

Desempeño de la prueba de diagnóstico rápido (PDR) CareStart™ para la detección de *Plasmodium vivax*, en un foco de transmisión activa en un contexto de eliminación en el año 2019

Díaz Martínez, C.R.^{1,2} / Echeverría Barillas, J.M.¹ / Mendizábal-Cabrera, R.^{2,3}

¹ Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

² Maestría en Epidemiología, Universidad del Valle de Guatemala

³ Centro de Estudios en Salud, Universidad del Valle de Guatemala

RESUMEN: *Introducción:* La malaria es una enfermedad producida por el parásito *Plasmodium* y transmitida por el vector del género *Anopheles*. El diagnóstico se realiza por prueba de diagnóstico rápido (PDR) y gota gruesa (GG). Este estudio tuvo como objetivo evaluar el desempeño de la PDR CareStart™ con relación a la parasitológica por microscopía.

Métodos: Estudio aplicativo, observacional, retrospectivo, transversal con datos de pacientes con malaria registrados por el MSPAS por vigilancia pasiva y activa entre enero y diciembre de 2019 por personal de salud y de la comunidad en el departamento de Escuintla, Guatemala. La información fue obtenida en Microsoft Excel y analizada en RStudio. Se calculó la sensibilidad, especificidad, razones de probabilidad y valores predictivos de la PDR. También se determinó la concordancia mediante el cálculo de la Kappa Cohen.

Resultados: Fueron analizados 15215 resultados, de los cuales 714 (4.7%) fueron positivos para *P. vivax* por PDR y 767 (5.0%) para microscopía, mientras que 14448 fueron negativos por ambos métodos. La PDR obtuvo una sensibilidad de 93% (IC95%, 91% - 95%) y una especificidad del 100% (IC 95%, 100% - 100%). La concordancia encontrada con el índice de kappa fue de 0.96 (IC95%, 95- 97), con un valor $p < 0.05$.

Discusión: La PDR mostró una alta especificidad, sensibilidad y excelente concordancia con la microscopía, en coherencia con el reporte de desempeño y recomendaciones de la OMS. La PDR podría utilizarse en comunidades postergadas, permitiendo una respuesta oportuna y apoyar al proceso de eliminación en lugares donde persiste la transmisión de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: (PDR) Prueba de diagnóstico rápido, (GG) Gota gruesa, (OMS) Organización Mundial de la Salud, (MSPAS) Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, (MTILD) Mosquiteros Tratados con Insecticidas de Larga Duración, (RRI) Rociado Residual Intradomiciliar, (pLDH) Lactato Deshidrogenasa de *Plasmodium*, (HRP2) Proteína Rica en Histidina de *Plasmodium*, (PDP) Puntaje de Detección del Panel, (DTIR) Diagnóstico, Tratamiento, Investigación y Respuesta, (SIGSA) Sistema de Información Gerencial de Salud, (CS) Centros de Salud, (CAP) Centros de Atención Permanente, (CAIMI) Centro de Atención Integral Materno Infantil, (PS) Puestos de Salud, (CoVol) Colaboradores Voluntarios, (ROC) Receiver Operating Characteristic, (AUC) Área Bajo la Curva, (RP) Razones de probabilidad, (VP) Valores predictivos.

Performance of the CareStart™ rapid diagnostic test (RDT) for the detection of *Plasmodium vivax*, in at active transmission dynamics in the year 2019

ABSTRACT: *Introduction:* Malaria is a disease caused by the *Plasmodium* parasite and transmitted by infected female *Anopheles* mosquitos. In Guatemala, diagnosis is made by rapid diagnostic test (RDT) and thick smear (TS), also known as microscopy. Our study aimed to evaluate the performance of the CareStart™ RDT compared to microscopy in an endemic region of the country.

Methods: We conducted an applicative, observational, retrospective, cross-sectional study with data from patients with malaria tests registered by MSPAS through both passive and active surveillance between January and December 2019. All tests were performed by health personnel and community health workers in the department of Escuintla. The test results were summarized in Microsoft Excel and analyzed in RStudio. We calculated the sensitivity, specificity, likelihood ratios, and predictive values of the RDT and determined concordance by calculating the Kappa Cohen.

Results: We analyzed 15,215 results and found 714 (4.7%) were positive for PDR and 767 (5.0%) for microscopy, while 14,448 were negative by both methods. The RDT had a sensitivity of 93% (CI 95%, 91% - 95%) and a specificity of 100% (CI 95%, 100% - 100%). The concordance with the kappa index was 0.96 (95%CI, 95-97), with a p value < 0.05 .

Discussion: The CareStart™ RDT demonstrated high specificity, sensitivity, and excellent concordance with microscopy, in accordance with the performance report and WHO recommendations. Our findings suggest that RDTs are a reliable diagnostic tool and can be used in communities with limited access to health services to diagnose and respond to cases in a timely manner, ultimately supporting Guatemala's push towards malaria elimination in places where disease transmission persists.

KEYWORDS: (RDT) Rapid Diagnostic Test, (TS) Thick Smear, (WHO) World Health Organization, (MSPAS) Ministry of Health and Social Assistance, (LLINs) Long-Lasting Insecticidal Nets, (IRS) Indoor Residual Spraying, (pLDH) *Plasmodium* Lactate dehydrogenase, (HRP2) *Plasmodium* Histidine-Rich Protein 2, (PDS) Panel Detection Score, (DTIR) Diagnosis, Treatment, Investigation and Response, (SIGSA) Health Management Information System, (CS) Health Centers, (CAP) Permanent Attention Center, (CAIMI) Maternal and Child Integral Attention Center, (PS) Health Posts, (CoVol) Community Health Volunteers, (ROC) Receiver Operating Characteristic, (AUC) Area under de curve, (LR) Likelihood ratios, (PV) Predictive Values.

