio Mayca P², José E. Velásquez H².

¹ Facultad de Salud Pública y Administración. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima - Perú.

² Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima - Perú.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el rendimiento del ICT MALARIA *P.f/P.v* (AMRAD®) en pacientes febriles del departamento de Loreto, Perú. **Materiales y métodos:** Estudio transversal realizado de agosto a setiembre del 2000, en pacientes con historia de fiebre (temperatura axilar >37,5°C) en los últimos 3 días, sin un foco aparente. Se obtuvo una muestra de sangre para gota gruesa cuya lectura se realizó por un microscopista experto. Simultáneamente, se realizó la prueba rápida por un asistente de campo. Se calculó la sensibilidad, especificidad, valores predictivos, exactitud e índice de concordancia utilizando la gota gruesa como prueba de oro. **Resultados:** Se incluyeron 79 pacientes de 5 meses - 70 años de edad. La sensibilidad y especificidad del AMRAD® fueron 60,0% y 70,0%, respectivamente. El valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y exactitud de la prueba fueron 36,0%, 88,8% y 70,9%, respectivamente. Se encontró pobre concordancia de la prueba con la gota gruesa (kappa=0,279). **Conclusión:** Es necesario continuar con la evaluación de las pruebas rápidas para un diagnóstico oportuno y un tratamiento efectivo de la malaria.

Palabras claves: Malaria/diagnóstico; Técnicas y procedimientos de laboratorio; Sensibilidad y especificidad (fuente: BIREME).

ABSTRACT

Objective: To assess the ICT MALARIA *P.f/P.v* (AMRAD®) in febrile patients in Loreto Department, Peru. **Material and methods:** A cross-sectional study performed in febrile (axillary temperature >37.5°C) patients with no apparent cause for the fever, from August to September 2000. A blood sample for performing thick smear examination was obtained. Well-trained personnel performed this test. Also, a field assistant performed the rapid test. Sensitivity, specificity, predictive values, accurateness and concordance index were calculated using the thick blood smear as the gold standard. **Results:** 79 patients were included (5 months - 70 years of age). Sensitivity and specificity for the AMRAD® were 60,0 and 70,0%, respectively. Positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and accuracy of the test were respectively 36,0, 88,8 and 70,9%. The test had poor concordance with the thick smear test (kappa=0,279). **Conclusion:** It is necessary to continue assessing rapid testing methods in order to have a timely diagnosis and early therapy for malaria.

Key words: Malaria/diagnosis; Laboratory techniques and procedures; Sensitivity and specificity (source: BIREME).

INTRODUCCIÓN

El método de diagnóstico laboratorial de malaria más usado es el examen microscópico de gota gruesa, el cual requiere una infraestructura adecuada para mantener insumos y equipos, así como la capacitación de los trabajadores de salud y garantía continua de la calidad del servicio¹. Por ello, en zonas de difícil acceso a recursos tecnológicos, como ocurre en gran parte de la región amazónica y de la costa norte de nuestro país, el diagnóstico clínico constituye el único medio disponible

para establecer el inicio del tratamiento. Sin embargo, la diversidad etiológica de los pacientes con síndrome febril², así como la existencia de dos tipos de malaria, dificultan la validez del diagnóstico clínico y, por ende, el tratamiento posterior³, ocurriendo sobretratamiento, elevación de costos, mayor exposición a reacciones adversas, y favoreciendo el surgimiento de resistencia del parásito. Esta situación ha tomado importancia en la costa norte del Perú, donde estaría incrementándose el número de casos de resistencia al esquema primario de malaria otorgado por el Ministerio de Salud (MINSA), mientras que de manera similar, en nuestra selva amazónica se reportan casos de malaria por *P. falciparum* resistentes a cloroquina y sulfadoxina/ pirimetamina, medicinas de primera línea en otras zonas endémicas^{4,5}.

Correspondencia: Luis Fernando Llanos Zavalaga. Facultad de Salud Pública y Administración. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres, Lima - Perú. Apto. 4314. Teléfono: (511) 4824353. Fax: (511) 3819072. E-mail: fllanos@upch.edu.pe

El MINSA, siguiendo los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para controlar la infección por malaria, establece como una sus principales estrategias de intervención, el diagnóstico y tratamiento temprano y apropiado⁶. Sin embargo, debido a la poca accesibilidad a los métodos de diagnóstico microscópico en las áreas más alejadas de los centros urbanos del país, las muestras son tomadas y enviadas para su análisis a un laboratorio de referencia central, demorando el resultado de 1 a 3 semanas⁷.

