



Malaria: revisión de Métodos Diagnósticos

16 min.



Este artículo, presentado por Centros Médicos Dr. Stamboulian, habla de la situación epidemiológica mundial, ciclo biológico y patología de la enfermedad transmitida por el mosquito anopheles. Se destacan en la nota, las distintas opciones de diagnóstico clínico de laboratorio que ofrece el mercado para una rápida y correcta determinación.



María Fernanda Degese
Coordinadora de Parasitología
División Microbiología
Laboratorio de Análisis Clínicos Dr. Stamboulian



E-mail: bacteriologia@cei.com.ar



Introducción

La Malaria es la infección parasitaria más importante que causa enfermedad en humanos. Es causada por una o más de las cuatro especies de Plasmodium: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*. La infección es transmitida a los humanos por la picadura del mosquito hembra del género *Anopheles* (Figura 1). La mayoría de los casos se da en países endémicos. Sin embargo, también ha sido

reportado un aumento de casos importados, probablemente como resultado de un aumento de viajes turísticos a zonas tropicales con alto riesgo de transmisión de malaria.



Figura 1: mosquito *Anopheles* sp



Situación actual

Es el mayor problema de salud pública internacional causando 350 a 500 millones de infecciones en el mundo y, aproximadamente, un millón de muertes anuales. El 94% de las muertes son en África sub-sahariana, la mayoría en niños (Figura 2).



Figura 2: niños africanos



La transmisión abarca grandes áreas de América Central y de América del Sur, África, este de Europa y Pacífico Sur.

En nuestro país, la problemática está vinculada a las corrientes migratorias internacionales del límite fronterizo de Bolivia, con las provincias de Salta y Jujuy, y de Paraguay, con Misiones y Corrientes (Figura 3).



Figura 3: distribución mundial de la Malaria



Ciclo biológico

Es similar para las cuatro especies de plasmodios que infectan al hombre. Comparte dos hospedadores:

- mosquitos del género *Anopheles*, en los cuales los parásitos efectúan el ciclo sexuado o esporogonia
- huésped humano, en donde se efectúa la multiplicación asexual o esquizogonia, con dos fases: la primera, que ocurre en los hepatocitos (exoeritrocítica) y la segunda, en los eritrocitos (eritrocítica) (Figura 4).

Wiener lab. Counter 19



Wiener lab. Counter 19^{CP}



Contar es simple

Wiener lab. presenta el nuevo **contador hematológico Wiener lab. Counter 19**, y su **versión para tubos perforables 19 CP**.

Quienes nunca tuvieron un **contador hematológico** notarán que silencioso es el laboratorio sin el zumbido de la microcentrífuga, y que descansada está la vista sin el abuso del microscopio.

Por supuesto, emplearán sólo un minuto por hemograma!

Los que tenían un contador del siglo pasado, descubrirán una pantalla color de 25 cm, teclado externo, interface con LIS, lector de código de barras, completos programas de Control de Calidad y posibilidad de almacenar hasta 35.000 resultados.

Todos dispondrán de **reactivos originales** y la **más completa red de distribución y soporte técnico de toda Latinoamérica**.

Definitivamente...

Contar es simple!

Investigación y tecnología al servicio de la salud

WIENER LABORATORIOS S.A.I.C.

Riobamba 2944, S2003GSD Rosario, Argentina - Tel.: (54 341) 4329191/6

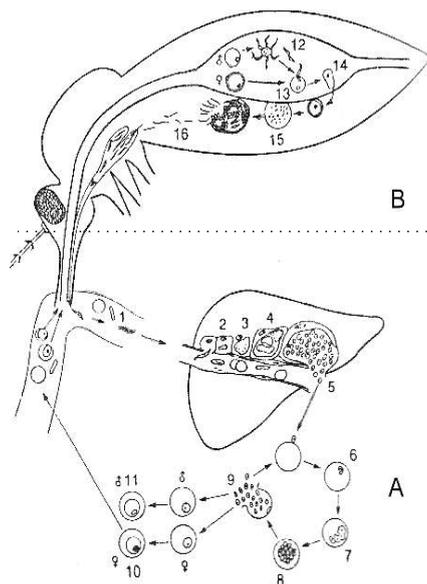
Moreno 1850, 2º piso, C1094ABB Buenos Aires, Argentina - Tel.: (54 11) 43754151/54

E-mail: marketing@wiener-lab.com.ar - www.wiener-lab.com.ar





Figura 4: ciclo biológico de la Malaria



- A: En el huésped vertebrado
 B: En el huésped invertebrado
 1: Esporozoitos infectantes
 2,3 y 4: Esquizonte exoeritrocítico
 5: Merozoitos exoeritrocítico
 6: Trofozoito
 7 y 8: Esquizonte eritrocítico
 9: Merozoitos eritrocíticos
 10 y 11: Gametocitos
 12 y 13: gametos
 14: Ooquineto
 15: Ooquiste
 16: Esporozoitos