Introducción

La malaria es una enfermedad zoonótica endémica de Guatemala, la cual es producida por el parásito *Plasmodium* y transmitida por el vector del género *Anopheles*. En Guatemala la detección de casos se realiza por vigilancia activa, a cargo del personal institucional y por vigilancia pasiva, mediante la detección de casos que acuden en búsqueda de tratamiento a la red de servicios de salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) y colaboradores voluntarios en la comunidad (MSPAS, 2018). Derivado de los esfuerzos para eliminar la transmisión de la enfermedad, la incidencia de casos ha disminuido en los últimos años en un 38%, de 2035 casos en 2019 (12 casos por 100,000 habitantes) a 1258 casos en 2021 (7 casos por 100,000 habitantes) y hasta 502 casos hasta mayo de 2022 (3 casos por 100,000 habitantes), (MSPAS, 2022).

En Guatemala, el departamento de Escuintla es una de las 8 áreas priorizadas para malaria (Suchitepéquez, Escuintla, Santa Rosa, Izabal, Alta Verapaz, Petén Suroriente, Petén Suroccidente y Petén Norte), es una región caracterizada por una gran cantidad de plantaciones de caña de azúcar, bananeras, etc. Se estima que cada año, aproximadamente 60000 trabajadores, tanto de regiones endémicas como no endémicas para malaria de Guatemala, migran a este departamento; las predicciones de riesgo indican que estas plantaciones están ubicadas en las áreas de mayor riesgo de transmisión de la enfermedad (López & Wiles, 2019). El plan nacional contra la malaria se basa en tres pilares:

- **Pilar 1:** lograr el acceso universal a la prevención, el diagnóstico y tratamiento de malaria;
- **Pilar 2:** acelerar los esfuerzos para lograr la eliminación y alcanzar el estado de libre malaria;
- **Pilar 3:** transformar la vigilancia de la malaria en una intervención básica. Estos pilares a su vez constan de intervenciones claves para lograr la eliminación y mantenimiento las cuales son:
 1. El control de vectores: utilización de mosquiteros tratados con insecticidas de larga duración (MTILD) y el rociado residual intradomiciliar (RRI).
 2. Mejorar y optimizar el manejo de casos: diagnóstico por PDR y microscopía (gota gruesa y frote periférico), tratamiento y seguimiento; realizar prueba parasitológica a pacientes con sospecha de malaria, dar tratamiento antimalárico de primera línea a pacientes con malaria confirmada.
 3. Investigar, curar, manejar y dar seguimiento a los focos.
 4. Detección de los casos de infección sintomáticos y asintomáticos.
 5. Garantizar tratamiento rápido y completo.
 6. Aumentar la sensibilidad y la especificidad de la vigilancia para detectar, caracterizar y vigilar los casos (individuales y en focos) (*Plan Estratégico Institucional 2018-2032*, 2018).

Dentro de los esfuerzos intensificados de eliminación, está implementada a nivel nacional la estrategia o modelo Detección, Tratamiento, Investigación y Respuesta (DTIR), el cual consiste en la detección de todos los casos de malaria en las primeras 48 horas del inicio de síntomas, tratamiento después del diagnóstico, investigación y clasificación del caso en los primeros 3 días, desde el inicio de síntomas, la detección de casos adicionales en los próximos 7 días después de la detección del caso índice y la respuesta vectorial (entrega de MTILD, control de criaderos y cuando aplique; RRI) y la comunicación para el cambio de comportamiento en la comunidad (MSPAS, 2021).

El diagnóstico de la malaria es realizado por detección de parásitos por microscopía en gota gruesa (estándar de oro). También se utilizan pruebas de diagnóstico rápido, que detectan antígenos específicos (proteínas) producidos por parásitos de la malaria (MSPAS, 2017). Estas últimas han sido una herramienta importante en las acciones de intensificación de las intervenciones de prevención y control de malaria, principalmente en las comunidades postergadas (MSPAS, 2021).

La prueba rápida CareStart™ malaria HRP2/pLDH (Pf/Pv) tiene una forma de casete y contiene una tira reactiva, la cual está impregnada con dos anticuerpos monoclonales absorbidos con partículas de oro, como dos líneas que atraviesan la tira. Un anticuerpo monoclonal (línea "Pv") es específico para la lactato deshidrogenasa de *Plasmodium* (pLDH) del *P. vivax*, mientras que el otro anticuerpo (línea "Pf") consiste en un anticuerpo específico para la proteína rica en histidina de *Plasmodium* (HRP2) del *P. falciparum* (WHO PQDx PR, s. f.).

Los registros del uso de PDR en Guatemala empiezan a aparecer a partir de 2006, pero no es hasta el año 2014 que comenzó a aumentar su uso para la detección la malaria. Debido a que el procedimiento de uso es sencillo, la PDR se utiliza principalmente en el campo y por colaboradores voluntarios (OPS, 2014). Para la adquisición de la PDR el MSPAS se ha basado en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud en el informe de desempeño de pruebas rápidas, el cual ha tenido varias rondas de verificación (WHO et al., 2018).

