

Evaluación de la prueba NOW® ICT *Pf/Pv* para el diagnóstico de Malaria en Venezuela

Rosalba Pabón¹, Carla Telo², Albina Wide^{1-3*}, Noraida Zerpa⁵, Jacinta Capaldo¹, Alfredo Noda⁴, Anibal Carrasquel⁶ & Oscar Noya¹⁻³

Se evaluó la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* en personas con síntomas de malaria provenientes de dos áreas endémicas de Venezuela: estado Sucre en la región noreste costera (n=71) y el estado Amazonas en el sur (n=86). 102 muestras resultaron positivas (73 *P. vivax*, 25 *P. falciparum*, 2 *P. malariae* y 2 infecciones mixtas), 55 muestras resultaron negativas mediante el examen microscópico. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del Now® malaria ICT *P.f/P.v.* para el diagnóstico de malaria fue 81,4%, 100%, 100% y 74,3%, respectivamente y un Kappa de 0,75. En Sucre la sensibilidad fue de 96,3%, especificidad 100%, VPP 100%, VPN 89,5% y Kappa 0,93 para *P. vivax*. En Amazonas, la sensibilidad fue 81%, especificidad y VPP 100%, VPN 90,5% y Kappa 0,85 para infecciones activas por *P. vivax* y *P. malariae*. Esta sensibilidad para *P. vivax* aumenta con parasitemias entre 101-500 par/μL. Para *P. falciparum* la sensibilidad fue 51,9%, especificidad de 100%, VPP de 100%, VPN de 74,5% y un Kappa de 0,56. La sensibilidad del método es de 100% para densidades mayores a 500 par/μL. La concordancia encontrada en este estudio entre la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* y el método parasitológico para las especies *P. vivax* / *P. malariae*, aunque no para *P. falciparum*, aporta un valor adicional a las ya conocidas características de la prueba tales como procedimiento fácil, rapidez e interpretación de los resultados en áreas de difícil acceso, por lo que concluimos que es una herramienta alternativa para el diagnóstico de malaria, sin llegar a sustituir el método parasitológico convencional.

Palabras claves: Malaria, diagnóstico, prueba inmunocromatográfica, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La malaria junto con la tuberculosis, constituye una de las enfermedades infecciosas más importantes del mundo por su alta morbilidad y mortalidad (Greenwood & Mutabingwa, 2002), produciéndose entre 300 a 500 millones de casos

anualmente y aproximadamente 3 millones de muertes, de los cuales 90% ocurren en África, especialmente en niños y el resto en el continente asiático y en América del Sur (WHO, 2005).

En Venezuela se producen alrededor de 45.000 casos por año, siendo los estados Amazonas, Bolívar y Sucre los de más alta incidencia (MSDS, 2006). En nuestro país hay una tendencia al incremento en el número de casos, reportándose 29.744 casos para el 2002 y 37.062 casos para 2006 (Cáceres & Vela, 2002; MSDS, 2006). Una de las herramientas claves en el control de la malaria es el diagnóstico oportuno y preciso que conduzca al tratamiento adecuado. La microscopía de extendidos de sangre para detectar los parásitos causantes de la malaria continúa siendo la prueba de oro para el diagnóstico parasitológico (Petersen, *et al.*, 1996; Hänscheid, 1999), permitiendo estimar la parasitemia, diferenciar las cuatro especies y sus estadios. Sin embargo, tiene ciertas limitaciones

¹ Laboratorio para Estudios sobre Malaria, Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" - Ministerio del Poder Popular para la Salud, Caracas, Venezuela.

² Ministerio del Poder Popular para la Salud, Venezuela.

³ Cátedra de Parasitología, Escuela de Medicina "Luis Razetti", Universidad Central de Venezuela.

⁴ Cátedra de Parasitología, Escuela de Medicina "José María Vargas", Universidad Central de Venezuela.