Debido a ello, es necesario la implementación de métodos de diagnóstico rápidos y precisos, que permitan confirmar la sospecha diagnóstica de malaria. En el Perú la utilización de nuevos métodos de diagnóstico rápido se convierte en una buena alternativa, debido a que no requieren gran infraestructura y son fáciles de utilizar. El ICT Malaria P.f/P.v (AMRAD[®]), es una prueba inmunodiagnóstica *in vitro* que detecta antígenos de *P. falciparum* y *P. vivax* en sangre, utilizando dos anticuerpos, uno específico para el antígeno de *P. falciparum* de proteína 2 rico en histidina (P.f HRP2), y otro específico para un antígeno común a ambas especies.

Presentamos los resultados preliminares de un estudio de campo que se está realizando para evaluar el rendimiento de la prueba ICT Malaria P.f/P.v (AMRAD[®]) en zonas rurales de difícil acceso de Loreto, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal descriptivo durante agosto y setiembre del 2000 en zonas rurales del departamento de Loreto, ubicado al nororiente del Perú, entre los 80 y 500 msnm, con un clima tropical húmedo, y 42% de su población residente en zonas rurales. En esta área, gran parte de los establecimientos de salud son de primer y segundo nivel, distan mucho entre sí y carecen de diagnóstico microscópico inmediato del *Plasmodium* sp.

Como parte de los programas de despistaje de malaria realizados en esta región, se visitaron las comunidades nativas y mestizas de las márgenes de los ríos Napo, Curaray y Aravela, ubicadas en las provincias de Maynas, Loreto, Alto Amazonas y Ramón Castilla (Figura N° 1), incluyéndose en el estudio a los pacientes que presentaron historia de fiebre (temperatura axilar >37,5°C) en los últimos 3 días, sin un foco aparente.

A los pacientes se les solicitó su consentimiento para la toma de muestra, tanto para la gota gruesa como para la prueba rápida ICT Malaria P.f/P.v (AMRAD[®]). La muestra de gota gruesa fue analizada por un único personal experto del laboratorio del Centro de Salud Santa Clotilde, distrito de Napo, provincia de Maynas; mientras que el AMRAD[®] fue realizado por un solo asistente de campo siguiendo las instrucciones del fabricante. Ambos desconocían los resultados obtenidos para las pruebas que no realizaban. La parasitemia fue calculada mediante el método simple o de cruces (el número de cruces

aumenta según el número de parásitos contados en 100 campos consecutivos de gota gruesa), calculando la densidad parasitaria (parásitos por microlitro) multiplicando el número de parásitos observados en 100 campos por 5.

Utilizando el examen de gota gruesa como prueba de oro, se calculó la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN), exactitud (resultados correctos/total de resultados) y el índice de concordancia (utilizando el coeficiente kappa) del ICT Malaria P.f/P.v (AMRAD[®]) para malaria en general y cada especie. La información se procesó con el paquete estadístico SPSS 9,0.



Figura N° 1. Procedencia de los pacientes febriles incluidos en el estudio

RESULTADOS

Se incluyeron 79 pacientes, 40 de sexo femenino, con edad promedio 22,4±17,3 años, que procedían de las provincias de Maynas (distritos de Napo, Torres Causana, Punchana, Fernando Lores e Iquitos), Alto Amazonas (Lagunas, Barranca y Yurimaguas), Loreto (Tigre y Trompeteros), y Mariscal Ramón Castilla (San Pablo). Todos los pacientes presentaron fiebre al momento de la prueba, 19% (15/79) de los casos tuvieron un resultado positivo de gota gruesa y no se detectaron casos con infección mixta. Los resultados de ambas pruebas diagnósticas se presentan en la Tabla N° 1.

La prueba del ICT Malaria P.f/P.v (AMRAD[®]) alcanzó una sensibilidad de 60,0%, especificidad de 70,0%, VPP de 36,0% (64,0% de falsos positivos) y VPN de 88,8% (11,2% de falsos negativos) para malaria en general. Además se encontró una sensibilidad de 71,4% y 37,5% y especificidad de 90,3% y 85,9%, para malaria por *P. falciparum* y *P. vivax*, respectivamente.

La exactitud de la prueba fue 70,9% y el análisis estadístico mostró pobre concordancia con la gota gruesa ($\kappa=0,279$) para el diagnóstico de malaria. Únicamente con el anticuerpo contra HRP2, los resultados falsos

negativos y positivos para malaria en general fueron 60,0% y 9,4%, respectivamente, mientras que con la adición del anticuerpo panmalárico fueron 40,0% y 25,0%.

Tabla N° 1. Comparación de los resultados del ICT Malaria Pf/P.v (AMRAD®) y la gota gruesa.