Las recomendaciones de la OMS (WHO et al., 2018) para el uso de PDR están basadas en el cumplimiento de criterios de desempeño mínimo (puntaje/tasa de detección, especificidad, tasa de validez, entre otros), las cuales se pueden encontrar en el reporte que la OMS realiza a las PDR de malaria. Actualmente se encuentran vigentes las recomendaciones de la octava ronda, realizada en el período 2016-2018. Algunos gobiernos utilizan este reporte para orientar la compra de PDR, como el caso de Guatemala (Gunasekera et al., 2018). En este reporte la principal medida de desempeño de la PDR es el puntaje de detección del panel

(PDR). El reporte recomienda que una PDR debe tener una detección \geq al 75% para una densidad de 200 parásitos/ μ L y en la ronda 8 de PDR, CareStart™ obtuvo 94.3% para la detección de *Plasmodium vivax*.

Debido a que actualmente en Guatemala se están utilizando tanto microscopía como PDR para el diagnóstico de la enfermedad, este estudio tiene como objetivo evaluar el desempeño de la PDR CareStart™ con relación a la microscopía para informar a los tomadores de decisiones. Esta información permitirá evaluar la pertinencia de la implementación del uso de la PDR para el diagnóstico de malaria en comunidades postergadas, sin acceso a infraestructura básica para la microscopía, principalmente aquellas en las que se requiere la aplicación del DTIR para avanzar hacia la eliminación.

Materiales y métodos

Diseño y contexto

Se realizó un estudio aplicativo, observacional, retrospectivo, transversal con datos de pacientes con malaria registrados por el MSPAS por vigilancia pasiva y activa entre enero y diciembre de 2019 por personal de salud y de la comunidad en el departamento de Escuintla, Guatemala.

Definición de caso

Para este estudio se consideraron las definiciones para caso sospechoso y confirmado de malaria vigentes en el MSPAS.

Caso sospechoso de malaria

Toda persona con fiebre intermitente superior a 38°C, y que presente uno o más de los siguientes síntomas: escalofríos, sudoración, cefalea, malestar general y que haya viajado a áreas endémicas dentro de 7 días o haber residido en el último año en un área de riesgo de transmisión de malaria y para aquellos que manifiesten haber padecido la enfermedad en los últimos tres años.

También se considera un caso sospechoso a una persona que fue confirmada con malaria pero que tomó el tratamiento interrumpidamente o no completó el esquema de tratamiento asignado, según la especie de *Plasmodium* diagnosticado (MSPAS, 2018).

Caso confirmado de malaria

Toda persona en quien, independientemente de la presencia o ausencia de síntomas y signos clínicos, se ha confirmado la presencia de los parásitos de la malaria a través de diagnósticos de laboratorio (PDR, gota gruesa -GG-, frote periférico o pruebas moleculares en casos especiales) (MSPAS, 2018).

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo con información recolectada, como parte de sus actividades rutinarias, por personal de salud del MSPAS y colaboradores voluntarios. El personal del MSPAS completó el formulario E1 de recolección de información del Sistema de Información Gerencial de Salud (SIGSA) con la información proporcionada por los pacientes en los 14 distritos del departamento de Escuintla, Guatemala, departamento que reportó más casos de malaria en 2019.

El personal del MSPAS realizó, como parte de sus actividades rutinarias, la PDR y la GG, luego coloreó esta última por tinción de Giemsa, de acuerdo con el Manual de Normas y Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de Malaria del MSPAS (2017).

Estos distritos de salud tienen en su jurisdicción la red de servicios: Centros de Salud (CS), Centros de Atención Permanente (CAP), Centro de Atención Integral Materno Infantil (CAIMI), Puestos de Salud (PS) y colaboradores voluntarios (ColVol) quienes toman las muestras de gota gruesa y realizan las PDR. El diagnóstico parasitológico por microscopía lo realizan únicamente en ciertos servicios de salud, esto debido a que cuentan con infraestructura adecuada para el diagnóstico microscópico y el personal calificado para ello (MSPAS, 2016). Todos los servicios anteriormente mencionados poseen tratamiento antimalárico, el cual proporcionan a los pacientes con caso confirmado de la malaria, dosificando de acuerdo con cuadros estandarizados según la edad (MSPAS, 2017).

Población de estudio

Se tomó información de todos los casos con sospecha de malaria, de cualquier edad, que fueron detectados por vigilancia pasiva e ingresados al sistema oficial de reporte de información epidemiológica del MSPAS (SIGSA) en los 14 distritos de salud del departamento de Escuintla. A estos casos se les realizó una prueba de malaria por PDR CareStart™ y GG en el periodo de enero a diciembre del 2019.

Procedimientos de estudio

Se obtuvo información demográfica de los pacientes, resultados de GG y PDR, datos de la muestra y del notificante, transcrita a bases de datos de Microsoft Excel por el personal de subprograma de malaria del MSPAS del nivel central.

