

Sección: Artículos originales

Comparación de la prueba Parasight F[®] con el método convencional de gota gruesa en el diagnóstico de Plasmodium falciparum en Zaragoza, Antioquia, 1996Jaime Quiñónez, Bacteriol.¹, Leidy Lacharme, Bacteriol.¹, Silvia Blair, M.D.²

RESUMEN

Se realizó un estudio piloto en 100 personas residentes en la zona endémica de Zaragoza (Antioquia), para evaluar comparativamente el método inmunológico de diagnóstico de malaria Parasight F[®] con el método convencional de gota gruesa, y determinar su sensibilidad, su especificidad y sus valores predictivos. Se les hicieron gota gruesa y Parasight F[®] a 67 pacientes positivos para malaria, 34 con *Plasmodium falciparum*, 33 con *P. vivax* y 33 personas clínicamente sintomáticas pero negativos por gota gruesa. Para *P. falciparum* la prueba mostró sensibilidad, 94%; especificidad, 100%; valor predictivo positivo, 100%; y valor predictivo negativo, 97%. En los pacientes con infección por *P. vivax* la prueba fue negativa, y confirmó su alta especificidad por *P. falciparum*.

Palabras claves: Malaria. Diagnóstico. Prueba Parasight F[®]. Gota gruesa. *Plasmodium falciparum*. *P. vivax*.

La situación de la malaria en el mundo es grave y creciente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de 40% de la población mundial está expuesta al riesgo de sufrir la enfermedad y la muerte se produce en más de un millón de personas al año, en su mayoría niños¹. Más o menos 85% del territorio colombiano es apto para el desarrollo de la enfermedad y 75% de su población está en riesgo de contraer malaria^{2,3}. En Antioquia 80% del territorio presenta condiciones especiales para la transmisión de la malaria como son: la pobreza, las migraciones y los aspectos ecológicos de riesgo⁴.

La malaria afecta principalmente las zonas rurales, donde el acceso a la técnica convencional de diagnóstico de esta enfermedad es difícil o en muchos casos no existe. Por tanto, la búsqueda de nuevos métodos diagnósticos, de realización fácil, efectivos, rápidos y de bajo costo, es una prioridad para su control.

Recientemente se ha descrito la

prueba Parasight F[®], como una técnica inmunológica manual y rápida donde se busca la proteína II rica en histidina (HRPII) descrita por Shiff *et al.*⁵ y Premji *et al.*⁶, que es un antígeno soluble en agua, secretado por los eritrocitos con *Plasmodium falciparum*⁷⁻⁹. El método se ejecuta con facilidad, se maneja a temperatura ambiente, no requiere electricidad y proporciona el diagnóstico de malaria por *P. falciparum* en sólo 10 minutos.

Para evaluar la prueba se realizó un estudio piloto de corte, y se compararon los resultados de la prueba inmunológica Parasight F[®] con el diagnóstico convencional de gota gruesa para malaria, en 100 personas que presentaron sintomatología malarica y consultaron al puesto de malaria del Hospital San Rafael en Zaragoza. La prueba mostró para *P. falciparum* sensibilidad, 94%; especificidad, 100%; valor predictivo positivo, 100%; y valor predictivo negativo, 97%.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población. Zaragoza es un municipio con alta endemicidad malarica. En 1992 se presentaron 10,237 casos de malaria; de ellos 4,317 (42%) fueron por *P. falciparum*. Zaragoza, tiene factores potenciales de riesgo para la proliferación del vector y del parásito, como la minería y las migraciones.

Componentes de la prueba Parasight F[®]. La compañía Becton Dickinson desarrolló la prueba Parasight F[®], y obsequió al Laboratorio de Hemoparásitos de la Universidad de Antioquia un *kit* para 100 pruebas. El *kit* contenía tirillas de 3 cm de largo y 0.5 cm de ancho compuestas por una lámina de nitrocelulosa cubierta por una fibra de vidrio que actúa como absorbente, sobre la que hay anticuerpos monoclonales inmovilizados de ratón, específicos contra la HRPII de *P. falciparum*. El *kit* de reactivos lo constituyen el reactivo 1 (agente lisante), el reactivo 2 (agente de demostración), conformado por vesículas de fosfolípidos que contienen sulforrodamina B como marcador unido a los anticuerpos de

