

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de la prueba rápida inmunocromatográfica Binax NOW® ICT *Pf/Pv* para el diagnóstico del paludismo en un área endémica de Colombia

Adriana Pabón, Gonzalo Álvarez, Jorge Yáñez, Carlos Céspedes, Yensa Rodríguez, Ángela Restrepo, Silvia Blair

Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Introducción. Una de las estrategias para disminuir la morbimortalidad por paludismo es realizar un diagnóstico temprano mediante pruebas rápidas de baja complejidad técnica, altamente sensibles y específicas, que puedan ser realizadas e interpretadas por personas de la misma comunidad, garantizando un tratamiento antipalúdico adecuado y oportuno.

Objetivo. Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba inmunocromatográfica Binax NOW® malaria ICT *P.f/P.v* para el diagnóstico rápido de paludismo en Turbo, Antioquia.

Materiales y métodos. Se incluyeron 171 pacientes distribuidos en dos grupos: el primero "pruebas simultáneas", 118 pacientes con síndrome febril agudo compatible con paludismo a los cuales se les aplicó ICT *Pf/Pv* y gota gruesa simultáneamente. El segundo "pruebas secuenciales", 53 pacientes con diagnóstico positivo por gota gruesa quienes se estudiaron para diagnóstico confirmatorio y seguimiento parasitológico los días 4 y 7 con ICT.

Resultados. La sensibilidad y la especificidad de la prueba Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* para diagnosticar infecciones por *Plasmodium falciparum* fueron 54,2% (IC95%: 52%-53,4%) y 93,6% (IC95%: 93,1%-94,2%), respectivamente, mientras que para *Plasmodium vivax* fueron 80% (IC95%: 77,9%-82,1%) y 100% (IC95%: 99,5%-100%); hubo disminución de la sensibilidad hasta 21,4% para *P. falciparum* y 33,3% para *P. vivax* con parasitemias menores de 500 parásitos/ul. En cuanto al diagnóstico confirmatorio, la prueba ICT *Pf/Pv* presentó una sensibilidad global de 71,6% con 20,7% de falsos positivos y 5,6% de falsos negativos. En el seguimiento, ICT mostró 36% y 34% de falsos positivos para los días 4 y 7, respectivamente.

Conclusiones. La prueba Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* como prueba diagnóstica mostró una sensibilidad muy baja para infecciones por *P. falciparum* y su capacidad para detectar parasitemias menores de 500 parásitos/ul es mínima. Como diagnóstico confirmatorio, la prueba ICT *P.f/P.v.* tiene buena sensibilidad para *P. falciparum*. Su uso para seguimiento de los pacientes no se recomienda.

Palabras clave: paludismo/diagnóstico, sensibilidad y especificidad, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*.

Evaluation of ICT malaria immunochromatographic Binax NOW® ICT *P.f/P.v* test for rapid diagnosis of malaria in a Colombian endemic area

Introduction. One of the strategies to reduce malarial morbidity and mortality is to make an early diagnosis, using simple rapid tests which are highly sensitive and specific. Furthermore, the tests must be easy to perform and understand by local people in such a way that a suitable and prompt antimalarial treatment is guaranteed.

Objective. The sensitivity and specificity was determined for the immuno-chromographic malaria dipstick (ICT *Pf/Pv*) test for the rapid diagnosis of malaria in Turbo, Antioquia.

Materials and methods. The sample consisted of 171 patients distributed into two groups: the first group was 118 patients with acute febrile syndrome compatible with malaria to which ICT *Pf/Pv* and thick smears were applied simultaneously; a second group was 53 patients with positive diagnosis by thick smear, with follow-up on the 4th and 7th days after beginning treatment.

Results. Sensitivity and specificity of the ICT Pf/Pv test for *Plasmodium falciparum* infections were 54.2% (95%CI: 52.0-53.4%) and 93.6% (95%CI: 93.1-94.2%), respectively. In addition, for *Plasmodium vivax* the sensitivity and specificity were 80% (95%CI: 77.9-82.1%) and 100% (95%CI: 99.5-100%); there was a 21.4% loss of sensitivity for *P. falciparum* and a 33% loss for *P. vivax* malaria with parasitaemias under 500 parasites/ul. For the confirmatory test, ICT Pf/Pv showed a global sensitivity of 71.6% with 20.7% false positive and 5.6% false negative results. During follow-up, ICT showed 36% and 34% false positive results for day 4 and 7, respectively.

Conclusions. The ICT Pf/Pv test has a poor sensitivity for *P. falciparum* malaria and its capacity to detect parasitemias under 500 parasites/ul is minimal. As a confirmatory test, the ICT Pf/Pv has a good sensitivity for *P. falciparum*. Its use for patient follow-up is not recommended.

Key words: malaria/diagnosis, sensitivity and specificity, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*.

En vista del fracaso de los planes de erradicación del paludismo llevados a cabo entre 1958 y 1968, la Organización Mundial de Salud, OMS, ha priorizado la búsqueda de estrategias de control tales como "Hacer retroceder la malaria"; para ello ha diseñado objetivos a corto y largo plazo. Una de estas estrategias es realizar un diagnóstico temprano mediante pruebas rápidas que sean prácticas, fáciles de realizar, accesibles, económicas y muy sensibles y específicas (1-4).