⁵ Fundación Instituto Estudios Avanzados. Centro de Biociencias, Venezuela.

⁶ Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales (CAICET), Puerto Ayacucho, Estado Amazonas, Venezuela.

*Autor de correspondencia: albinawide@yahoo.com

(personal capacitado y microscopios con ópticas de calidad), las cuales han conducido al desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico disponibles para las condiciones de campo. Esos métodos incluyen diferentes técnicas basadas en la biología molecular (PCR anidada y PCR en tiempo real). El límite de detección de estos métodos (2.5 a 10 parásitos/μL) es similar a los de la microscopía, pero en general son más difíciles de realizar y su uso está restringido a los centros de referencia (Snounou *et al.*, 1993a; Snounou *et al.*, 1993b; Ndao *et al.*, 2004; Siribal *et al.*, 2004; Malhotra *et al.*, 2005). Otras técnicas de laboratorio para el diagnóstico de la malaria consisten en la detección de anticuerpos y captura de antígenos circulantes de *Plasmodium* spp. La más simple, y por consiguiente conveniente para el uso en el campo, es una prueba inmunocromatográfica, basada en la captura de antígenos de *Plasmodium* spp. El ParaSight™-F (Beckton y Dickinson) (Makler, 1998) detecta la proteína rica en histidina (HRP2); el OptiMAL (Flow Inc., Portland, Org.) (Piper *et al.*, 1999; Quintana *et al.*, 1998), captura la enzima lactato deshidrogenasa del parásito (pLDH); y la prueba PATH Malaria Falciparum IC (Moody, 1998) usa un anticuerpo monoclonal (Ig M) que se une al antígeno HRP2 y el Now® malaria ICT P.f/P.v. (Binax, Inc., Portland, ME) (Srinivasan *et al.*, 2000), el cual se basa en la captura de dos antígenos: la HRP2 específica de *P. falciparum* y la enzima aldolasa que es común tanto para *P. falciparum* como para *P. vivax* y *P. malariae*. El objetivo de este fue determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de la prueba de diagnóstico rápida Now® malaria ICT P.f/P.v. para el diagnóstico de malaria causada por *P. falciparum* y *P. vivax* en dos áreas endémicas en Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

La investigación se llevó a cabo durante los meses de mayo y agosto de 2002, en dos focos maláricos de Venezuela. Los Municipios seleccionados fueron considerados de alto riesgo, basados en el Índice Parasitario Anual (IPA) para el 2001-2002. En el foco Oriental, se estudió el Municipio Cajigal del Estado Sucre con un índice parasitario anual (IPA) de 11,47. En este foco predominan las infecciones por *P. vivax* (99,77%) reportándose el mayor número de infecciones para el año 2001. En el foco meridional, se

estudiaron las poblaciones de los Municipios Atures, Manapiare y Alto Orinoco del Estado Amazonas con un Índice Parasitario Anual (IPA) de 71,58. Aunque en este foco predomina *P. vivax*, es relevante las infecciones por *P. falciparum* (32,21%) (MSDS, 2002).

Pacientes

Se estudiaron un total de 157 pacientes, de cualquier edad que presentaran en las 48 horas previo a la consulta, fiebre (> 38°C) con o sin otro concomitante, en los centros de referencia de Malariología. Del total de pacientes 71 pertenecían al Municipio Cajigal del Estado Sucre y 86 al estado Amazonas (29 de Manapiare, 9 de Atures y 48 de Mavaca).

Todos los participantes ingresaron voluntariamente a la evaluación, habiendo firmado el consentimiento informado. Se tomaron tres muestras de sangre, por punción con lanceta en el lóbulo de la oreja, dos para la realización de la gota gruesa y el extendido, y 15 μL en un tubo capilar para la prueba de Now® malaria ICT P.f/P.v.

Prueba inmunocromatográfica (Now® malaria ICT P.f/P.v.)