1. Laboratorio de Hemoparásitos, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

2. Jefe Grupo de Malaria, Laboratorio de Hemoparásitos, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

conejo contra la HRPII, y el reactivo 3 (agente de lavado). Otros materiales en el estuche son: 100 tubos capilares con heparina, 100 dispositivos plásticos (tubos y puntas con un filtro incorporado), 10 tarjetas plásticas cada una con 10 minipozos de reacción, 3 chupetes de goma y una gradilla de reacción. Para la gota gruesa y el extendido correspondiente se utilizaron además, portaobjetos de vidrio, lancetas, algodón, alcohol antiséptico, colorante de Field (solución A y B), Giemsa, metanol y solución amortiguadora (tampón o buffer).

Procedimiento de la prueba Parasight F®. Se pusieron antes 3 gotas del reactivo 1 en un tubo plástico y se colectaron allí 50 µl de sangre del enfermo; la sangre se hemolizó con rapidez; luego se vació una gota a través de un filtro en un minipozo de reacción, donde se colocó verticalmente la tirilla de demostración. Cuando ésta absorbió completamente la gota de sangre, se adicionó el reactivo 2, luego de la absorción de éste por la tirilla, se adicionó el reactivo 3, que también se absorbió; este último aclaró la reacción y permitió hacer la lectura. En los casos positivos, se observó una línea roja continua y una discontinua. En los casos negativos sólo se apreció una línea discontinua en la parte superior de la tirilla.

Recolección de las muestras por los investigadores. De los individuos con sintomatología malárica y que consultaron al puesto de malaria en el Hospital San Rafael de Zaragoza, se tomaron 100 sintomáticos, elegidos al azar y a quienes la microscopista del puesto examinó parasitológicamente por el método de gota gruesa bajo la supervisión de los autores de este trabajo. Estos enfermos se dividieron así: positivos para **P. falciparum**, 34; positivos para **P. vivax**,

33; y sintomáticos pero negativos para malaria, 33. Previo consentimiento del paciente sobre el trabajo por realizar (para los niños se obtuvo consentimiento de los padres), se hizo a cada uno una encuesta con datos personales e información epidemiológica. Luego de una rigurosa asepsia se puncionó con lanceta estéril la parte lateral de la yema del dedo índice, en el punto donde se cruzan una línea paralela a la uña y una línea perpendicular a ésta. Se tomaron 50 µl de sangre mediante capilares heparinizados con los que se realizó la prueba Parasight F®. Además, en placas portaobjetos se hicieron dos gotas gruesas y un extendido. Después de media hora las gotas gruesas se colorearon con el método de Field y los extendidos, una vez fijados con metanol, se colorearon con Giemsa.

Se examinaron las placas al microscopio de luz, con objetivo 100x, para identificar cada especie. La parasitemia se obtuvo al relacionar el número de parásitos encontrados frente a 300 leucocitos con un valor de referencia de 6,700 leucocitos/ml. En el extendido delgado la parasitemia se leyó en 33 campos y se expresó en porcentaje.

Análisis estadístico. La información obtenida se procesó con el programa estadístico Epi-Info versión 6.0 de la OMS; se asumió un nivel de significancia de 95%. Además se aplicó la prueba Chi cuadrado, donde el valor $p < 0.05$ es estadísticamente significativo.

RESULTADOS

En el estudio participaron 56 hombres y 44 mujeres; de estos enfermos fueron positivos para malaria por gota gruesa 38 (67.8%) y 29 (65.9%), respectivamente. El porcentaje de positivos para ambas pruebas fue

mayor en los hombres. Tanto la infección por **P. vivax** como por **P. falciparum**, se presentó más en hombres que en mujeres, pero la parasitemia no tuvo diferencias significativas relacionadas con el sexo.

La malaria se observó sobre todo en el área rural (64.2%), donde la mayoría de los casos fue para **P. falciparum** y se notó menor presentación de la enfermedad (27.3%) en las personas con tiempo de residencia mayor de 5 años. En la zona urbana se encontró mayor número de casos positivos entre las personas que tenían mayor tiempo en la zona (72.7%).