Según la OMS, el paludismo es una de las principales causas de morbilidad en regiones tropicales y subtropicales del mundo y es una de las enfermedades infecciosas de mayor importancia en Colombia, dado que 70% de la población está expuesta a ella. Según el Informe Epidemiológico Nacional, en Colombia durante el 2005 se presentaron 107.866 casos de paludismo en 22'403.000 personas expuestas, de los cuales, el 65% (70.066) fueron por *Plasmodium vivax*, 33,5% (36.190) por *Plasmodium falciparum* y 1,5% (1.610) como malaria mixta (5).

Desde 1880, cuando se identificó el parásito del paludismo, se ha empleado la gota gruesa para su diagnóstico, la cual permite analizar mayor concentración de sangre, tiene una sensibilidad de 80% y una especificidad 100% (6), permite

diferenciar las especies de *Plasmodium*, las formas del parásito y hacer el recuento de parásitos. Además, es un método económico y fácil de realizar en lugares donde se cuenta con microscopio de luz. Todas estas características han permitido que la gota gruesa sea el método de referencia para el diagnóstico de paludismo porque permite clasificar el grado de la parasitemia y evaluar la respuesta al tratamiento durante el seguimiento.

Sin embargo, por ser una prueba que depende del operador, en ocasiones, la gota gruesa no detecta parasitemias bajas (entre 50-500 parásitos/μl) (7). Estos casos de paludismo que se reportan como negativos retrasan el tratamiento, y contribuyen a la presentación de complicaciones y al aumento de la mortalidad. En zonas rurales que carecen de recursos como microscopios, personal experto e infraestructura eléctrica, se limita su uso. Por lo anterior, se han estimulado investigaciones para el desarrollo de pruebas rápidas de diagnóstico que detecten antígenos de *Plasmodium* spp.

A mediados de los años 90 se desarrollaron las pruebas rápidas de diagnóstico, que consisten en la detección de antígenos específicos expresados por los parásitos del paludismo presentes en individuos infectados, mediante la captura con anticuerpos. Algunas pruebas rápidas pueden detectar solamente una especie (*P. falciparum* o *P. vivax*), otras detectan la presencia sólo del género *Plasmodium* (8-10).

Estos métodos suscitaron el interés porque prometían un diagnóstico rápido, fácil, oportuno, accesible, que potencialmente podría ser utilizado

Correspondencia:

Silvia Blair Trujillo, Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Sede de Investigaciones Universitaria, SIU, Laboratorio 610, Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia.
Teléfono: (574) 210 6486, fax: (574) 210 6487.
sblair@quimbaya.udea.edu.co

Recibido: 05/09/06; aceptado: 06/03/07

en regiones rurales endémicas de paludismo, carentes de servicios de salud y de infraestructura para el diagnóstico de malaria con gota gruesa.

La primera generación de pruebas rápidas se concentró en diseñar pruebas para la detección de infecciones por *P. falciparum*, como ParaSight-F[®], que se basa en la detección de la proteína rica en histidina II (HRP II). Varios estudios han reportado una sensibilidad entre 61% y 95,1% y una especificidad entre 81,1% y 100% (11,12). Esta prueba no ha sido recomendada para uso diagnóstico, puesto que no permite la detección de infecciones por *P. vivax* y es inútil su aplicación en zonas endémicas donde predomina esta especie parasitaria (13).

Posteriormente, se desarrolló la prueba ICT *Pf*, también conocida como MalaQuick[®], que utiliza un anticuerpo monoclonal para detectar el antígeno HRP II y diagnosticar las infecciones por *P. falciparum* (14).

Luego se desarrollaron las pruebas de diagnóstico rápido de segunda generación, capaces de detectar además las infecciones por *P. vivax*, como OptiMAL[®], que se basa en la detección de la proteína lactato deshidrogenasa específica de especie. Ella ha mostrado que su valor diagnóstico varía, con valores de sensibilidad para *P. falciparum* entre 40,0% y 98,1% y de especificidad entre 96% y 99,7% (15-18) y para *P. vivax* sensibilidad entre 60% y 97% y la especificidad entre 89% y 100% (7,15-18), mostrando resultados contradictorios en cuanto a su posible utilización. La prueba ha mostrado una baja sensibilidad (44%) cuando la parasitemia es menor de 500 parásitos/ μ l (7).

Una de las técnicas más recientes de diagnóstico rápido es la prueba inmunocromatográfica de sangre total (ICT *P. falciparum/P. vivax*) Binax NOW[®] malaria ICT *Pf/Pv*, la cual se basa en la detección de los antígenos HRP-II y panmalárico (15). Estos dos son capturados por anticuerpos monoclonales de tipo IgM; la HRP-II es una proteína que se expresa en la membrana del eritrocito infectado con *P. falciparum* y se libera a partir de las formas asexuales y de los gametocitos jóvenes (19) y el antígeno panmalárico o aldolasa específica de parásito, es producido por las cuatro especies del *Plasmodium*

que infectan al hombre (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* y *P. malariae*) (20).

Para evaluar la capacidad diagnóstica de la prueba ICT *Pf/Pv*, se han llevado a cabo varios estudios en los que se informa una sensibilidad de 81% a 97,5% y una especificidad de 81% a 99,2% para *P. falciparum* y una sensibilidad de 44% a 100% y una especificidad de 94,8% a 100% para *P. vivax* (7,15,21,22, Mendoza NM, García M, Vela CM, Erazo R, Pérez P, Cortés LJ. Evaluación de dos pruebas rápidas ICT *Pf/Pv* y OptiMAL para el diagnóstico de malaria en Tumaco, Colombia. Resúmenes XI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica 2003;23 (Supl.1):140). Al igual que con las otras pruebas, varios estudios han reportado que la sensibilidad disminuye acentuadamente, hasta 23%, cuando la parasitemia está por debajo de 500/ μ l (7).