Este ensayo permite la detección en sangre completa de antígenos circulantes: uno específico de *P. falciparum* y otro específico del género *Plasmodium*. El estuche contiene anticuerpos específicos contra el antígeno HRP2 de *P. falciparum* y anticuerpos específicos para la enzima aldolasa (antígeno pan-malaria) inmovilizados en una tira de papel de nitrocelulosa. Los ensayos fueron realizados de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los resultados fueron examinados e interpretados por 3 observadores independientes sin conocimiento de los resultados obtenidos por microscopía. Los resultados finales de los ensayos fueron registrados como positivo o negativo basándose en el acuerdo de la mayoría.

Diagnóstico por microscopía

Las láminas conteniendo gota gruesa y extendido fueron coloreadas con solución de Giemsa por 15 minutos. La presencia de parásitos fue detectada con un objetivo de inmersión (1.000 x de magnificación) y comparado con la prueba rápida a “ciegas”. La parasitemia fue medida contando el número de formas asexuales en 500 leucocitos y se

aplicó la fórmula siguiente: el Número de parásitos x 6.000 leucocitos/ μL / 500 leucocitos (Quiñonez *et al.*, 1997).

Análisis estadístico

La información obtenida fue almacenada en una base de datos y analizada con el programa Epi-info versión 6.0 (Dean *et al.*, 1995) considerando como prueba “oro” a la gota gruesa y al extendido de sangre coloreados con Giemsa.

Las variables consideradas fueron el número de verdaderos positivos (VP), los verdaderos negativos (VN), los falsos positivos (FP) y los falsos negativos (FN). La sensibilidad se calculó de la manera siguiente $\text{VP} / (\text{VN} + \text{FN})$, la especificidad se calculó como $\text{VN} / (\text{NV} + \text{FP})$, los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) se calcularon como $\text{VPP} = \text{VP} / (\text{VP} + \text{FP})$, $\text{VPN} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FN})$. También, se calculó el coeficiente de concordancia (Kappa) de la siguiente fórmula: $k = \text{Po} - \text{Pe} / 1 - \text{Pe}$; donde Po es la proporción de concordancias observadas y Pe es la proporción de concordancias esperadas.

$\text{Po} = \text{VP} + \text{VN} / \text{N}^\circ \text{ de muestras totales}$

$\text{Pe} = (\text{VP} + \text{FP}) \times (\text{VP} + \text{FN}) + (\text{FN} + \text{VN}) \times (\text{FP} + \text{VN}) / (\text{N}^\circ \text{ total})^2$

Los datos fueron calculados con un intervalo de confianza (IC) del 95%.

El índice Kappa representa la proporción de concordancia además de la esperada por casualidad y su valor varía de -1 (desacuerdo total) a +1 (concordancia total). El cero indica lo mismo que las lecturas hechas por casualidad, observándose valores de: < 0,00 = mala, 0,00-0,20 = “pobre”, 0,21-0,40 = “sufrible”, 0,41-0,60 = “regular”, 0,61 – 0,80 = “buena”, 0,81 – 0,99 = “óptima” y 1,00 = “perfecta” (OPS/OMS, 1999).

RESULTADOS

Se evaluaron 157 muestras de las cuales 54% pertenecían al sexo masculino y 46% al sexo femenino, con un rango de edades entre 6 días a 75 años, y con un promedio de 23,4 años, siendo los más afectados los menores de un 1 año (45%). Un total de 102 muestras resultaron positivas de las cuales 73 correspondieron a infecciones por *P. vivax*, 25 a *P. falciparum*, 2 a *P. malariae* y 2 infecciones mixtas, las restantes 55 muestras resultaron negativas para la infección mediante el examen microscópico.

La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la prueba Now® malaria ICT *Pf/P.v.* para el diagnóstico de malaria sin considerar las especies parasitarias y las densidades fueron de 81,4% (IC 72,2-88,1), 100% (IC 91,9-100), 100% (IC 94,5-100) y 74,3% (IC 65,6-83,5), respectivamente, con un valor Kappa de 0,75 (Tabla I).