De los 67 sujetos positivos para malaria, 50 (74.6%) tenían de 15 a 44 años. Entre los positivos para **P. falciparum** por gota gruesa y Parasight F® se observó un mayor número de casos en este grupo de edad (76.5% y 78.1% con cada prueba, respectivamente). De las personas positivas para malaria, 59.7% no relataron antecedentes de la enfermedad en el último año.

Al examinar las gotas gruesas de cada una de las personas, se encontraron 2 casos de malaria mixta (**P. vivax/P. falciparum**) diagnosticados al observar que las formas inmaduras (anillos) superaban en 75% la parasitemia de **P. vivax**. Estos 2 casos fueron negativos por Parasight F® y no se tuvieron en cuenta al hacer los análisis de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

La prueba Parasight F® fue positiva en 32 de los 34 casos de **P. falciparum**, diagnosticados por gota gruesa; es decir, sensibilidad, 94%; especificidad, 100%; valor predictivo positivo, 100%; y valor predictivo negativo, 97%. Se confirmó la alta especificidad de la prueba para **P. falciparum**, al ser negativa en todos los casos de **P. vivax** y en los casos negativos para malaria por gota gru

Cuadro 1
Sensibilidad y Especificidad de la
Prueba Parasight F® para Infección
por P. falciparum

Parasight F®	Gota gruesa		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	32	0	32
Negativo	2	64	66
Total	34	64	98

sa (Cuadro 1). Los casos de **P. vivax** se sumaron a los 33 negativos como controles negativos para **P. falciparum** en el análisis estadístico.

De las 67 personas con malaria, 44 (65.7%) tuvieron parasitemias menores de 5,000 parásitos/ml. Las parasitemias más altas, >20,000 parásitos/ml, se dieron en la infección por **P. falciparum** y sólo 4 casos alcanzaron estos niveles. De los 34 casos positivos para esta especie, 14 (41.2%) tuvieron recuentos entre 1,000-5,000 parásitos/ml.

La parasitemia mínima de **P. falciparum**, donde el Parasight F® resultó positivo fue de 67 parásitos/ml; sin embargo, en los dos casos positivos por gota gruesa y negativos por Parasight F®, la parasitemia fue de 446 parásitos/ml y 1,407 parásitos/ml.

DISCUSIÓN

La sensibilidad de 94% del Parasight F®, coincide con los resultados descritos en otros estudios⁵⁻⁷, pero la especificidad de 100% no concuerda con los datos obtenidos en investigaciones anteriores, donde la prueba fue positiva en infecciones por **P. vivax** y malaria mixta (**P. falciparum/P. vivax** y **P. falciparum/P. malarie**), tuvo, pues, obviamente menor especificidad^{5,10}.

En este trabajo los resultados positivos del Parasight F® son más noto-

rios cuando la parasitemia es mayor de 400 parásitos/ml; sin embargo, también fue capaz de descubrir la infección en individuos con parasitemias tan bajas como 67 parásitos/ml. No obstante, la prueba fue negativa en dos enfermos con parasitemias de 446 y 1,407 parásitos/ml, en los que quizá no había suficiente concentración de HRPII para ser diagnosticada¹¹.

En el estudio actual no se observaron casos en los que la gota gruesa fuera negativa y el Parasight F® positivo, pero en comunicaciones de otros grupos^{10,11}, se informó que la prueba demostraba falsos negativos en infección por **P. falciparum** diagnosticados por gota gruesa. La prueba mostró alta sensibilidad y especificidad para **P. falciparum**, lo que la hace fundamental como prueba confirmatoria de la infección por esta especie, cuando hay dudas en el diagnóstico por gota gruesa.

La prueba Parasight F® tendría aplicabilidad en Colombia por la gran extensión de las áreas rurales y por las amplias zonas con alta prevalencia de **P. falciparum**, como la costa pacífica, porque la prueba es de fácil realización, no requiere instrumentos complicados y proporciona el diagnóstico de malaria por **P. falciparum**. En Colombia en general, existe mayor prevalencia de **P. vivax** con respecto a **P. falciparum**, pero en zonas como la del Pacífico, la relación **P. falciparum/P. vivax** es de 8:1; en ellas, la ejecución del Parasight F® como prueba de confirmación o de filtro (tamizaje) sería de gran utilidad. Infortunadamente la prueba tiene un costo alto, alrededor de US \$4, por eso a los centros de atención primaria en salud les será de difícil consecución.