Una de las aplicaciones que se le ha atribuido a la prueba ICT *Pf/pv*, es la detección de antígenos del parásito cuando hay un secuestro del mismo, que dificulta su diagnóstico en sangre periférica; por ejemplo, en el caso de secuestro de parásitos en la placenta de mujeres embarazadas (23,24).

Entre las desventajas de la prueba ICT *Pf/Pv* está la incapacidad para identificar infecciones mixtas y diagnosticar paludismo por especies diferentes a *P. falciparum* y *P. vivax*, y no poder ser utilizada para seguimiento de la respuesta al tratamiento, porque sigue siendo positiva por la persistencia de los antígenos aun después de la desaparición de los parásitos. También, ha mostrado resultados falsos positivos con sólo la presencia de gametocitos de *P. falciparum* y reacciones cruzadas con factor reumatoideo y ANAS, (26%) (25). Por tanto, estos dos aspectos deben considerarse en la interpretación de resultados positivos con la prueba ICT *Pf/Pv*.

Por otra parte, se han reportado falsos negativos en altas parasitemias debido al fenómeno prozona por la gran antigenemia (26,27) o por la ausencia del gen que codifica para la proteína HRP –II en un 2% a 3 % de los parásitos de la malaria (16).

Teniendo en cuenta los pocos estudios en Colombia para evaluar la capacidad diagnóstica

de la técnica Binax NOW® malaria ICT Pf/Pv en paludismo, se determinó la sensibilidad, la especificidad y la capacidad confirmatoria de la prueba inmunocromatográfica ICT Pf/Pv para el diagnóstico rápido de paludismo en Turbo, Antioquia, zona endémica para paludismo, durante un periodo no epidémico de 2003.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Descriptivo de evaluación de una prueba diagnóstica.

Lugar de estudio

Turbo, Antioquia, municipio localizado en la zona del Urabá antioqueño el cual presentó en el año 2003, 4.057 casos de paludismo, de los cuales, 1.120 casos fueron por *P. falciparum* y 2.937 por *P. vivax*. Este municipio registró un índice parasitario anual (IPA) para ese año de 27,11 por 1.000 (28,29). La investigación se hizo durante un periodo no epidémico, entre los meses de junio y julio de 2003.

Población de referencia

Conformada por los pacientes que asistieron por su propia iniciativa al puesto de diagnóstico de paludismo de los centros de salud San José, El Dos y Currulao, o al hospital Francisco Valderrama. Fueron pacientes ambulatorios, sin complicaciones, de uno u otro sexo, de uno o más años de edad, residentes en el municipio de Turbo, Antioquia, en la zona urbana o rural.

Pacientes

Los pacientes incluidos se dividieron en dos grupos independientes:

Grupo 1. Pruebas simultáneas o grupo de tamizaje: conformado por pacientes que consultaron a los centros de salud por fiebre o antecedentes de fiebre en las 48 horas previas al momento de la consulta, a quienes se les realizó el examen por gota gruesa y Binax NOW® malaria ICT Pf/Pv de forma simultánea para evaluar la capacidad diagnóstica de la prueba.

Grupo 2. Pruebas en secuencia o grupo para diagnóstico confirmatorio: conformado por

pacientes a quienes se les aplicó un diseño secuencial. Tuvieron inicialmente un diagnóstico positivo para malaria por gota gruesa y se les aplicó el mismo día la prueba ICT Pf/Pv. También se utilizó esta prueba rápida los días 4 y 7 para evaluar su utilidad en estudios de seguimiento de la respuesta terapéutica. Todos los pacientes palúdicos fueron tratados por el personal de salud del Hospital de Turbo de acuerdo con el resultado de la gota gruesa y conforme a las disposiciones del Ministerio de Salud de Colombia.

Consideraciones éticas

Los aspectos éticos de este estudio se rigieron bajo las “Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud”, resolución No. 008430 de 1993. El proyecto fue sometido a evaluación y aprobado por parte del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia (comunicación CIM, agosto 2003). A cada paciente que aceptó participar se le informó del estudio, sus objetivos, riesgos y beneficios. Una vez aceptada su participación (o la de su hijo), se obtuvo la firma del consentimiento informado que cumplía con los requisitos establecidos por el Comité de Ética de la Universidad de Antioquia.

Diagnóstico de paludismo

Gota gruesa: la gota gruesa fue utilizada como prueba estándar de referencia; ésta se obtuvo por la punción capilar de un dedo de la mano o del talón. Luego de realizar la antisepsia respectiva, se descartó la primera gota de sangre y las siguientes se utilizaron para el examen de la gota gruesa, el extendido de sangre periférica y la prueba ICT Pf/Pv.

La tinción de la gota gruesa se hizo con la coloración de Field y la lectura se llevó a cabo en microscopio de luz con objetivo de 100X. La parasitemia se calculó con base en 200 leucocitos y un estándar de 8.000 leucocitos/ μ l y se expresó en parásitos/ μ l (30). En este estudio, el examen de gota gruesa se consideró positivo si se observaron formas asexuales del parásito acompañadas o no de gametocitos y se consideró como negativo cuando sólo había formas sexuales de *P. falciparum* o no se observó ninguna forma

asexual en mínimo 200 campos microscópicos (22,30). La lectura de la gota gruesa la realizó un bacteriólogo experto en diagnóstico de paludismo en forma ciega, es decir, sin conocimiento de los resultados obtenidos en la prueba ICT *Pf/Pv*.

Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv*: para la realización de la prueba rápida se siguieron las indicaciones del fabricante. En resumen, se tomaron 15 µl de sangre capilar y se impregnaron en la almohadilla violeta de la tirilla; se aplicaron dos gotas de reactivo A en la almohadilla blanca inmediatamente por debajo del lugar de aplicación de la sangre; posteriormente, se aplicaron cuatro gotas del mismo reactivo A en la almohadilla de la parte superior izquierda de la tarjeta de prueba; se esperó hasta que la sangre recorriera toda la tirilla; luego de esto, se cerró la tarjeta de prueba y se dejó en posición horizontal sobre una superficie plana durante 10 minutos e inmediatamente se realizó la lectura de la prueba. Las pruebas Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* procedían del lote 011590 referencia 660000.

La lectura de la prueba la realizó un bacteriólogo, quien tampoco tenía conocimiento de los resultados obtenidos en la gota gruesa. La tarjeta de prueba se consideró como válida si marcaba la línea de control. Se consideró un resultado positivo para *P. falciparum* cuando la línea de lectura correspondiente a HRP-II se hizo visible sola o acompañada de la línea correspondiente al antígeno panmalárico; se consideró como positiva para *P. vivax* si aparecía la línea correspondiente al antígeno panmalárico sin la presencia de HRP-II.

Interpretación de resultados

Para la interpretación, se tuvieron en cuenta las siguientes definiciones:

verdaderos positivos, son los resultados que fueron positivos en la gota gruesa para *P. falciparum* o *P. vivax* y positivos para igual especie por ICT *Pf/Pv*;

verdaderos negativos, son los resultados negativos para paludismo por gota gruesa y con prueba ICT *Pf/Pv*, en los que sólo se visualizó la línea de control;

falsos positivos, se presentaron cuando la gota gruesa fue negativa y la prueba ICT *Pf/Pv* fue positiva para cualquier especie o cuando la gota

gruesa detectó *P. vivax* y por ICT *Pf/Pv* se detectó *P. falciparum*, o viceversa;

falsos negativos, se presentaron cuando la gota gruesa fue positiva para cualquier especie y con el ICT *Pf/Pv* sólo se visualizó la línea de control.

Análisis estadístico

Para el manejo de la información se utilizó el programa EpiInfo versión 6.04. Se creó una base de datos con toda la información contenida en la encuesta. Los resultados de la evaluación diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores de predicción positivos y negativos) se expresaron en porcentaje y fueron calculados con el programa EPIDAT Versión 3.0.

Comparación de la prueba ICT *Pf/Pv* con la gota gruesa

Se comparó la parasitemia con respecto a la intensidad de la coloración de la banda del antígeno HRP-II y panmalárico de la prueba ICT mediante análisis de varianza de una vía. La intensidad de la banda se agrupó en tres categorías, así: 1) intensidad más baja que la línea de control, 2) intensidad similar a la línea de control y 3) intensidad más alta que la línea de control. Siempre se consideraron un nivel de significancia menor de 5% ($p < 0,05$) y un nivel de 95% para los intervalos de confianza.

Resultados

Se evaluaron 171 pacientes distribuidos en los dos grupos: 118 en el grupo de pruebas simultáneas y 53 pacientes en el estudio de pruebas secuenciales. El 51% fueron hombres, la edad promedio fue $22,7 \pm 16,5$ años, 75% residían en la zona rural y el tiempo promedio de residencia en la zona fue de $10,2 \pm 13,1$ años. El 31% de los pacientes presentaron, como mínimo, un episodio de malaria en los 12 meses anteriores.

Grupo 1. Pruebas simultáneas: a 118 pacientes se les aplicó de manera simultánea el examen de gota gruesa y la prueba ICT *Pf/Pv*. Antes de la realización del estudio, no se hizo un cálculo del tamaño de muestra para evaluar la prueba diagnóstica. Al calcular el tamaño de la muestra *post hoc*, con una sensibilidad de 73,5%, una

prevalencia del 41,5%, una precisión absoluta del 12% y un nivel de confianza del 95%, arrojó un tamaño de muestra de 125 individuos de los cuales 73 debían ser sanos y 52 enfermos. Este número es similar al evaluado en este estudio.

Los resultados de la comparación de la gota gruesa e ICT *Pf/Pv* se encuentran en el cuadro 1. De los 118 pacientes, 49 (41,5%) fueron positivos por gota gruesa; de éstos, 25 (51%) fueron positivos para *P. vivax* y 24 (49%), para *P. falciparum*. La sensibilidad y la especificidad global fueron 73,5% y 95,7%, respectivamente. Para *P. vivax* la sensibilidad y la especificidad fueron 80% y 100%, respectivamente, mientras que para *P. falciparum* la sensibilidad fue 54,2% y la especificidad 93,6% (cuadro 2).