En el estado Sucre para *P. vivax* la sensibilidad fue de 96,3% (IC 86,2-99,4), la especificidad de 100% (IC 77,1-100) igualmente el VPP 100 (IC 91,4-100), el VPN 89,5% (IC 65,5-98,2) y el valor de concordancia Kappa fue de 0,93 (Tabla I).

En el estado Amazonas, se encontró que la sensibilidad para *P. vivax* y *P. malariae* fue de 81% (IC 57,4-93,7), especificidad y VPP de 100% (IC 88,6-100 y 77,1-100) respectivamente, el VPN de 90,5% (IC 76,5-96,9) y Kappa de 0,85. También se registraron variaciones en la sensibilidad según las densidades parasitarias, con un resultado del 25% para densidades menores o iguales a 100 par/ μL , de 75% para aquellos entre 101-500 par/ μL , no se obtuvieron muestras con densidades entre 501-1.000 par/ μL y con densidades mayores a 1.000 par/ μL fue de 100% (Tabla II).

Para los casos de infecciones por *P. falciparum* en el estado Amazonas particularmente en el Municipio Alto Orinoco se encontró que la sensibilidad de la prueba inmunocromatográfica fue de 51,9% (IC 32,4-70,8), especificidad de 100% (IC 88,6-100), VPP de 100% (IC 73,2-100), VPN de 74,5% (IC 60,1-85,2) y un Kappa de 0,56, es decir, los resultados en la escala de concordancia “Kappa” fueron clasificados como regular (Tabla I). Con respecto a las densidades parasitarias, la sensibilidad del método fue 10% para densidades menores o iguales a 100 par/ μL , 64% para densidades entre 101-500 par/ μL y 100% para densidades mayores a 500 par/ μL (Tabla II).

DISCUSIÓN

En Venezuela a pesar del alto porcentaje de clasificación correcta de los diagnósticos de malaria (99,6%) mediante la gota gruesa y extendido, se ha encontrado que la concordancia entre los resultados de infecciones mixtas sólo alcanza la categoría de buena ($k=0,66$) (Cáceres *et al.*, 2006).

Tabla I. Evaluación de la prueba Now® malaria ICT Malaria P.f/P.v. en la detección de infecciones por P. falciparum y P. vivax en pacientes con diagnóstico presuntivo de malaria en Venezuela.

	Sensibilidad %(IC)	Especificidad %(IG)	VPP %(IG)	VPN %(IC)	Kappa
Estado Sucre <i>P. vivax</i>	96,3 (86,2-99,4)	100 (77,1-100)	100 (91,4-100)	89,5 (65,5-98,2)	0,93
Estado Amazonas <i>P. vivax</i> / <i>P. malariae</i>	81,0 (57,4-93,7)	100 (88,6-100)	100 (77,1-100)	90,5 (76,5-96,9)	0,85
<i>P. falciparum</i>	51,9(32,4-70,8)	100 (88,6- 100)	100 (73,2-100)	74,5 (60,1-85,2)	0,56
Total	64,6 (49,4-77,4)	100 (88,6-100)	100 (86,3-100)	69,1 (55,0-80,5)	0,62
Estados Sucre y Amazonas <i>P. vivax</i>	92,0 (82,8-96,7)	100 (91,9-100)	100 (93,4-100)	90,2 (79,1-95,9)	0,91
<i>P.v y P.f</i>	81,4 (72,2-88,1)	100 (91,9-100)	100 (94,5-100)	74,3 (62,6-83,5)	0,75

IC: Intervalo de confianza 95%

Tabla II. Sensibilidad de la prueba Now® malaria ICT Malaria P.f/P.v. en la detección de infecciones por P. falciparum y P. vivax, en relación a las densidades parasitarias.