La base datos se encontraba dividida en casos positivos y negativos. Para los casos positivos se obtuvieron las variables: sexo (femenino y masculino), edad (en años), embarazo (sí o no), municipio (La Gomera, Santa Lucía Cotzumalguapa, La Democracia, Masagua, Sipacate, Tiquisate, Escuintla, Nueva Concepción, Siquinalá y Puerto San José), fecha de diagnóstico (día, mes, año), diagnóstico microscópico estratificado por densidad parasitaria de fase asexual y sexual

(1-39, 40 - 60, 61 - 200, 201 - 2000 parásitos por 100 campos). En cuanto a las bases de datos de casos negativos, se contaba únicamente con las variables: estatus de embarazo, municipio y fecha de diagnóstico, dada la falta de información para las otras variables en los sistemas de los servicios de salud. Ambas bases de datos contaban con información sobre la realización y resultado de la PDR.

Manejo de datos

La información fue obtenida en hojas de Microsoft Excel independientes, separadas por Distritos y por casos positivos y negativos, las cuales se importaron a una base desarrollada con RStudio, versión 2022.02.3+492. Luego de la unificación de las bases de datos, se estandarizaron las opciones de respuesta de las variables como los nombres de los 14 municipios, los identificadores de mujeres embarazadas, resultados de PDR y se categorizó los valores de densidad parasitaria (asexual y sexual). Se verificó la concordancia de datos, como, por ejemplo, resultados de hombres embarazados y edades fuera de rango.

Plan de análisis de datos

Se calcularon los parámetros de validación de la PDR utilizando como referencia el resultado del diagnóstico parasitológico por microscopía. Se analizó una tabla de 2x2, conteniendo los resultados positivos y negativos de GG y PDR, con el comando `epi.test` del paquete `epiR` y se calculó la sensibilidad, especificidad, razones de probabilidad y valores predictivos de la PDR (Stevenson et al., 2024). Las razones de probabilidad fueron consideradas buenas cuando $RP+ > 10$ y $RP- < 0.1$.

Fórmula:

```
tabla <- c(714,0,53,14448)
valores <- epi.tests(tabla, method = "exact", digits = 2, conf.level = 0.95)
print(valores)
```

También se determinó la concordancia entre ambas pruebas diagnósticas mediante el cálculo de la Kappa de Cohen, utilizando el comando `kappa` del paquete `vcd`. Los resultados se interpretaron de acuerdo a lo propuesto por Florkowski (2008,) con lo cual los valores de Kappa corresponden a concordancias débiles (< 0.59), moderadas ($0.6-0.79$), fuertes ($0.8-0.9$) y casi perfectas (> 0.9).

Fórmula:

```
tabla <- as.table(rbind(c(714, 0), c(53, 14448)))
library(vcd)
valor.k <- Kappa(tabla)
valor.k
```

La precisión del diagnóstico fue determinada por el método de la curva ROC, (por sus siglas en inglés Receiver Operating Characteristic), utilizando el comando `roc.default`, y se interpretó de acuerdo a lo propuesto por Šimundić (2009) con lo cual los valores del área bajo la curva (AUC), la cual es una representación gráfica de la sensibilidad frente a la especificidad, corresponden a precisión excelente ($0.9-1.0$), muy buena ($0.8-0.9$), buena ($0.7-0.8$), suficiente ($0.6-0.7$), mala ($0.5-0.6$) y prueba sin utilidad (< 0.5). El valor p para la significancia fue considerado < 0.05 .

Fórmula:

```
roc.default(response = pdrdataf$resultadopdr, predictor = pdrdataf$positivog)
Data: pdrdataf$positivog in 470 controls (pdrdataf$resultadopdr 1) < 14484 cases
(pdrdataf$resultadopdr 2).
Area under the curve: 0.9988
```

Consideraciones éticas

El estudio fue revisado por el Comité de Ética en Investigaciones del Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala, que emitió un dictamen de no aplicabilidad de regulaciones en investigación con sujetos humanos, dado que no se registró información privada identificable de los pacientes para el estudio.

Resultados

Características demográficas y epidemiológicas de los casos

Se tomaron datos de 15309 pacientes sospechosos de malaria, de los cuales se eliminaron 94 (0.6%) registros que no contaban con información sobre el diagnóstico por PDR o microscopía. Se tomaron en cuenta para el análisis 15215, de los cuales 714 (4.7%) fueron positivos para CareStart™ y 767 (5.0%) para microscopía, ambos para *Plasmodium vivax*, mientras que 14448 fueron negativos para malaria por ambos métodos. Del total de los resultados positivos, 415 (54%) fueron hombres. La media de edad de los casos positivos fue de 25 años (IC 95% 14-33) y se encontró mayor porcentaje de casos de malaria en adultos mayores de 18 años (Cuadro 1).

La mayoría de los casos positivos a *Plasmodium vivax* tenían densidades parasitarias menores a media cruz (1-39 parásitos en 100 campos de microscopía) tanto para fases sexuales como asexuales. En el caso de las PDR's la mayoría de los positivos y falsos negativos corresponden también densidades parasitarias bajas, menores a media cruz (Cuadro 2).

Cuadro 1. Características de los pacientes con casos positivos para malaria por *Plasmodium vivax* (por GG o GG y PDR) en el departamento de Escuintla, Guatemala, de enero a diciembre de 2019 (n=767)

Características	Total		Positivos GG		Positivos PDR	
	n	%	n	%	n	%
Sexo						
Hombres	415	(54.1)	415	(54.1)	382	(49.8)
Mujeres	352	(45.9)	352	(45.9)	332	(43.3)
Grupos de edad						
Edad media en años (IQ)	25.09	(14-33)				
<5	31	(4.0)	31	(4.0)	30	(4.2)
5 - 18	250	(32.6)	249	(32.5)	234	(32.8)
> 18	486	(63.4)	486	(63.4)	449	(63.0)

Cuadro 2. Densidad parasitaria de casos positivos para malaria por *Plasmodium vivax* por GG y PDR del departamento de Escuintla, Guatemala, de enero a diciembre 2019. Positivos para formas asexuales o positivos para formas sexuales o ambas.

