

Nuevas Perspectivas en el Diagnóstico de la Malaria: Pruebas Rápidas a Base de Cintas Reactivas (dipsticks).

Jackeline Alger, MD, PhD*

Debido a que el diagnóstico clínico de la malaria no es confiable por la inespecificidad de los síntomas, siempre es recomendable realizar una confirmación por el laboratorio. Sin embargo, un problema en el ámbito mundial es que el diagnóstico microscópico no está disponible de manera temprana y oportuna en todos los servicios de salud periféricos ni en las comunidades donde más se necesita debido a limitaciones logísticas y de infraestructura. Por ejemplo, para mantener una red de diagnóstico microscópico funcional en la periferia es necesario contar con un número suficiente de microscopistas entrenados, microscopios en buen estado, suministro adecuado de reactivos y materiales, supervisiones capacitantes frecuentes y control de calidad. Todo lo anterior requiere de recursos humanos y financieros normalmente no disponibles y el resultado inmediato cuando no se cuenta con estos requerimientos es un diagnóstico microscópico no confiable. Es así como el advenimiento reciente de las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria ha atraído el interés internacional.

En la última década se desarrollaron novedosas herramientas inmunocromatográficas a partir de una muestra de sangre periférica obtenida con lanceta: las cintas reactivas o dipsticks. Aunque su producción requiere de una tecnología avanzada, su principal ventaja es poder ser

aplicadas en el campo utilizando muy poca tecnología. El principio de las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) es la detección de un antígeno específico parasitario a través de su captura con un anticuerpo monoclonal que se encuentra adsorbido en una cinta de nitrocelulosa y la adición de un reactivo para su revelado. La tecnología de las cintas reactivas ha sido empleada con éxito en bioquímica clínica.

Aunque en la actualidad existe varias PDR en diferentes fases de comercialización, el formato de todas ha sido diseñado para detectar antígenos de *Plasmodium*. El anticuerpo monoclonal adsorbido en la cinta puede ser IgG o IgM (generalmente de origen murino) y está dirigido contra una proteína constitucional o enzimática específica del parásito. La unión anticuerpo – antígeno se puede observar al agregar un segundo anticuerpo (IgG o IgM) conjugado a una sustancia que reacciona colorimétricamente, por ejemplo sulfo-rodamina B y oro coloidal. El segundo anticuerpo (generalmente de conejo) puede ser monoclonal o policlonal. Todas las cintas reactivas contienen un área (línea) para el control positivo y otra(s) área(s) que es el área para examinar la muestra en estudio. El tiempo total de la prueba se ha informado desde menos de 10 hasta 20 minutos y se ha adiestrado exitosamente en su uso a personal comunitario. Las PDR tienen un límite de detección de parasitemia similar al de la gota gruesa. Parasitemias inferiores a 100 parásitos (estadios asexuales sanguíneos) por microlitro de sangre (100 p/ul) reducen substancialmente la sensibilidad. Parasitemias

* Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Escuela

superiores a 1000 p/ul demuestran sensibilidad muy cercanas al 100%. Es decir, su mejor aplicabilidad es en el diagnóstico de casos sintomáticos (parasitemias altas) y no con casos subclínicos, crónicos, asintomáticos o portadores de gametocitos que generalmente presentan parasitemias bajas. En general, para que una de estas pruebas sea efectiva, debe ser específica, es decir no reaccionar con proteínas de otros parásitos o del humano, y la proteína que detecta debe ser una proteína vital y conservada, lo que resulta en una mayor sensibilidad. Además, idealmente esta proteína debe ser aclarada rápidamente del organismo del humano cuando los parásitos no son viables. Como se verá a continuación, estas características no siempre se encuentran.