Densidades	<100	101-500	501-1.000	1.000-5.000	>5.000
<i>Plasmodium vivax</i>					
Estado Sucre	50,0	100	87,5	100	100
Estado Amazonas	25,0	75,0	--	100	100
Estados Sucre y Amazonas	33,3	92,31	87,5	100	100
<i>Plasmodium falciparum</i>					
Estado Amazonas	10,0	64,0	100	100	100

Densidad parasitaria en par/ μ L

Sensibilidad en %

En países como el nuestro, donde coexisten infecciones por *P. vivax*, *P. falciparum* y *P. malariae* es necesario disponer de métodos capaces de detectar y diferenciar estas especies (MSDS, 2002, 2006).

La prueba de Now® malaria ICT P.f/P.v. es una prueba rápida de inmunodiagnóstico que detecta la proteína HPR2, específica de *P. falciparum* y concomitantemente un antígeno común a todas las

especies de plasmodios, permitiendo así el diagnóstico diferencial de las especies (Tjitra *et al.*, 1999; Walter Reed Army Institute of Research, Maryland USA, 2001). Sin embargo, esta prueba no permite discriminar las infecciones mixtas y diferenciar entre *P. vivax* y *P. malariae* (Wongsrichanalai *et al.*, 2003). El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de evaluar la prueba Now® malaria ICT P.f/P.v. en áreas endémicas del país utilizando la gota gruesa y

extendido de sangre coloreado con Giemsa como la prueba de referencia (prueba oro) en personas con diagnóstico presuntivo de malaria.

La sensibilidad de la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* para el diagnóstico de malaria por *P. vivax* o *P. malariae* en este trabajo fue significativamente superior a los reportados por otros autores (Tjitra *et al.*, 1999; Walter Reed Army Institute of Research, Maryland USA, 2001). No obstante, la sensibilidad fue variable según las densidades parasitarias siendo de 33,3% para parasitemias menores o iguales a 100 par/μL y aumentando frente a parasitemias superiores, lo cual concuerda con otros estudios (Walter Reed Army Institute of Research, Maryland USA, 2001). La intensidad de la línea indicadora de positividad varió también de acuerdo con la densidad parasitaria, tal como lo han reportado otros autores (Wongsrichanalai *et al.*, 2003).

Al comparar la sensibilidad de este método en las diferentes localidades se encontró que en el Estado Amazonas fue menor que en el Estado Sucre. Posiblemente, esto sea debido a que el número de muestras con parasitemias menores o iguales a 100 par/μL fue mayor en Amazonas, característica de estas áreas endémicas, donde la población está constantemente sometida al estímulo antigénico y por ende pudieran haber desarrollado una inmunidad mayor que permita mantener densidades parasitarias bajas. De allí que esta prueba no resulta ser costo efectiva para el control de malaria en zonas altamente endémicas donde existan pacientes asintomáticos (Coleman *et al.*, 2002). Sin embargo, si se consideran parasitemias superiores, la sensibilidad es similar en los Estados Amazonas y Sucre. Así mismo, no se encontró diferencias en cuanto a la especificidad del método en el diagnóstico para infecciones por *P. vivax* con respecto al origen de las muestras, observaciones similares han sido referidas en otros estudios (Tjitra *et al.*, 1999; Walter Reed Army Institute of Research, Maryland USA, 2001; Arospide *et al.*, 2004). También se encontró que el VPP fue superior a los valores reportados por otros autores (Tjitra, *et al.*, 1999), esto posiblemente sea debido a que en esta investigación no se encontraron falsos positivos. El VPN con esta prueba para el diagnóstico de *P. vivax* o *P. malariae* fue de 90,2 %, con una diferencia de 1 % entre ambos estados, coincidiendo con los resultados de otros estudios (Tjitra *et al.*, 1999). Por lo tanto, se puede inferir que existe una concordancia óptima ($k=0,91$)

entre este método y el diagnóstico microscópico. La baja sensibilidad encontrada en este estudio (51,9 %) para el diagnóstico de malaria por *P. falciparum* difiere de la reportada por otros autores, quienes reportan sensibilidades entre 93 y 100 % (Bustos *et al.*, 1997; Gholam-Hosseini Edrissian Pharm D. 1997; Valecha *et al.*, 1997; Tjitra *et al.*, 1999; Walter Reed Army Institute of Research, Maryland USA, 2001).