Cuando el mosquito pica a una persona infectada, los parásitos se multiplican sexualmente en el tubo digestivo y migran a las glándulas salivales; cuando el mosquito inocula los parásitos en un nuevo huésped, ellos colonizan primero el hígado, donde tienen varios ciclos de multiplicación asexual, y de donde salen como para invadir los glóbulos rojos. Dentro de los eritrocitos, los parásitos se reproducen en forma asexual, esta multiplicación es responsable de los síntomas. Algunos parásitos, dentro de los glóbulos rojos, se transforman en gametocitos, que son las formas sexuales

de Plasmodium. Cuando el mosquito Anopheles ingiere la sangre infectada, los gametocitos se diferencian en su intestino y reinician, por reproducción sexual, el ciclo biológico.

Patología

Basada principalmente en los cambios de los eritrocitos. La fiebre es el primer síntoma, es cíclica, producto de la destrucción de los glóbulos rojos infectados. Puede llegar fácilmente a 41°C, con escalofríos. Algunas horas más tarde, la fiebre cae y cesan los escalofríos. Entre dos y cuatro días más tarde (depende de la especie de Plasmodium), el ciclo se repite. La forma grave de la malaria se da principalmente por *P. falciparum*. Los glóbulos rojos infectados por este parásito, se tornan adhesivos y se pegan en las paredes de los vasos capilares, entre otros, los del cerebro.

Importancia de un diagnóstico certero y rápido

En casos de malaria grave debe darse un diagnóstico dentro de las 24 horas del comienzo de los síntomas para prevenir la muerte del paciente.

En zonas no endémicas de nuestro país ha aumentado la necesidad de hacer un diagnóstico para malaria debido a la llegada de viajeros argentinos y extranjeros procedentes de zonas tropicales con alto riesgo de transmisión de malaria.

Se estiman 30.000 casos de malaria en viajeros anuales. El 95% de los casos aparece dentro de los 30 días de regresado del viaje.

Es por eso que hacemos una revisión de los métodos de diagnóstico disponibles.

Microscopía óptica convencional (MOC)

La observación de un microscopista experto de preparaciones hemáticas continúa siendo el método de referencia para la identificación de plasmodios.

El estudio consiste en:

- Colección de sangre por punción digital
- Preparación de gota gruesa y extendido hemático (Figura 5)
- Coloración de los preparados sanguíneos (Giemsa 20%)
- Examen microscópico a 1000X (Figuras 6 y 7)



Figura 5: gota gruesa (arriba), extendido hemático (abajo)

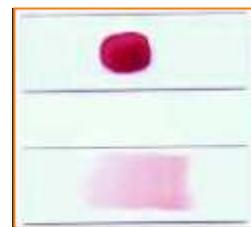


Figura 6: Microscopía de gota gruesa positiva (Coloración de Giemsa)

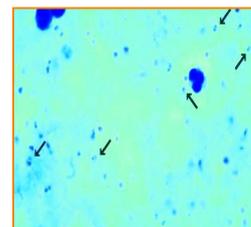


Figura 7: Microscopía de extendido hemático positivo (Coloración de Giemsa)



Ventajas de MOC:

- Método sensible: se pueden detectar

hasta 10 parásitos por microlitro de sangre.

- Permite identificar especie y estadio circulante de plasmodios.
- Permite cuantificar parásitos permitiendo evaluar la gravedad de la enfermedad y la respuesta a la quimioterapia.
- Bajo costo, puede utilizarse al mismo tiempo para otros diagnósticos.
- Puede utilizarse en programas de control de enfermedades.

Desventajas de MOC:

- Requiere personal bien entrenado
- Alto consumo de tiempo. La sensibilidad del método depende del tiempo de lectura de las láminas. Se necesitan aproximadamente 60 minutos desde la colección de la muestra hasta el resultado.

Prueba de Malaria QBC

Realiza una coloración en fresco con naranja de acridina de los elementos de la sangre, separados en función de su

densidad por gravitación en tubos capilares.

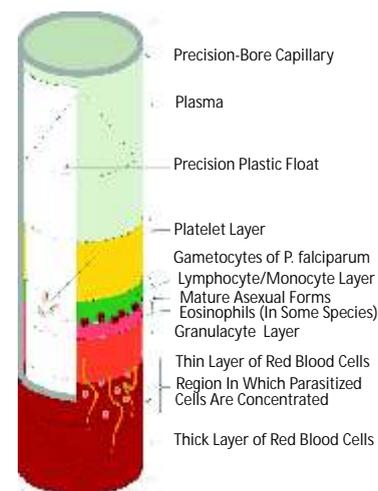
El naranja de acridina, agente intercalador específico de los ácidos nucleicos, cuando es excitado por una fuente UV induce en las células con material genómico una coloración verde o amarilla. Esto va a revelar la presencia de los parásitos sobre el fondo de hematíes desprovistos de material genómico. Los glóbulos rojos infectados son menos densos que los no infectados, por lo tanto, se buscan entre las capas de glóbulos rojos y de glóbulos blancos dentro del tubo capilar (Figura 8). La tinción de los glóbulos blancos por el naranja de acridina actúa como un control interno (el núcleo de un leucocito es cinco veces mayor que el núcleo del parásito).