Cuadro 1. Comparación de los resultados obtenidos por gota gruesa y Binax NOW® malaria ICT *P.f/P.v*

	Resultado	Gota gruesa			Total
		<i>Pf</i>	<i>Pv</i>	Negativo	
ICT <i>Pf/Pv</i>	<i>P. falciparum</i>	13	3	3	19
	<i>P. vivax</i>	0	20	0	20
	Negativo	11	2	66	79
	Total	24	25	69	118

Pf: *Plasmodium falciparum*, *Pv*: *Plasmodium vivax*

Sensibilidad total: 73,5% (36/49) IC95%: 72,4%-74,6%
 Especificidad total: 95,7% (66/69) IC95%: 94,9%-96,4%
 VPP: 92,3% IC95%: 91,0%-93,6%
 VPN: 83,5% IC95%: 82,9%-84,2%
 Prevalencia: 41,5% IC95%: 41,1%-42,0%
 RV*+:16,9 IC95%: 16,8-17,0
 RV-:0,28

La parasitemia media en todo el grupo fue de 4.391±8.550 parásitos/μl de sangre. Para las infecciones por *P. falciparum* el promedio de parasitemia fue de 3.476±7438 anillos/μl y para *P. vivax* de 5.270±9568 parásitos/μl. De los 49 casos positivos detectados por gota gruesa, la prueba ICT *Pf/Pv* no detectó 13, de los cuales, dos fueron positivos para *P. vivax*, con una parasitemia de 332±28 parásitos/μl, y 11 fueron positivos para *P. falciparum*, con una parasitemia de 60±37 anillos/μl.

Para evaluar la sensibilidad de la prueba ICT *Pf/Pv* en función de la parasitemia, los 49 casos positivos por gota gruesa se agruparon en tres grupos de acuerdo con el grado de parasitemia; cada grupo correspondía al 33% del total de los pacientes. Se encontró que la sensibilidad de la ICT *Pf/Pv* disminuye en forma directa con la parasitemia. Esta prueba fue positiva sólo en 3 de los 14 (21,4%) pacientes que tuvieron gota gruesa positiva para *P. falciparum* y en 1 de 3 (33%) con gota gruesa positiva para *P. vivax* y cuyas parasitemias fueron menores de 500 parásitos/μl. Con parasitemias mayores a 500 parásitos/μl, la ICT *Pf/Pv* tuvo una sensibilidad de 100% (4/4) y 84,6% (11/13) para *P. falciparum* y *P. vivax*, respectivamente (cuadro 3).

La parasitemia no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto a la intensidad de la coloración de la banda, tanto para la línea del antígeno panmalárico como para el HRP-II (cuadro 4).

Cuadro 2. Valores de sensibilidad y especificidad del ICT *P.f./P.v* Binax NOW® malaria por especie de *Plasmodium*.

ICT <i>P.f/P.v</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>		<i>Plasmodium vivax</i>		
	Gota gruesa		Gota gruesa		
	<i>Pf</i>	No <i>Pf</i>	<i>Pv</i>	No <i>Pv</i>	
<i>P. falciparum</i>	13	6	<i>P. vivax</i>	20	0
No <i>P. falciparum</i>	11	88	No <i>P. vivax</i>	5	93
Total	24	94	Total	25	93
Sensibilidad: 54,2 %; IC95%: 52,0%-56,4%			Sensibilidad: 80,0%; IC95%:72,9%-82,1%		
Especificidad: 93,6%; IC95%: 93,1%- 94,2%			Especificidad: 100%; IC95%: 99,5% -100%		
VPP: 68,4%; IC95%: 65,7%-71,2%			VPP: 100%; IC95%: 65,7%-71,2%		
VPN: 88,9%; IC 95%: 88,4%-89,4%			VPN: 94,9%; IC95%: 94,4%-95,4%		
Prevalencia: 20,3%; IC 95%: 19,9% ; 20,8%			Prevalencia: 21,2%; IC95%: 20,7% ; 21,7%		
RV*+: 8,5; IC95%: 8,4-8,5			No determinada		
RV-:0,5			RV-:0,2		

* Razón de verosimilitud (*likelihood ratio*)

Cuadro 3. Valores de sensibilidad del Binax NOW® malaria ICT *P.f/P.v* según grado de parasitemia por gota gruesa.

Sensibilidad según especie	Parasitemia en gota gruesa* (parásitos/μl)		
	<500	500-3.000	>3.000
<i>P. falciparum</i>	21,4% (3/14)	100% (4/4)	100% (6/6)
<i>P. vivax</i>	33,3% (1/3)	84,6% (11/13)	88,9% (8/9)

*Los grupos de parasitemia se dividieron de forma que cada grupo representara 33,3% de los pacientes.

Grupo 2. Pruebas secuenciales: de los 53 casos positivos por gota gruesa, la prueba rápida mostró que fueron positivos 27 (50,9%) para *P. vivax* y 23 (43,4%) para *P. falciparum*, y 3 (5,7%) fueron negativos. Como diagnóstico confirmatorio, la prueba ICT tuvo una sensibilidad total de 71,6%; para *P. falciparum* la sensibilidad fue de 95% y para *P. vivax* fue de 76%.

De estos 53 pacientes incluidos, 38 tuvieron seguimiento en los días 4 y 7; a 12 se les realizó seguimiento sólo en el día 4 y a 3 pacientes, sólo en el día 7. Cinco pacientes continuaron positivos por gota gruesa al día 4 y uno lo fue hasta el día 7; mientras que, por la prueba ICT *Pf/Pv*, 22 continuaron positivos hasta el día 4 y 15 hasta el día 7 (cuadro 5).