La especificidad de la prueba para el diagnóstico de las especies de *Plasmodium* fue similar a la reportada por otros investigadores, cuyos valores oscilan entre 89,8 y 100 % (Bustos *et al.*, 1997; Valecha *et al.*, 1997; Tjitra *et al.*, 1999). La concordancia encontrada entre la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* y la microscopía fue óptima ($k=0,85$) para el diagnóstico de infecciones por *P. vivax*, indicando la utilidad de la prueba en áreas donde predomina *P. vivax* y las parasitemias sean >500 parásitos/μL de sangre. Es de hacer notar que aunque el valor de Kappa entre la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* y la microscopía para la detección de *P. falciparum* fue regular ($k=0,56$) en aquellas áreas donde la población ha estado expuesta a un mayor número de infecciones y por ende presentan densidades parasitarias bajas, el método tiene igualmente utilidad debido a que a un microscopista bien entrenado le resulta difícil detectar parasitemias muy bajas, aunado a la carencia de equipos con óptica adecuada y una infraestructura apropiada.

En conclusión la prueba Now® malaria ICT *P.f/P.v.* (Binax) es rápido, fácil de realizar e interpretar, con una alta especificidad (100%) y una considerable sensibilidad para *P. falciparum* y *P. vivax*, que fueron las especies diagnosticadas en este estudio. Aunque la sensibilidad disminuye a parasitemias menores de 500 parásitos/μL de sangre. Todas estas cualidades aseguran que este método sea una alternativa aplicable en áreas de difícil acceso, permitiendo la aplicación de un tratamiento oportuno, evitando así las complicaciones, especialmente en la malaria causada por *P. falciparum*, cuando los parásitos no son detectados por microscopía ya que están secuestrados en el endotelio vascular (Simalut *et al.*, 1999). Consideramos que este método no puede sustituir la gota gruesa y extendido para el diagnóstico de malaria, sin embargo es una excelente herramienta complementaria tanto en el campo como en el laboratorio.

AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Letty González de la Dirección de Endemias Rurales, Carúpano, Néstor Rubio, del Ambulatorio N° 1 Yaguaraparo; Lianech Tescarit de Endemias Rurales, Puerto Ayacucho. A los microscopistas Leonel Díaz, Luis Ramos y las Lics. Ymora Aguilera y Magda García. A EDUCATIF (educatif@cnet.com.ve) por su apoyo y financiamiento.

Evaluation of the Now® malaria ICT P.f/P.v. test for the diagnosis of malaria in Venezuela

SUMMARY

We evaluated the Now® malaria ICT P.f/P.v. test in symptomatic malaria patients from two different endemic areas of Venezuela: Sucre state in the northeastern costal region (n=71) and the Amazonas state in the south (n=86). One hundred two patients were positive by thick and thin blood smears, 73 with *Plasmodium vivax*, 25 with *P. falciparum*, 2 with *P. malariae* and 2 with mixed infections. Some 55 blood samples were negative. The sensitivity, specificity, PPV, NPV of the Now® malaria ICT P.f/P.v. test, were 81.4%, 100%, 100% and 74.3%, respectively and a Kappa of 0.75. With blood samples from Sucre state, the sensitivity was 96.3%, the specificity 100%, the PPV 100%, NPV 89.5% and a Kappa of 0.93 for *P. vivax*. In Amazonas State, the sensitivity was 81%, the specificity and PPV 100%, the NPV 90.5% and a Kappa of 0.85 for *P. vivax* and *P. malariae*. This sensitivity increased for *P. vivax* when parasitaemias were above 101 parasites/uL. For *P. falciparum*, the sensitivity was 51.9%, the specificity 100%, the PPV 100%, NPV was 74.5% and a Kappa of 0.56. The sensitivity was 100%, with more than 500 parasites/mL for this species. The high concordance found in this test with the thick and thin blood smear for all malaria species except *P. falciparum* gives an additional value to this dipstick, along with other well known characteristics such as the rapid and easy handling and interpretation in areas of difficult access. We concluded that the immunochromatographic test is a valuable additional diagnostic tool for malaria but not a substitute of the classical thin and thick blood smear.