La primera PDR fue ParaSight®-F (Becton Dickinson Advanced Diagnostics, Sparks, MD, USA) que detecta una proteína de *P. falciparum* rica en el aminoácido histidina (PfHRP-II). Su principal limitante es que algunos parásitos no contienen la proteína y por lo tanto puede haber falsos negativos. Otra limitante es que la antigenemia persiste en la gran mayoría de los individuos dos días después de iniciado el tratamiento, cuando los parásitos ya no son viables, y en una minoría de casos puede persistir más allá de dos semanas produciéndose falsos positivos. Otra PDR basada en PfHRP-II es PATH falciparum malaria IC Strip (Advanced MicroDevices, Ambala, India), desarrollada por el Programa de Tecnología Apropriada en Salud (PATH, Seattle, WA, USA) y que al transferir la tecnología a fabricantes de países en desarrollo, espera reducir los costos de la prueba en alrededor de 50%. Esta reducción es substancial ya que los costos de las pruebas comerciales es de US \$ 3-10 por prueba. OptiMal® (Flow Inc., Portland, OR, USA) es una PDR que detecta la enzima deshidrogenasa láctica producida por parásitos vivos de *P. falciparum* y *P. vivax* (pLDH). En esta cinta, además del control positivo, hay dos líneas, una que contiene pLDH específica para *P. falciparum* y otra que es pan-específica, para *P. falciparum* y *P. vivax*. Por lo tanto, OptiMal® puede detectar infecciones únicas de ambas especies pero no puede diferenciar una infección mixta de una malaria falciparum. En Honduras se han realizado dos evaluaciones de campo recientes del OptiMal® (C.J. Palmer et al, 1998; M. Quintana et al, 1998). En vista de que la enzima es producida solamente por parásitos vivos, se postula que esta PDR es útil para evaluar la respuesta a la terapia antimalárica.

¿Cuál es la aplicabilidad de las PDR en los sistemas de salud pública de los países en desarrollo donde se encuentra con mayor intensidad el problema de la malaria? En la actualidad su aplicabilidad es mínima debido al costo. Su mayor utilidad está en países donde hay transmisión de ambos, *P. vivax* sensible y de *P. falciparum* resistente, como en el sudeste asiático y algunos países sudamericanos (Brasil). En esta situación, el costo de la prueba no excede o es menor que el costo del medicamento alternativo a la cloroquina. Es decir, la prueba es muy útil cuando necesitamos diferenciar de entrada las infecciones por *P. falciparum* ya que recibirán un tratamiento diferente a las infecciones por *P. vivax*, usualmente un tratamiento más largo y caro. Otra aplicación práctica de las PDR es en los países desarrollados donde no hay transmisión de malaria y por lo tanto no cuentan con una red de microscopistas entrenados. En esta situación, es necesario establecer tempranamente el diagnóstico de malaria falciparum resistente en viajeros no inmunes por su potencial letalidad. En Honduras la cloroquina permanece efectiva como droga antimalárica, afortunadamente, y es improbable que las PDR se utilicen ampliamente mientras los costos no se reduzcan. Por lo tanto, es necesario fortalecer nuestra red de laboratorios en el diagnóstico microscópico de la malaria.

REFERENCIAS

1. Shiff CJ, J Minjas and Z Premji. The ParaSight®-F test: A simple rapid manual dipstick test to detect *Plasmodium falciparum* infection. *Parasitology Today* 1994; 10: 494-5.
2. World Health Organization. Informal consultation on recent advances in diagnostic techniques and vaccines for malaria. A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria. *Bulletin of the World Health Organization* 1996; 74: 47-54.
3. Mills CD, DCH Burgess, HJ Taylor and KC Kain. Evaluation of a rapid and inexpensive dipstick assay for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria. *Bulletin of the World Health Organization* 1999; 77: 553-9.
4. Palmer CJ, JF Lindo, WI Klaskala, JA Quesada, R Kaminsky, MK Baum and AL Ager. Evaluation of the OptiMal Test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36: 203-6.
5. Quintana M, R Piper, HL Boling, M Mackler, C Sherman, E Gil, E Fernández and S Martin. Malaria diagnosis by dipstick assay in a Honduran population with coendemic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1998; 59: 868-71.
6. Alger J. Diagnóstico microscópico de la malaria: gota gruesa y extendido fino. *Revista Médica Hondureña* 1999; 67: 216-8.
7. World Health Organization. Malaria diagnosis: new perspectives. WHO/MAL/2000.1091 – WHO / CDS / RBM / 2000.14.