El día 0, la prueba ICT arrojó 11 casos falsos positivos (20,7%); tres correspondieron a infecciones por *P. vivax* y 8 tuvieron infecciones mixtas. Además, se presentaron tres casos falsos negativos (5,6%) correspondientes a infecciones por *P. vivax*. En el día 4 se presentaron 18 casos de falsos positivos (36%), 15 para *P. falciparum*,

de los cuales, 5 tuvieron gota gruesa negativa con presencia de gametocitos. En el día 7, se presentaron 14 casos falsos positivos (34%), 13 con diagnóstico de malaria por *P. falciparum*; de ellos, 5 presentaron sólo gametocitos en la gota gruesa. La sensibilidad y la especificidad de la prueba ICT para el día 4 fueron 80% y 60%, respectivamente; y, para el día 7, la sensibilidad fue de 100% y la especificidad sólo de 65%.

Discusión

En el presente estudio, se encontró que la prueba Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* posee en forma global una sensibilidad y una especificidad para diagnosticar paludismo de 73,4% (IC 95%: 72,7%-74,5%) y 95,7% (IC95%: 94,9%-96,4%), respectivamente. Por especie, la prueba Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* mostró para *P. falciparum* una sensibilidad de 54,2% (IC95%: 51,9%-56,3%) y una especificidad de 93,6 (IC95%: 93,1%-94,2%), mientras que para *P. vivax* la sensibilidad fue de 80% (IC95%: 77,9%-82,1%) y la especificidad de 100% (IC95%: 99,5%-100%). Con parasitemias menores de 500 parásitos/μl, la prueba Binax NOW® malaria ICT *Pf/Pv* mostró una sensibilidad de 21,4 % para *P. falciparum* y de 33% para *P. vivax*. Cuando la prueba Binax NOW® malaria ICT *P.f/P.v* se utilizó para un diagnóstico confirmatorio, presentó una sensibilidad global de 71,6% con 20,7% de falsos positivos y 5,6% falsos de falsos negativos. En el seguimiento, la ICT mostró 36% y 34% de falsos positivos para los días 4 y 7 de seguimiento, respectivamente.

En este estudio, los resultados obtenidos después de la aplicación de la prueba Binax NOW® malaria

Cuadro 4. Comparación de la parasitemia obtenida por gota gruesa con la intensidad de la coloración de la banda del antígeno HRP-II y panmalárico de la prueba ICT.

Intensidad de la banda	Antígeno HRP-II Parasitemia* (Promedio±DE)	Antígeno panmalárico Parasitemia* (Promedio±DE)
Más baja que la línea de control	7.990±13.470	7.910±11.825
Similar a la línea de control	9.783±9.806	6.426±8.062
Más alta que la línea de control	15.368±20.653	12.986±18.955
Valor p (Anova)	0,6529	0,1972

*Parasitemia: parásitos/μl de sangre; DE: desviación estándar

Cuadro 5. Valores obtenidos en el seguimiento de los pacientes del grupo 2 (estudio secuencial).

	Seguimiento	Resultado	Gota Gruesa				
			Pf	Pv	Mixta	Negativo	Total
ICT Pf/Pv	Día cero	Pf	19	3	1	0	23
		Pv	1	19	7	0	27
		Negativo	0	3	0	0	3
		Total	20	25	8	0	53
	Día 4	Pf	4	0	0	15	19
		Pv	0	0	0	3	3
		Negativo	0	1	0	27	28
		Total	4	1	0	45	50
	Día 7	Pf	1	0	0	13	14
		Pv	0	0	0	1	1
		Negativo	0	0	0	26	26
		Total	1	0	0	40	41

Pf: *Plasmodium falciparum*; Pv: *Plasmodium vivax*

Día cero:
Sensibilidad Pf: 71,4% (20/28)
Sensibilidad Pv: 57,5% (26/33)

Día 4:
Sensibilidad Pf: 100% (4/4)
Sensibilidad Pv: 0% (0/1)
Especificidad Pfv: 60% (27/45)

Día 7:
Sensibilidad Pf: 100% (1/1)
Especificidad Pfv: 65% (26/40)

ICT Pf/Pv se consideran válidos, ya que en todas las muestras se visualizó correctamente la línea de control, lo que garantiza que las condiciones ambientales y de almacenamiento no alteraron su desempeño.

En Colombia, en el municipio de Tumaco (Costa Pacífica colombiana), Mendoza y colaboradores, en el 2002, evaluaron la capacidad diagnóstica de la prueba ICT Pf/Pv y encontraron una sensibilidad y una especificidad para malaria por *P. falciparum* de 98,2% y 98,1% y, para *P. vivax*, una sensibilidad y una especificidad de 100%. Además, encontraron buena concordancia en el diagnóstico de malaria al compararlo con la gota gruesa (Mendoza NM, García M, Vela CM, Erazo R, Pérez P, Cortés LJ. Evaluación de dos pruebas rápidas ICT *P.f./P.v.* y OptiMal para el diagnóstico de malaria en Tumaco, Colombia. Resúmenes XI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica 2003;23 (Supl.1):140). Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por nosotros, ya que la sensibilidad y la especificidad mostradas por la prueba ICT fueron menores en nuestro estudio, pero están dentro de los rangos encontrados por otros autores en estudios realizados en regiones holoendémicas, sin

epidemias (7,15,20,21). Es sabido que el número de casos de una enfermedad influencia los valores de predicción positivo y negativo (31). Además, en nuestro estudio consideramos como resultados falsos positivos los provenientes de pacientes que sólo tuvieran formas sexuales de *P. falciparum*, ya que la presencia de gametocitos de *P. falciparum* no indica enfermedad malárica (22,26).