			GOTA GRUESA		
			POSITIVO		TOTAL
			<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	
AMRAD	POSITIVO	<i>P. vivax</i>	3	0	10
		<i>P. falciparum</i>	1	5	6
	NEGATIVO		4	2	48
		TOTAL	8	7	64
					79

DISCUSIÓN

Un objetivo fundamental para el control de la malaria es contar con una prueba diagnóstica rápida, confiable y barata, que esté disponible para los establecimientos de salud de primer nivel de atención y que permita administrar oportunamente un tratamiento efectivo⁸. Sin embargo, en la mayoría de zonas endémicas de malaria, debido a la ausencia de confirmación laboratorial, el diagnóstico se realiza en base a la sospecha clínica. Por ello, la utilización de las pruebas rápidas son una excelente alternativa, ya que no requieren de equipos tecnológicos o de laboratorio, además de tener una serie de ventajas costo-efectivas en términos de drogas, costos, toxicidad y desarrollo de resistencia⁹.

La sensibilidad y la especificidad del AMRAD® resultaron inferiores a las reportadas en la literatura, la que refiere una sensibilidad y especificidad mayores de 95% y 89%, respectivamente, para *P. falciparum*, y una sensibilidad y especificidad mayores de 75% y 95%, respectivamente, para *P. vivax*¹⁰. Encontramos 19% (15/79) de resultados positivos mediante gota gruesa, en comparación a 31,6% (25/79) utilizando el AMRAD®. Ello podría explicarse por persistencia del antígeno HRP-2 circulante en personas que recibieron medicación antimalárica previa^{11,12}, costumbre habitual en zonas endémicas¹³, o como consecuencia del secuestro del parásito¹⁴. Además de reportarse una alta tasa de falsos positivos en pacientes con factor reumatoideo, variable que no pudimos evaluar¹⁵.

En 11,2% de los casos, el AMRAD® dio resultados falsos negativos. Tales casos podrían no haber tenido suficiente cantidad de antígenos en sangre para ser detectados por la prueba rápida, considerando que en este estudio, una tercera parte de los casos tuvieron una parasitemia menor de 1000 parásitos/mL. A pesar que se afirma que las bajas cargas antigénicas podrían explicar los falsos negativos, inexplicablemente en muchos estudios se presentan estos resultados aún con densidades parasitarias altas¹⁶.

También se reportan como posibles causas de resultados falsos negativos, la presencia de una delección del gen para HRP-2¹¹ y la presencia de dificultades físicas para la interpretación de las líneas más tenues de la prueba, principalmente cuando la lectura se realiza en el campo, a diferencia de los exámenes de gota gruesa que se efectúan en la comodidad del laboratorio, además de contar con la destreza del personal que realiza la lectura microscópica.

Nuestros resultados preliminares sugieren que el AMRAD® es poco útil para el diagnóstico de *P. vivax* (sólo alcanzó una sensibilidad de 37,5%), evidenciándose que la utilización del anticuerpo contra el antígeno panmalárico aumentó los resultados falsos positivos, principalmente para malaria *vivax*.

Entre otras pruebas de diagnóstico rápido de malaria, podemos resaltar el ICT Malaria Pf (ParaSight-F®), que tiene una sensibilidad y especificidad reportadas de 95% y entre 81 y 99%, respectivamente^{12,17,18}, aunque su principal limitación es que detecta solo malaria *falciparum*¹⁹. En cambio, el OptiMAL® tiene una sensibilidad entre 85 y 90% y una especificidad de 95%^{20,21}, con la ventaja de detectar en forma simultánea *P. vivax* y *P. falciparum*. Ciertos estudios sugieren que no persiste su positividad luego del tratamiento antimalárico, lo que la haría ideal para el seguimiento de pacientes²²; además, las últimas generaciones del OptiMAL® no necesitan refrigeración.

Ambas pruebas ya han sido empleadas en nuestro medio. A mediados de 1999, el MINSA realizó un estudio para el diagnóstico rápido de malaria en áreas rurales de la Amazonía con la prueba OptiMAL, encontrando una alta concordancia entre los resultados obtenidos por los promotores de salud en comparación con profesionales de laboratorio²²; en tanto, que a fines de ese mismo año, el MINSA también distribuyó un lote del ParaSight-F® en

Piura (costa norte), en zonas con poca accesibilidad para confirmar el diagnóstico de malaria, lográndose resultados favorables, incluyendo una percepción positiva de parte de los proveedores²³.

En conclusión, este reporte preliminar sugiere que el AMRAD® en el Perú presentaría poca utilidad para el diagnóstico de malaria por *P. vivax* y/o *P. falciparum*, siendo necesario una mayor cantidad de pacientes para confirmar estos resultados.