Key words: Malaria, diagnosis, immunochromatographic test, Venezuela.

REFERENCIAS

- Arospide V. N., Marquiño Q. W. & Gutiérrez G. S. (2004). Evaluación de una prueba inmunocromatográfica ICT P.f/P.v. para el diagnóstico de malaria por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* en establecimientos de la macro región norte del Perú. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública*. **21**:134-138.
- Bustos D., Olveda R. & Negishi M. (1997). Evaluation of a new rapid diagnostic test to determine malaria P.f. against standard blood film, ICT malaria P.f. & Parasight F. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* **27**: 417-425.
- Cáceres J. L. & Vela F. (2003). Incidencia malárica en Venezuela durante el año 2002. *Bol. Mal. Salud Amb.* **43**: 53-58.
- Cáceres J. L., Vaccari E., Campos E., Teran E., Ramirez A., Ayala C. *et al.* (2006) Concordancia del diagnóstico malárico en Venezuela, año 2003. *Bol. Mal. Salud Amb.* **46**: 49-57.
- Coleman R., Maneechai N., Rachapaew N., Kumpitak C., Soyseng D., Miller R. *et al.* (2002). Field evaluation of the ICT Malaria P.f/P.v Immunochromatographic test for the detection of asymptomatic malaria in a *Plasmodium falciparum/vivax* endemic area in Thailand. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 379-83.
- Dean A., Dean J., Coulombier D., Brendel K., Smith D., Burton A. *et al.* (1995). *Epi Info, versión 6: a word-processing database, & statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers*. Centers for Disease Control & Prevention, Atlanta.
- Gholam-Hosseini E. & Pharm D. (1997). Rapid immunochromatography test "ICT Malaria P.f. in diagnosis of *P. falciparum* & its application in the in vivo drug susceptibility test. Disponible en: <http://pearl.sums.ac.ir/AIM/0141/edrissian0141.html>
- Greenwood B. & Mutabingwa T. (2002). Malaria in 2002. *Nature*. **415**: 670-672.
- Hänscheid T. (1999). Diagnosis of malaria: a review of alternatives to conventional microscopy. *Clin. Lab. Haematol.* **21**: 235-45.