En este estudio, el 51% de los positivos por gota gruesa tenían parasitemias mayores a 1.000 parásitos/μl y, en este caso, la sensibilidad que mostró la prueba Binax NOW® malaria ICT Pf/Pv fue de alrededor de 100%, lo cual sugiere que, si la mayor parte de los pacientes con malaria en una región endémica se ubican en este rango de parasitemia, la prueba tendrá un buen porcentaje de acierto al descartar o confirmar la infección malárica; sin embargo, con parasitemias menores a 500 parásitos/μl, la sensibilidad (34%) disminuyó significativamente, lo cual plantea la necesidad de conocer las parasitemias que alcanzan los pacientes de la región donde se contemple el uso de esta prueba. Los 13 valores falsos negativos de la prueba Binax NOW® malaria ICT Pf/Pv en el grupo 1 (11 para *P. falciparum* y 2 para *P. vivax*) se encontraron en pacientes que presentaron

parasitemias bajas (40 a 564 parásitos/ μ l). Esto se puede explicar por la baja cantidad de antígeno circulante que tendría el paciente. De igual forma, como se ha reportado en otros estudios, se encontró que la sensibilidad disminuye cuando las parasitemias son bajas (2,8).

Los casos falsos positivos detectados en la pruebas ICT *Pf/Pv* se puede atribuir a que la prueba no sólo detecta antígenos que son liberados por las formas asexuales, sino también, por las formas sexuales del parásito que causan la enfermedad (13). Sería ideal que existiera una prueba rápida de diagnóstico basada únicamente en la detección de antígenos que fueran liberados sólo por las formas asexuales del parásito, ya que de esta manera los casos falsos positivos explicados por la presencia únicamente de formas sexuales podrían evitarse. Sin embargo, también es posible que los valores falsos positivos se deban a la presencia de bajas parasitemias que, en algunas ocasiones, no son detectadas por la gota gruesa. En este sentido sería muy importante repetir la gota gruesa después de uno o dos días, que puedan indicar si se presenta la infección malarica o no (32).

La incidencia de infección mixta parece ser importante en el total de casos de malaria. En este caso, la prueba ICT *Pf/Pv* presentó confusión entre el diagnóstico de especies, pues no diferencia infecciones mixtas de infecciones por *P. falciparum* y, según lo observado, tampoco de *P. vivax*. Solamente se puede indicar su posible presencia, hecho que puede alterar la forma del tratamiento antimalárico. Sería ideal el desarrollo de pruebas que detecten antígenos específicos de cada especie y así lograr una adecuada distinción entre estas especies, de forma que se pueda optimizar el diagnóstico y por consiguiente el tratamiento.

En el grupo 2 (diagnóstico confirmatorio y seguimiento), se pudo observar cómo el número de casos falsos positivos (cuadro 3) fue muy importante tanto en el día 4 como en el día 7 (18 y 14, respectivamente). Esto se puede explicar por la persistencia de los antígenos maláricos, aun en ausencia de parásitos, luego de que los pacientes han tomado los medicamentos (25). La

mayor cantidad de casos falsos positivos en los días 4 y 7 fue para *P. falciparum*, con 15 y 13 casos respectivamente, mientras que para *P. vivax* sólo hubo 3 casos en el día 4 y 1 en el día 7. Estos hallazgos sugieren una diferencia en la persistencia de antígenos maláricos en la sangre. Por tal razón, la prueba no se puede utilizar para hacer un seguimiento de los pacientes con infección malarica. Como diagnóstico confirmatorio, la prueba ICT *Pf/Pv* falló en detectar 11 de los 53 pacientes incluidos en el grupo, lo cual no permite recomendarla como método de confirmación.

En resumen, se encontró que la prueba Binax[®] ICT *Pf/Pv* no posee una gran sensibilidad y especificidad global para el diagnóstico de malaria de forma rutinaria. Sin embargo, podría ser de utilidad cuando no se pueda acceder al diagnóstico microscópico. Para diagnóstico confirmatorio y de seguimiento, no podría utilizarse la prueba Binax NOW[®] malaria ICT *Pf/Pv*.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los pacientes y al personal del Hospital Francisco Valderrama de Turbo, Antioquia, por su gran colaboración; a la bacterióloga Alexandra Ríos y al médico Juan Gabriel Piñeros por su incondicional ayuda durante el trabajo de campo. Los autores también desean agradecer al profesor Jaime Carmona por la revisión del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores no tienen ningún nexo con las entidades comerciales que venden o distribuyen las pruebas para diagnóstico rápido de paludismo. No tienen conflicto de interés ni compromiso alguno con estas entidades.

Financiación

El Grupo de Malaria financió el presente trabajo con recursos para el sostenimiento asignados por la Universidad de Antioquia.

Referencias

1. **World Health Organization.** A global strategy for malaria control. Geneva: WHO; 1993.
2. **Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud.** Informe "Hacer