Se concluye que el Parasight F® es importante en trabajos epidemio-

lógicos que pretendan averiguar la prevalencia de **P. falciparum** en una zona determinada, pues se puede incorporar en bancos de sangre de zonas endémicas como prueba para donantes potenciales que presenten antecedentes de infección por **P. falciparum**. Además, puede llegar a ser muy importante en el manejo oportuno de enfermos complicados en servicios de medicina interna, en quienes se presume una infección por **P. falciparum**.

La prueba Parasight F® se ha evaluado en muchas regiones del mundo, tanto en centros de salud como en trabajos de campo y se ha visto que es muy eficiente¹³. Sin embargo, es importante destacar que se requieren estudios posteriores que provean mayor información sobre su comportamiento, con respecto a la duración de la HRPII en la sangre después de iniciarse la terapia antimalárica y en relación con los efectos del tratamiento previo en el diagnóstico por Parasight F®.

SUMMARY

In this work an immunological diagnostic method for malaria was evaluated and compared to thick blood films examination in order to determine its sensibility, specificity and predictive values. One-hundred people were examined in Zaragoza, an endemic area in Antioquia (Colombia). Thick blood films and Parasight F® were done to the patients; 34 of which had **Plasmodium falciparum** malaria, 33 had **P. vivax** malaria and 33 were symptomatic patients with negative thick films. Parasight F® had 94% sensibility, 100% specificity, a positive predictive value of 100% and a negative predictive value of 97% for **P. falciparum** malaria. In the patients with **P. vivax** malaria the test was

negative, confirming its high specificity for **P. falciparum**.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. *Quimioterapia del paludismo*. Informe de Grupo Científico de la OMS N° 085. Ginebra, 1990. Pp. 151.
2. Ministerio de Salud. Plan Nacional de Control y Prevención de la Malaria. *Unidad administrativa especial de campañas directas*. División Técnica, Bogotá 1995. Pp. 6-12.
3. Alzate A. Plan Nacional de Control y Prevención de la Malaria. Servicio Seccional de Salud de Antioquia. *Boletín Epidemiológico de Antioquia* 1989; 2: 30-41.
4. Vargas G. *Evaluación epidemiológica de la malaria*. Servicio Seccional de Salud de Antioquia. División de Atención Médica. Seminario-Taller Malaria, Medellín, 1991. Pp. 66-81.
5. Banchongaksorn T, Yomokgul P, Panyim S, *et al.* A field trial of the Parasight F test for the diagnosis of **Plasmodium falciparum**. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 244-45.
6. Shiff CJ, Minjas J, Premji Z. The Parasight F test: a simple rapid manual dipstick test to detect **Plasmodium falciparum** infection erythrocytes. *Parasitol Today* 1994; 10: 494-95.
7. Howard RJ, Uni S, Aikawa M *et al.* Secretion of a malarial histidinerich protein (pfHRP II) from **Plasmodium falciparum**-infected erythrocytes. *J Cell Biol* 1986; 103: 1269-77.
8. Premji Z, Minjas J, Shiff CJ, *et al.* Laboratory diagnosis of malaria by village health workers using the rapid manual Parasight F test. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 418.
9. Namsiripongpun, V, Wilde H, Pamgandang P, *et al.* Field study of an antigen-detection ELISA specific for **Plasmodium falciparum** malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; 87: 32-4.
10. Shiff CJ, Premji Z, Minjas J, *et al.* The rapid manual Parasight F test. A new diagnostic tool for **Plasmodium falciparum** infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; 87: 646-48.
11. Uguen C, Rabodonirina M, De Pina JJ, *et al.* Parasight F rapid manual diagnostic test of **Plasmodium falciparum** infection. *Bull WHO* 1995; 73: 643-49.
12. Sinfh N, Singh P, Sharma P. The use of a dipstick antigen-capture assay for the diagnosis of **P. falciparum** infection in a remote forested area of central India. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 188-91.