Densidad parasitaria (parásitos en 100 campos)	Positivos por GG (N=767)		Positivos por PDR (N=714)		Falsos negativos por PDR (N=53)	
	n	%	n	%	n	%
Formas asexuales*						
1-39	357	(56.8)	324	(45.4)	33	(62.3)
40-60	104	(16.6)	99	(13.9)	5	(9.4)
61-199	92	(14.6)	88	(12.3)	4	(7.5)
200-2000	75	(11.9)	73	(10.2)	2	(3.8)
Formas sexuales[§]						
1-39	433	(67.1)	396	(55.5)	37	(69.8)
40-60	56	(8.7)	53	(7.4)	3	(5.7)
61-199	98	(15.2)	94	(13.2)	4	(7.5)
200-2000	58	(9.0)	57	(8.0)	1	(1.9)

La suma de los porcentajes no corresponde al 100% ya que algunos pacientes son positivos para formas asexuales o positivos para formas sexuales o ambas. Las formas asexuales* son trofozoítos y esquizontes y las formas sexuales[§] son los gametocitos.

Los casos confirmados por microscopía y PDR estratificados por Distrito se presentan en el cuadro 3, siendo La Gomera el Distrito que mayor número de casos presentó en el año 2019.

Desempeño de la PDR CareStart™ malaria HRP2/pLDH (Pf/pan)

Para la PDR CareStart™ se obtuvo una sensibilidad de 93% (IC95% 0.91% - 0.95%) y una especificidad del 100% (IC

95%, 100% - 100%). La concordancia encontrada entre la microscopía y la PDR CareStart™ con el índice de kappa fue de 0.96 (IC95%, 0.95 - 0.97), con un valor p <0.05 (Cuadro 4).

Se obtuvo un área bajo la curva (AUC) de 0.9988 (fig. 1) correspondiente a una concordancia muy buena.

Cuadro 3. Distribución de pacientes con casos positivos de malaria por *Plasmodium vivax* por distrito de salud del departamento de Escuintla, Guatemala, de enero a diciembre 2019 (n=767).

Distrito	Gota Gruesa (N=767)		Prueba de diagnóstico rápido (N=714)	
	n	(%)	n	(%)
La Gomera	380	(49.5)	339	(47.5)
Santa Lucía Cotzumalguapa	193	(25.2)	189	(26.5)
La Democracia	63	(8.2)	63	(8.8)
Masagua	49	(6.4)	46	(6.4)
Sipacate	47	(6.1)	45	(6.3)
Tiquisate	21	(2.7)	20	(2.8)
Escuintla	7	(0.9)	6	(0.8)
Nueva Concepción	4	(0.5)	3	(0.4)
Siquinalá	2	(0.3)	2	(0.3)
Puerto San José	1	(0.1)	1	(0.1)
Total	767	(100)	714	(100)

Cuadro 4. Desempeño de la prueba de diagnóstico rápido CareStart™ utilizando la microscopía como método de referencia.

Resultados por prueba	Microscopía	
	Positivo (n)	Negativo (n)
CareStart™ Positivo	714	0
Negativo	53	14448
Medidas de desempeño diagnóstico	Valor	
Sensibilidad (IC 95%)	93% (91%, 95%)	
Especificidad (IC 95%)	100% (100%, 100%)	
Valor predictivo positivo (IC 95%)	100% (99%, 100%)	
Valor predictivo negativo (IC 95%)	100% (100%, 100%)	
Razón de probabilidad de una prueba positiva	Inf*	
Razón de probabilidad de una prueba negativa	0.07 (0.05, 0.09)	
Valor de kappa de Cohen	0.962 (0.952 - 0.973)	

(p < 0.0001). Inf* = El valor es infinito dado que no se tiene ningún caso en el que el resultado la GG haya sido negativo y la PDR positivo, por lo que se genera una división sobre 0.