- retroceder el paludismo” en la región de la selva húmeda tropical de América del Sur. OPS/HCP/HCT/15/00. Washington, D.C; OPS, OMS; 1999.
3. **World Health Organization.** Malaria diagnosis. New perspectives. WHO/CDS/RBM/2000. 14; WHO/MAL/2000.1091. Geneva; WHO: 2000.
 4. **World Health Organization.** A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of *P. falciparum* malaria. WHO/MAL/95.1072. Geneva: WHO; 1995.
 5. **Zambrano P.** Informe final de malaria, semanas 1 a 52, Colombia 2005. Inf Quinc Epidemiol Nac. 2006;11:49-64.
 6. **Blair S, Londoño B.** Malaria y laboratorio. Medicina y Laboratorio. 2000;9:211-20.
 7. **Iqbal J, Khalid N, Hira PR.** Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. J Clin Microbiol. 2002;40:4675-8.
 8. **Moody A.** Rapid diagnostic tests for malaria parasites. Clin Microbiol Rev. 2002;15:66-78.
 9. **World Health Organization.** Interim notes on selection of type of malaria rapid diagnostic test in relation to the occurrence of different parasite species. Guidance for National malaria control programmes. Prepared by Roll Back Malaria Department with the collaboration of the Regional Offices for Africa and the Western Pacific. (WHO 2004a). Geneva: WHO; 2003.
 10. **World Health Organization.** Library cataloguing in publication data. The use of malaria rapid diagnostic tests. Geneva: WHO; 2004.
 11. **Kodisinghe HM, Perera KL, Premawansa S, Naotunne T, Wickramasinghe AR, Mendis KN.** The ParaSight-F dipstick test as a routine diagnostic tool for malaria in Sri Lanka. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1997;91:398-402.
 12. **Blair S, Lacharme L, Quiñones J, Realpe T.** Diagnóstico de malaria por *P. falciparum* mediante la detección de la proteína rica en histidina II. Medicina y Laboratorio. 1997;7:519-21.
 13. **Huong NM, Davis TM, Hewitt S, Huong NV, Uyen TT, Nhan DH, et al.** Comparison of three antigen detection methods for diagnosis and therapeutic monitoring of malaria: a field study from southern Vietnam. Trop Med Int Health. 2002;7:304-8.
 14. **Funk M, Schlagenhauf P, Tschopp A, Steffen R.** MalaQuick versus ParaSight-F as a diagnostic aid in travellers' malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1999;93:268-72.
 15. **Playford EG, Walker J.** Evaluation of the ICT malaria Pf/Pv and the OptiMAL rapid diagnostic tests for malaria in febrile returned travellers. J Clin Microbiol. 2002;40:4166-71.
 16. **Grobusch M, Hanscheid T, Gobels K, Slevogt H, Zoller T, Rogler G, et al.** Comparison of three antigen detection tests for diagnosis and follow-up of falciparum malaria in travellers returning to Berlin, Germany. Parasitol Res. 2003;89:354-7.
 17. **Londoño B, Carmona J, Blair S.** Comparación de los métodos Optimal® y gota gruesa para el diagnóstico de malaria en una zona endémica sin epidemia. Biomédica. 2002;22:466-75.
 18. **Mendoza N, Montoya R, García M, Padilla J, Bruzón L, Mendoza E, et al.** Evaluación de campo de una prueba rápida para el diagnóstico de malaria. Biomédica. 2001;21:313-9.
 19. **Sullivan DJ Jr, Gluzman IY, Goldberg DE.** Plasmodium hemozoin formation mediated by histidine-rich proteins. Science. 1996;271:219-22.
 20. **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.
 21. **Zheng X, Tang L, Xu Y, Meng F, Zhu W, Gu Z, et al.** Evaluation of immunochromatographic test in the diagnosis of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. 1999;17:235-6.
 22. **Van den Broek I, Hill O, Gordillo F, Angarita B, Hamade P, Counihan H et al.** Evaluation of three rapid tests for diagnosis of *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2006;75:1209-15.
 23. **Mockenhaupt FP, Ulmen U, von Gaertner C, Bedu-Addo G, Bienzle U.** Diagnosis of placental malaria. J Clin Microbiol. 2002;40:306-8.
 24. **Leke RF, Djokam RR, Mbu R, Leke RJ, Fogako J, Megnekou R, et al.** Detection of the *Plasmodium falciparum* antigen histidine-rich protein 2 in blood of pregnant women: implications for diagnosing placental malaria. J Clin Microbiol. 1999;37:2992-6.
 25. **Iqbal J, Sher A, Rab A.** *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2-based immunocapture diagnostic assay for malaria: cross-reactivity with rheumatoid factors. J Clin Microbiol. 2000;38:1184-6.
 26. **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 diagnoses of *Plasmodium vivax* in convalescence. J Clin Microbiol. 2001;39:1025-31.
 27. **Iqbal J, Siddique A, Jameel M, Hira PR.** Persistent histidine-rich protein 2, parasite lactate dehydrogenase, and panmalarial antigen reactivity after clearance of *Plasmodium falciparum* mono-infection. J Clin Microbiol. 2004;42:4237-41.

28. **Dirección Seccional de Salud de Antioquia.** Eventos de vigilancia epidemiológica, ETV y ambiente. Antioquia, 1994-2003. [Consultado: 13 de diciembre 2006]. Disponible en: <http://www.dssa.gov.co/vectores/vectores.htm>
29. **Carmona-Fonseca J.** La malaria en Colombia, Antioquia y las zonas de Urabá y bajo Cauca: panorama para interpretar la respuesta terapéutica antimalárica. *latreia*. 2004;17:34-53.
30. **World Health Organization.** Basic malaria microscopy. Part I. Learner's Guide. Geneva: WHO; 1991.
31. **Pita Fernández S, Pértegas Díaz S.** Metodología de la investigación. Pruebas diagnósticas. *Cad Aten Primaria* 2003;10:120-4. [Consultado: 13 diciembre de 2006]. Disponible en: https://www.fisterra.com/mbe/investiga/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.htm
32. **Servicio de Salud Colombia.** Guía de atención de la Malaria (I). [Consultado: 13 diciembre de 2006]. Disponible en: <http://www.saludcolombia.com/actual/htmlnormas/ntmalariaI.htm>