- Makler M., Palmer C. & Ager A. (1998). A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann. Trop. Med. Parasit.* **92**: 419-33.
- Malhotra I., Dent A., Mungui P., Muchiri E. & King C. L. (2005). Real-time quantitative PCR for determining the burden of *Plasmodium falciparum* parasites during pregnancy and infancy. *J. Clin. Microbiol.* **43**: 3630-3635.
- MSDS (2002). *Boletín Epidemiológico*. Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria. Semana epidemiológica N° 52. Caracas, Venezuela
- MSDS (2006). *Boletín Epidemiológico*. Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria. Semana epidemiológica N° 52. Caracas, Venezuela.
- Moody A. (1998). Evaluation of OptiMAL, a dipstick test for the diagnosis of malaria. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **92**: 621-622.
- Ndao M., Bandyayera E., Kokoskyn E., Gyorkos T.W., Mac-Leen J. D. & Ward B. J. (2004). Comparison of blood smear antigen detection & Nested PCR methods for screening refugees from regions where malaria is endemic after a malaria outbreak in Quebec, Canada. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 2694-2700.
- OPS/OMS (1999). Métodos de investigación epidemiológica en enfermedades transmisibles. *Escuela de Malariología y San Amb.* **1**: 1-11. Venezuela.
- Petersen E., Marbiah New L. & Gottshau A. (1996). Comparison of two enumerating malaria parasites in thick blood films. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **55**: 487-89.
- Piper R., Lebras J., Wentworth L., Hunt A., Houzé S., Chiodini P. & Makler, M. (1999). Immunocapture diagnostic assays for malaria using *Plasmodium* lactate deshydrogenase. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 109-18.
- Quintana M., Piper R., Boling H., Makler M., Sherman C., Gill E., Fernández E. et al. (1998). Malaria diagnosis by dipstick assay in a Honduran population with coendemic *Plasmodium falciparum* & *Plasmodium vivax*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **59**: 868-871.
- Quiñonez J., Lacharme L. & Blair, S. (1997). Comparación de la prueba Parasight con el método convencional de gota gruesa en el diagnóstico del *Plasmodium falciparum* en Zaragoza, Antioquia, 1996. *Colombia Médica.* **28**: 109-112.
- Simalut K., Phu N. H., Whitty C., Turner, G. D., Louwrier K., Mai N. T. et al. (1999). A quantitative analysis of the microvascular sequestration of malaria parasites in the human brain. *Am. J. Pathol.* **155**: 395-410.
- Siribal S., Nakasiri S., Louareesuwai S. & Chavalishewinkoon-Pelmirti P. (2004). Identification of human malaria parasites & detection of mixed infection in Thai patients by nested PCR. *South Asian J. Trop. Med. Public Health.* **35**: 5-9.
- Snounou G., Bourne T., Jarra W., Viriyakosol S. Wood J. C. & Brown K. N. (1993a) Assessment of parasite population dynamics in mixed infections of rodent plasmodia. *Parasitology.* **105**: 363-374.
- Snounou G., Viriyakosol S., Jarra W., Thaithong S. & Brown K. N. (1993b). Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction & detection of a high prevalence of mixed infections. *Mol. Biochem. Parasitol.* **58**: 283-292.
- Srinivasan S.; Moody A. & Chiodini, P. (2000). Comparison of blood film microscopy. The OptiMAL dipstick, Rhodamine 123 fluorescence staining & PCR, for monitorial treatment. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **94**: 227-32.
- Tjitra E., Suprianto S., Dyer M., Currie B. & Anstey N. (1999). Field evaluation of the ICT Malaria P.f./P.v. immunocromatographic test for detection of *Plasmodium falciparum* & *Plasmodium vivax*. in patients with a presuntive clinical diagnosis of malaria in eastern Indonesia. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 2412-2417.
- Valecha N., Singh N. & Sharma V. (1997). Malaria diagnosis by field workers using an immunochromatographic test. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **91**: 396-407.
- Walter Reed Army Institute of Research, Maryland, USA. (2001). Preliminary Evaluation of the

Evaluación del Now® malaria ICT P.f/P.v.

Now® malaria ICT *Pf./P.v.* rapid diagnostic device for the detection of *Plasmodium falciparum* & *Plasmodium vivax*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65 (Suppl. 3)**: 320-321.

WHO (2005). World Malaria Report. RBM/WHO/ UNICEF. Geneva.

Wongsrichanalai Ch., Arevalo I., Laoboonchai A., Yinguen K., Scott Miller S., Magill A.

et al. (2003). Rapid Diagnostic devices for malaria: field evaluation of a new prototype immunochromatographic assay for the detection of *Plasmodium falciparum* & non-*falciparum* *Plasmodium*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **69**: 26-30.

Recibido el 31/03/2007
Aceptado el 31/07/2007