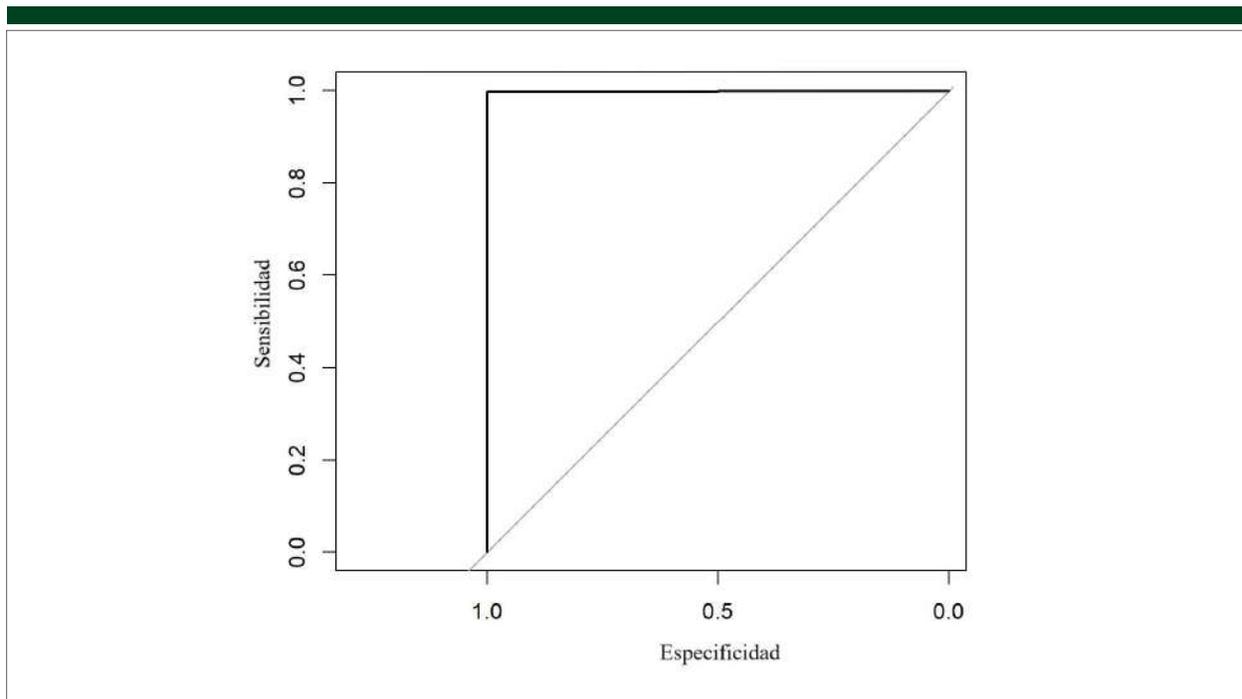


Figura 1. Curva ROC de precisión de la PDR CareStart™

Discusión de resultados

En este estudio buscamos determinar el desempeño de la PDR CareStart™ malaria HRP2/pLDH (Pf/pan) contra el estándar de microscopía, utilizando datos recolectados en el departamento de Escuintla, Guatemala en el 2019. Esta comparación permitirá conocer cómo se desempeña la PDR en Guatemala y poder tomar decisión respecto a su implementación rutinaria en comunidades postergadas sin acceso a infraestructura básica para la implementación de laboratorios de microscopía, en los que se requiere la aplicación de la estrategia DTIR para avanzar hacia la eliminación (Maltha et al., 2014).

El diagnóstico de la malaria se basa en métodos de laboratorio y tradicionalmente se ha utilizado el diagnóstico parasitológico por microscopía (estándar de oro), observando directamente los parásitos en sangre en una muestra de gota gruesa teñida con coloración de Giemsa (Mathison & Pritt, 2017). Según Aidoo & Incardona (2022) en los últimos 12 años, el uso de pruebas inmunocromatográficas de detección de antígenos de *Plasmodium* se ha implementado a gran escala, debido a que presentan ventajas sobre el método parasitológico, como menos tiempo para dar un diagnóstico y que las puede realizar personal con poco entrenamiento, como colaboradores voluntarios. Esto es importante, sobre todo en comunidades con poco o nulo acceso a los servicios de salud, lo que

permite iniciar el tratamiento antimalárico y las intervenciones vectoriales en la comunidad de forma oportuna, ayudando a interrumpir la transmisión. Las PDR han dado un giro en la estrategia para mejorar las acciones de DTIR, y debido a que Guatemala se está acercando a la eliminación, las PDR han ayudado a minimizar la cantidad de infecciones que pueden escaparse de la vigilancia (OPS, 2019). Según la OMS (WHO et al., 2018) el uso de las PDR es una parte vital de la estrategia de detección, principalmente en áreas donde no se puede implementar la microscopía de buena calidad, o la implementación no es sostenible (Port et al., 2014). Esto teniendo en cuenta que el nivel mínimo de sensibilidad que se requiere para el diagnóstico de *P. vivax* está determinado por los estándares de la WHO et al., (2018) que recomiendan que una PDR debe poder detectar $\geq 75\%$ de las infecciones con densidades de 200 parásitos/ μL .

La sensibilidad y especificidad de la PDR CareStart™ encontradas en este estudio fueron de 93% y 100% respectivamente. Mientras que los VPN y VPP fueron de 100% ambos. Estos resultados muestran que la PDR CareStart™ tiene una menor sensibilidad y la misma especificidad que la microscopía. Lo encontrado en este estudio concuerda con lo reportado por (Bwire et al., 2019) quien reporta igualmente una buena precisión y una fuerte concordancia entre la PDR y la microscopía entre los pacientes sospechosos de malaria. La especificidad de la PDR CareStart™ para *Plasmodium vivax* reportada en este estudio concuerda con

la reportada por estudios realizados en la frontera entre China y Myanmar (Xiaodong et al., 2013), ambas del 100%, con valores de sensibilidad y VPP muy cercanos también. El valor de VPN de este estudio es muy cercano a lo encontrado por Ratsimbaoa y colegas (Ratsimbaoa et al., 2007) en Madagascar, quienes reportaron un valor para la PDR CareStart™ del 99.0% para *P. vivax*.

El cuadro 1 muestra que la mayoría de los casos positivos fueron hombres (54.1 %) con una edad media (IQ) de 25 años, lo cual concuerda con lo encontrado por (Okiring et al., 2022), donde la positividad fue mayor en hombres en edades comprendidas en 15 - 39 años.