Ventajas sobre la MOC:

- Menos tiempo de realización: 15-30 minutos
- La lectura es posible inmediatamente



Figura 8: Esquema de tubo capilar



Desventajas sobre la MOC:

- La identificación de especies no siempre es



PUEDE SER UNO MAS O SIMPLEMENTE... DIFERENCIARSE.

Instrumento con sistema de detección por "flash" quimioluminiscencia y fase sólida de micropartículas paramagnéticas. Importante menú de reactivos : enfermedades infecciosas (TORCH – Epstein Barr, hepatitis A y B, Borrelia, Varicela Zoster), metabolismo mineral y óseo, función adrenal, tiroides, fertilidad, hipertensión, crecimiento, oncología, cardiología, diabetes, sepsis y autoinmunidad.

DiaSorin **LIAISON**

WM ARGENTINA SA

mejorando la vida a cada instante

WERFEN



Carlos Pellegrini 1141, 7º piso. Bs. As., Argentina
Tel.: 54 11 4327 0099 / Fax: 54 11 4322 0834
info@werfen.com.ar / www.werfen.com.ar

posible

- Alto costo de equipos e insumos
- Falsos positivos debido a artefactos cuando se realiza por personal poco entrenado
- No es cuantitativo

Pruebas de diagnóstico rápido

Se basan en la detección de antígenos derivados de los parásitos palúdicos en sangre lisada, utilizando métodos inmunocromatográficos. La mayoría emplea tiras que contienen anticuerpos monoclonales marcados con antígenos parasitarios blancos. Existen varios equipos comerciales.

Antígenos en las pruebas diagnósticas disponibles:

- Proteína II rica en histidina (HRP-II), es una proteína soluble en agua, producida por los trofozoitos y gametocitos jóvenes de *P. falciparum*

- ParaSight-F
- MalaQuick

- Lactato de hidrogenasa parasitaria (pLDH), es producida por los estadios sexuales y asexuales de los parásitos de la malaria. Enzima de la vía glucolítica. Existen diferentes isómeros para cada una de las cuatro especies de plasmidios.

- Optimal Assay (Figura 9)

- Aldolasa es también una enzima de la vía glucolítica. Es específica para parásitos de malaria.

Los equipos comerciales disponibles sólo pueden distinguir *P. falciparum* de las otras especies pero no estas últimas entre sí.

Ventajas sobre MOC:

- Mayor simplicidad de realización e interpretación
- Realización por personal poco entrenado

- Factibilidad en terreno
- Rapidez
- Las pruebas basadas en pLDH y aldolasa podrían usarse para monitorear el tratamiento
- En áreas no endémicas donde el microscopista puede estar menos entrenado, debe usarse en paralelo a la microscopía



Figura 9: Optimal Assay



Analizadores para la medición de pH, gases en sangre, electrolitos, SO_2 , Hb y glucosa.

OPTI® R / OPTI® CCA-TS / OPTI® LION

OPTIMedical

www.optimedical.com

OPTI® R Analizador de gases en sangre con cassettes reusables.

OPTI® CCA-TS Analizador portátil de gases en sangre.

OPTI® LION Analizador de electrolitos.



OPTI® R



OPTI® CCA-TS



OPTI® LION

BG Analizadores

BG ANALIZADORES S.A.
Aráoz 86 | C1414DPB | C. A. B. A. | Argentina
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876
Fax: 54-11 4856-5652
www.bganalizadores.com.ar
bga@bganalizadores.com.ar

Desventajas sobre MOC:

- Algunos equipos comerciales sólo detectan *P. falciparum*
- Los equipos que detectan HRP-II pueden dar resultados positivos hasta dos semanas después de la quimioterapia y ausencia de parásitos en sangre por microscopía
- Más costosos
- No cuantitativos
- No pueden diferenciar *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*
- Algunos muestran falsos positivos con muestras para factor reumatoideo positivo

Se recomienda la confirmación por microscopía, y si el resultado es positivo, cuantificar la cantidad de glóbulos rojos parasitados.

Las pruebas rápidas detectan a partir de 100 parásitos por microlitro.