REFERENCIAS

1. **WHO.** Implementation of the global malaria control strategy: report of a WHO Study Group. Geneva: WHO; 1993. WHO Technical Report Series N°839.
2. **MINSA.** Vigilancia del Síndrome Febril en áreas de alto riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas de impacto en salud pública. Lima: MINSA; 2001.
3. **Genton B, Smith T, Baea K, Narara A, al-Yaman F, Beck HP, et al.** Malaria: How useful are clinical criteria for improving the diagnosis in a highly endemic area? Trans R Soc Trop Med Hyg 1994; 88(5): 537-41.
4. **Chauca H, Quintana J.** Evaluación in vivo de la respuesta de *Plasmodium falciparum* a la cloroquina en foco carretera Yurimaguas-Tarapoto (Región Loreto). Rev Per Epidemiol 1993; 6: 34-9.
5. **Colán E, Quintana J, Ferrel R, San Román E, Ríos R.** Malaria por *Plasmodium falciparum* en el Amazonía Peruana. Rev Farmacol & Therapeut 1993; 3: 11-6.
6. **WHO.** Roll Back Malaria. Geneva:WHO; 1998.
7. **Programa Nacional de Control de Malaria y otras Enfermedades Metaxénicas.** Informe de Gestión. Lima: MINSA; 1998.
8. **WHO.** Malaria diagnosis. Memorandum from a WHO Meeting. Bull WHO 1988; 66: 575-94.
9. **Quick Hd, Laing RO, Ross-Degnan DG.** Intervention research to promote clinically effective and economically efficient use of pharmaceuticals: the international network for rational use of drugs. J Clin Epidemiol 1991; 44: 575-6.
10. **Tjitra E, Suprianto S, Dyer M, Currie BJ, Anstey NM.** Field evaluation of the ICT malaria P.f/P.v immunochromatographic test for detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in patients with a presumptive clinical diagnosis of malaria in eastern Indonesia. J Clin Microbiol 1999; 37: 2412-7.
11. **Beadle C, Long GW, Weiss WR, Mc Elroy PD, Maret SM, Oloo AJ, et al.** Diagnosis of malaria by detection of *Plasmodium falciparum* HRP-2 antigen with a rapid dipstick antigen-capture assay. Lancet 1994; 343: 564-8.
12. **Tjitra E, Suprianto S, McBroom J, Currie BJ, Anstey NM.** Persistent ICT Malaria P.f/P.v Panmalarial and HRP2 antigen reactivity after treatment of *Plasmodium falciparum* malaria is associated with gametocytemia and results in false-positive diagnosis of *Plasmodium vivax* in convalescence. J Clin Microbiol 2001; 39(3): 1025-31.
13. **Makler MT, Palmer CJ, Ager AL.** Review of practical techniques for the diagnosis of malaria. Ann Trop Med Parasitol 1998; 92: 419-33.
14. **Bustos DG, Olveda RM, Negishi M, Kurimura T.** Evaluation of a new rapid diagnostic test "Determine™ malaria pf" against standard blood film, ICT Malaria PF™ and ParaSight™ F. Jap J Trop Med Hyg 1999; 27: 417-25.
15. **Wongsrichanalai C, Chuasak N, Tulyayon S, Thanosingha N, Laoboonchai A, Thimasaru K, et al.** Comparison of a rapid field immunochromatographic test to expert microscopy for the detection of *Plasmodium falciparum* asexual parasitaemia in Thailand. Acta Trop 1999; 73: 263-73.
16. **Stow NW, Torrens JK, Walker J.** An assessment of the accuracy of clinical diagnosis, local microscopy and a rapid immunochromatographic card test in comparison with expert microscopy in the diagnosis of malaria in rural Kenya. Trans R Soc Trop Med Hyg 1999; 93: 519-20.
17. **Di Perri G, Oliaro P, Nardi S.** The ParaSight-F rapid antigen capture assay for monitoring parasite clearance after drug treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1997; 91: 403-5.
18. **World Health Organization.** A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria. Geneva: WHO; 1995. WHO/MAL/95.1072.
19. **Cooke AH, Chiodini P, Doherty T.** Comparison of a parasite lactate dehydrogenase-based immunochromatographic antigen detection assay (OPTIMAL) with microscopy for the detection of malaria parasites in human blood samples. Am J Trop Med Hyg 1999; 60: 109-18.
20. **Mackler MT, Hinrichs DJ.** Measurement of the lactate dehydrogenase activity of *Plasmodium falciparum* as an assessment of parasitemia. Am J Trop Med Hyg 1993; 48: 205-10.
21. **Palmer CJ, Lindo JF, Klaskala WI.** Evaluation of the OPTIMAL test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria. J Clin Microbiol, 1998; 36: 203-6.
22. **MINSA.** Evaluación del uso de una prueba rápida inmunocromatográfica por promotores de salud para el diagnóstico de malaria en áreas rurales de la Amazonía Peruana. Informe Técnico. Lima: MINSA; 1999.
23. **Llanos F, Huayta E, Mendoza D, Rosas A, Contreras C, Peinado J.** Conocimientos y percepciones de los trabajadores de salud de una zona endémica de malaria en el Perú sobre la prueba de diagnóstico rápido ParaSight-F. Rev Med Hered 2000; 11(4): 115-21.