Al estratificar los resultados por densidad parasitaria, la mayoría de los diagnósticos por GG, PDR y falsos negativos se encuentran dentro de la densidad más baja observable por microscopía, 1-39 parásitos por 100 campos vistos. Este resultado coincide con lo reportado por (Ratsimbaoa et al., 2007) y colaboradores, quienes mencionan que las PDR presentan menor sensibilidad a bajas parasitemias (cuadro 2).

Moody (2002) reportó que en lugares de alta transmisión pueden observarse bajas parasitemias debido a la alta exposición a los parásitos de malaria, esto puede explicar por qué la mayoría de los diagnósticos por GG, PDR al igual que los falsos negativos se encontraron en el Distrito de La Gomera, lugar que presentó la mayoría de los casos en el estudio (cuadro 3).

Ante esta limitación de detección de infecciones con baja parasitemia de la PDR y que en Guatemala no se cuenta con recursos para realizar pruebas moleculares de forma rutinaria, como se propone en la literatura (McMorrow et al., 2011), se sugiere al MSPAS que para la vigilancia de malaria en áreas en contexto de eliminación se utilice de forma rutinaria una combinación del diagnóstico clínico y PDR, y se realice la toma de muestras de gota gruesa solo para pacientes con diagnóstico clínico sospechoso, pero PDR negativa. De esta forma, se logran tres objetivos:

- (1) captar todos los casos, tanto con parasitemias altas como bajas,
- (2) el diagnóstico oportuno en campo para la mayoría de los pacientes (los que tengan parasitemias más altas), y
- (3) reducir el volumen de muestras que tengan que procesar los microscopistas a solo las que sean sospechosas de malaria, pero tengan PDR negativa, lo que les permitirá dar un resultado en menor tiempo.

Adicionalmente, se sugiere implementar encuestas de corte transversal en un número reducido de la población en las comunidades con transmisión activa. Esto con el objetivo de buscar infecciones asintomáticas mediante métodos

moleculares, más sensibles como se ha recomendado en otras áreas endémicas en contextos similares (Zainabadi, 2021), y poder realizar intervenciones de forma que se pueda identificar estos focos de casos asintomáticos que pudieran estar manteniendo la transmisión activa.

Dentro de las limitaciones que tuvo el estudio se puede mencionar la falta de información para las variables sociodemográficas de los casos negativos, que se debe a que el formato utilizado para el ingreso de información utilizado por el MSPAS es diferente para resultados positivos y negativos. Otra limitación fue que no se logró confirmar los resultados de GG y PDR por métodos moleculares, ya que dicha prueba está disponible en el MSPAS únicamente para casos especiales de confirmación.

Conclusiones

La PDR CareStart™ mostró una alta especificidad, sensibilidad y excelente concordancia con la microscopía en casos sospechosos de malaria en Guatemala, en concordancia con el reporte de desempeño y recomendaciones de la OMS. Por lo que la PDR CareStart™ podría utilizarse en comunidades postergadas donde no hay acceso a la infraestructura básica para implementar un centro de microscopía y su uso permitiría una respuesta oportuna para el tratamiento de los pacientes y la implementación de intervenciones vectoriales en apoyo al proceso de eliminación en lugares críticos del país en donde persiste la transmisión de la enfermedad.

Para evitar dejar infecciones sin tratamiento es recomendable realizar investigaciones epidemiológicas completas y elaborar un criterio para los casos sospechosos que requieran confirmación por microscopía.

Recomendamos realizar estudios futuros con distintos proveedores de PDR para asegurar que los resultados obtenidos sean concordantes con la microscopía estándar y sirvan de apoyo para la eliminación de la malaria en Guatemala. Para futuros estudios, revisar factores que puedan influir en la sensibilidad de la prueba, así como evaluar rutinariamente las capacidades de los tomadores de muestra y personas que realizan la PDR.

Agradecimientos

A mi tutora Renata Mendizabal que fue la guía para la elaboración del presente estudio.

Al Ing. Juan Carlos Romero por su apoyo en el código de R.

A mi asesor institucional Miguel Echeverría por la facilitación de las bases de datos.

Al Programa de Enfermedades Transmitidas por Vectores por apoyar y no poner objeción en el manejo de la información.