Ensayos de inmunodiagnóstico

ELISA: HRP-II de *P. falciparum* y pLDH de todos los plasmidios pueden ensayarse por esta técnica. No reemplazan a la microscopía para el diagnóstico de casos individuales, pero pueden ser de valor en el tamizaje de un gran número de muestras.

Técnicas de diagnóstico molecular

La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es al menos diez veces más sensible que la microscopía, más exacta en la identificación de especie y en la detección de infecciones mixtas.

Los primeros métodos se basaron en Nested-PCR. Padley y col. desarrollaron una PCR multiplex para la detección de las cuatro especies. Farcas y col evaluaron un equipo comercial de Real Time PCR, en comparación con la Nested-PCR como método de referencia, para la detección de malaria en viajeros que retornaban febriles.

Reportaron un 99,5 % de sensibilidad y un 100% de especificidad.

La implementación de esta técnica en los laboratorios dependerá de la demanda que tengan, ya que no está actualmente disponible como método de diagnóstico de rutina.

Este método será muy útil en el futuro en la evaluación de resistencia a las drogas utilizadas en el tratamiento antimalárico.

Pueden considerarse como herramienta importante en el diagnóstico (principalmente en pacientes pauciparasitados), en estudios epidemiológicos, en el acompañamiento de la terapéutica y en la investigación de malaria postransfusional.

Prueba rápida basada en fluorescencia para áreas de bajos recursos

Es un método que está en uso desde

DESCANSE...

CL Analyzer, el sistema de mayor flexibilidad y simplicidad.

Menú de 5 ensayos (PT, APTT, Fibrinógeno de Clauss, Antitrombina y D-Dimer9). Diferentes unidades para el reporte de resultados, identificación de las muestras editable a través del teclado. 3 unidades de lectura: 2 de coagulación a 660nm y 1 cromogénico/látex a 405nm. 12 posiciones de incubación a 37°C. Mínimo consumo de muestras y reactivos. Impresora térmica incorporada. RS232 Serial interface.

...NOSOTROS NOS OCUPAMOS.



CL Analyzer

*Ensayos coagulométricos,
cromogénicos e inmunológicos*

FÁCIL COMO USTED LO DESEA
PEQUEÑO COMO USTED LO NECESITA
LISTO PARA CUANDO USTED LO REQUIERE

WM ARGENTINA SA

mejorando la vida a cada instante

WERFEN



Carlos Pellegrini 1141, 7º piso. Bs. As., Argentina
Tel.: 54 11 4327 0099 / Fax: 54 11 4322 0834
info@werfen.com.ar / www.werfen.com.ar



2006, destinado al diagnóstico temprano en zonas rurales de muy bajos recursos en zonas endémicas.

Diseñaron un nuevo microscopio de fluorescencia de bajo costo (Cyscope) junto con un método rápido para malaria. (Figura 10)

El microscopio tiene batería recargable con panel solar, es ultracompacto y no necesita mantenimiento. Los reactivos del equipo pueden almacenarse a temperatura ambiente por más de doce meses.

Es cuantificable y permitiría la diferenciación de especies aunque quedan estudios por hacer al respecto. Nuevos métodos en estudio:

Un nuevo método que utiliza tecnología magneto-óptica (TMO) está siendo probado en África para detectar la hemozoina, un desecho del parásito malárico, en la sangre.



Figura 10: Método rápido de fluorescencia



Bibliografía:

A fluorescence-based rapid malaria test for resource-constrained areas. Prof. W. Göhde. Clinical laboratory

international, september 2008, volume 32, issue 5.

The advantages of rapid tests for the early diagnosis of malaria. A. Yorston. Clinical laboratory international, september 2008, volume 32, issue 5.

Screening for malaria: the QBC technique. J. Gallagher. Clinical laboratory international, september 2008, volume 32, issue 5.

Malaria management: the role of antigen-based tests. Clinical laboratory international, september 2008, volume 32, issue 5.

Problem pathogens: prevention of malaria in travellers. Carlos Franco-Paredes, José Ignacio Santos-Preciado. Lancet Infect Dis 2006; 6: 139-49

New Diagnostics in Parasitology. Peter L. Chiodini, PhD, FRCP, FRCPath. Infect Dis Clin N Am 19 (2005) 267.e1-267.e18

Guía V Curso de Paludismo del Instituto Malbrán

Figura 4, fuente: Enfermedades infecciosas y microbiología clínica: microbiología clínica. volumen 2., Perea Pérez, Evelio J., Doyma, Barcelona (1992)

Figura 5 y 6, fuente: www.rph.wa.gov.au y Figura 7, fuente: www.sciencedaily.com



¿Nos ayudas a seguir creciendo?

Decinos que necesitás de nosotros para seguir progresando como bioquímico, como empresario del diagnóstico o como investigador, para que así, ambos sigamos creciendo.

Revista **bioanálisis**
info@revistabioanálisis.com