Bibliografía

- Aidoo, M., & Incardona, S. (2022). Ten Years of Universal Testing: How the Rapid Diagnostic Test Became a Game Changer for Malaria Case Management and Improved Disease Reporting. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(1), 29-32. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.21-0643>
- Bwire, G. M., Ngasala, B., Kilonzi, M., Mikomangwa, W. P., Felician, F. F., & Kamuhabwa, A. A. R. (2019). Diagnostic performance of CareStart™ malaria HRP2/pLDH test in comparison with standard microscopy for detection of uncomplicated malaria infection among symptomatic patients, Eastern Coast of Tanzania. *Malaria Journal*, 18(1), 354. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2990-9>
- Florkowski, C. M. (2008). Sensitivity, specificity, receiver-operating characteristic (ROC) curves and likelihood ratios: Communicating the performance of diagnostic tests. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 29 Suppl 1, S83-87.
- Gunasekera, W. M. K. T. D. A. W., Premaratne, R. G., Weerasena, O. V. D. S. J., Premawansa, W. S., Handunnetti, S. M., & Fernando, S. D. (2018). Utility of pf/pan RDT for diagnosis in the prevention of re-establishment of malaria in Sri Lanka. *Pathogens and Global Health*, 112(7), 360-367. <https://doi.org/10.1080/20477724.2018.1536855>
- López, J., & Wiles, M. (2019, diciembre 3). Case study: Public-private partnership toward malaria elimination in Escuintla, Guatemala. <https://www.clintonhealthaccess.org/case-study-public-private-partnership-toward-malaria-elimination-in-escuintla-guatemala/>
- Maltha, J., Guiraud, I., Lompo, P., Kaboré, B., Gillet, P., Van Geet, C., Tinto, H., & Jacobs, J. (2014). Accuracy of Pf HRP2 versus Pf-pLDH antigen detection by malaria rapid diagnostic tests in hospitalized children in a seasonal hyperendemic malaria transmission area in Burkina Faso. *Malaria Journal*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-20>
- Mathison, B. A., & Pritt, B. S. (2017). Update on Malaria Diagnostics and Test Utilization. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(7), 2009-2017. <https://doi.org/10.1128/JCM.02562-16>
- McMorrow, M. L., Aidoo, M., & Kachur, S. P. (2011). Malaria rapid diagnostic tests in elimination settings-Can they find the last parasite? *Clinical Microbiology and Infection*, 17(11), 1624-1631. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03639.x>
- Moody, A. (2002). Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 66-78. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.1.66-78.2002>
- MSPAS. (2016). *Lineamientos Para El Proceso De Ordenamiento Territorial Distrital e Identificación De Brechas Modelo Incluyente En Salud*. <https://saludjalapa225.files.wordpress.com/2016/10/2-lineamientos-ordenamiento-territorial.pdf>
- MSPAS. (2017). *Manual de normas y procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de malaria*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social - Guatemala.
- MSPAS. (2018). *Protocolos de Vigilancia Epidemiológica Enfermedades Vectoriales de Origen Parasitario*. <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202018/Protocolos/Enfermedades%20Vectoriales%20de%20Origen%20Parasitario.pdf>
- MSPAS. (2021). *Guía Operativa para la Gestión de Focos de Malaria en Guatemala*.
- MSPAS. (2022). *Base de Datos NAD*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social -Guatemala.
- Okiring, J., Epstein, A., Namuganga, J. F., Kanya, E. V., Nabende, I., Nassali, M., Sserwanga, A., Gonhasa, S., Muwema, M., Kiwuba, S. M., Staedke, S. G., Kanya, M. R., Nankabinwa, J. I., Briggs, J., Jagannathan, P., & Dorsey, G. (2022). Gender difference in the incidence of malaria diagnosed at public health facilities in Uganda. *Malaria Journal*, 21(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04046-4>
- OPS. (2014). *Informe de la Situación de Malaria en Guatemala*.
- OPS. (2019). *Manual de estratificación según el riesgo de malaria y eliminación de focos de transmisión*. Organización Panamericana de la Salud.
- Plan Estratégico Institucional 2018-2032. (2018). Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- Port, J. R., Nguetse, C., Adukpo, S., & Velavan, T. P. (2014). A reliable and rapid method for molecular detection of malarial parasites using microwave irradiation and loop mediated isothermal amplification. *Malaria Journal*, 13(1), 454. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-454>
- Ratsimbaoa, A., Randriamanantena, A., Raherinjafy, R., Rasoarilalao, N., & Ménard, D. (2007). Which malaria rapid test for Madagascar? Field and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in Madagascar. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(3), 481-485.
- Šimunđić, A.-M. (2009). Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC*, 19(4), 203-211.
- Stevenson, M., Sergeant, E., Heuer, C., Nunes, T., Heuer, C., Marshall, J., Sanchez, J., Thornton, R., Reiczigel, J., Robison-Cox, J., Sebastiani, P., Solymos, P., Yoshida, K., Jones, G., Pirikahu, S., Firestone, S., Kyle, R., Popp, J., Jay, M., ... Rabiee, A. (2024). *epiR: Tools for the Analysis of Epidemiological Data (2.0.67)* [R ($\geq 3.0.0$)]. <https://cran.r-project.org/web/packages/epiR/index.html>
- WHO, FIND, & CDC. (2018). *Malaria rapid diagnostic test performance: Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 8 (2016-2018)*. World Health Organization. <https://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241514965/en/>
- WHO PQDx PR. (s. f.). *WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Programme PUBLIC REPORT Product: CareStart™ Malaria HRP2/pLDH (Pf/Pv) COMBO (PQDx 0138-049-00)*. World Health Organization. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewjQm5mz9rn1AhvZTDABHbfCBPQQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fdiagnostics_laboratory%2Fevaluations%2F150528_final_report_0138_049_00_malaria_hrp2pldh_pfpv.pdf%3Fua%3D1&usq=AQvVaw0fC5Z1h3RdfemC4szEOTci
- Xiaodong, S., Tambo, E., Chun, W., Zhibin, C., Yan, D., Jian, W., Jiashi, W., & Xiaonong, Z. (2013). Diagnostic performance of CareStart™ malaria HRP2/pLDH (Pf/pan) combo test versus standard microscopy on falciparum and vivax malaria between China-Myanmar endemic borders. *Malaria Journal*, 12, 6. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-6>
- Zainabadi, K. (2021). Ultrasensitive Diagnostics for Low-Density Asymptomatic Plasmodium falciparum Infections in Low-Transmission Settings. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(4), e01508-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01508-20>