

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), La Habana, Cuba

Comparación de los métodos de gota gruesa y tiras de diagnóstico rápido para el diagnóstico de la malaria en Luanda, Angola

Comparison of thick blood smear and rapid test methods for malaria diagnosis in Luanda, Angola

García Nazaré Pembele^I, Filomena da Silva^{II}, Filomeno Fortes^{III}, Lázara Rojas Rivero^{IV}, Nereyda Cantelar de Francico^V, Reynaldo Menéndez Capote^{VI}, Lizet Sánchez Valdés^{VII}

^I Lic. en Química Física. Aspirante a Doctor en Ciencias de la Salud. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). e.mail: garciapembele@gmail.com

^{II} Lic. en Biología. Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). Luanda, República de Angola. e.mail: garciapembele@gmail.com

^{III} Médico General. Dr.C. Profesor Titular. Programa Nacional para el Control de la Malaria (PNCM). Luanda, República de Angola. e.mail: filomenofortes@gmail.com

^{IV} Especialista Segundo Grado en Microbiología. Dr.C. Profesora e Investigadora Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). e.mail: lrojas@ipk.sld.cu

^V Especialista Segundo Grado en Microbiología. Dr.C. Profesora e Investigadora Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). e.mail: nereydac@infomed.sld.cu

^{VI} Especialista Segundo Grado en Medicina Interna. Dr.C.. Profesor e Investigador Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). e.mail: macdelauntyped@gmail.com

^{VII} Lic. en Matemáticas, Dr.C. Investigador Titular, Profesor Auxiliar. Centro de Inmunología Molecular (CIM), La Habana, Cuba. e.mail: lsanchez@cim.sld.cu

RESUMEN

Introducción: a pesar de que se ha logrado reducir la morbilidad y la mortalidad de la malaria en África, esta constituye aún un importante problema de salud en Angola, y su capital, Luanda.

Objetivo: comparar la ejecución de la microscopía contra un método de tiras de diagnóstico rápido para el diagnóstico de la malaria.

Material y Métodos: se llevó a cabo un estudio de corte transversal para evaluar la precisión de una prueba rápida para el diagnóstico del paludismo. Entre diciembre de 2013 y marzo de 2014; se seleccionaron aleatoriamente 1 000 muestras de sangre de pacientes quienes acudieron a los laboratorios por diagnóstico sospechoso de malaria, las que fueron analizadas por gota gruesa, y una prueba de diagnóstico rápido (SD Biotec Malaria Antigen Pf/Pv®). Se evaluó la concordancia, la validez y la seguridad de ambos métodos, y para ello las gotas gruesas, fueron consideradas como la "prueba de oro".

Resultados: se obtuvo una mayor frecuencia de positividad con las TDR que con las gotas gruesas en dos de los centros de salud ($p < 0,05$). Al comparar los valores de concordancia, validez y seguridad entre los métodos empleados para el diagnóstico de la malaria se obtuvieron valores de concordancia superiores con la gota gruesa que con las TDR. De la misma forma, la especificidad y los valores predictivos de los positivos también fueron superiores con las gotas gruesas ($p < 0,01$).

Conclusiones: este estudio permite considerar esta técnica de diagnóstico rápido como un método adecuado y sensible para diagnosticar infecciones por *P. falciparum* en Luanda.

Palabras clave: tiras de diagnóstico rápido, microscopía, gota gruesa, centros de salud de Angola.

ABSTRACT

Introduction: despite of National programs for control have reduced the morbidity and mortality because of malaria in Africa, this parasitic disease is still an important public health problem in the continent, in the Republic of Angola, and its capital Luanda.

Objective: to compare the skills of technicians on malaria microscopy and to compare the microscopy against a rapid diagnostic test (RTD) in health centers from Luanda.

Material and Methods: among December 2013 y march 2014, one thousand samples were randomly selected from patients visiting laboratories because of suspected diagnosis of malaria. These samples were observed by 20 technicians in 10 health centers from Luanda. A blood sample was taken by every person in order to be examined by thick smear (TS) and a RTD (SD Biotec Malaria Antigen Pf/Pv®). The concordance, the validity, and safety of both methods were evaluated, and the gold standard was defined by thick smears observed by four malaria expert technicians.

Results: the frequency of positivity obtained with RTD was higher than with TS in health centers from Kassequel, Samba, and Km 12 ($p < 0.05$). The comparison of concordance, validity, and safety between used methods for the diagnosis of malaria showed concordance values with TS higher than RTD. The specificity and predictive values for positives were upper with TS than RTD ($p < 0,01$).

Conclusions: this study showed the RTD Biotec Malaria Ag f/Pv®, is an adequate and sensible method for the diagnosis of *P. falciparum* infections in Luanda.

Key words: rapid diagnostic tests, microscopy, Angola health centers, thick smear.

INTRODUCCIÓN

La malaria constituye aún un importante problema de salud tanto en el continente africano como en la República de Angola. A pesar de que los programas nacionales de control, han logrado reducir la morbilidad y la mortalidad en la mayoría de las áreas endémicas del África subsahariana donde influye fuertemente en la morbilidad y mortalidad materna e infantil.^{1,2} Sin embargo, sigue siendo aún un reto el uso más efectivo de los limitados recursos y la dirección selectiva de los mismos hacia aquellas áreas donde pudieran tener mayor impacto.¹

En Angola, se producen alrededor de 3,4 millones de casos de malaria al año, principalmente por *Plasmodium falciparum*.³ La transmisión ocurre todo el año con una mayor estacionalidad en el Sur. Se ha estimado que esta parasitosis es responsable de 35 % de la mortalidad en niños menores de 5 años, de 25% de la mortalidad materna, y de 60% en los niños ingresado por debajo de 5 años.⁴⁻⁵

En la ciudad de Luanda, capital de Angola, viven alrededor de 4,5 millones de personas, casi la cuarta parte de la población angolana, y en ella, ocurren más casos de malaria que en cualquier otra provincia del país, aunque la mayoría de los casos son diagnosticados solo clínicamente y no existe información sobre los lugares donde esta parasitosis pudo haber sido adquirida.¹ Algunas evaluaciones han demostrado que en los centros de salud de esta ciudad, solo una pequeña parte de los pacientes febriles con diagnóstico de malaria es confirmada por el laboratorio, lo que ocurre a pesar de que una gran proporción de los pacientes son diagnosticados y tratados por malaria.¹ Todo esto ha demostrado que se requiere una mejoría tanto el diagnóstico de la fiebre como el de la malaria por parte del personal de salud.¹

La microscopía de la gota gruesa (GG) ha sido considerada el método de elección para determinar la prevalencia de la malaria en encuestas epidemiológicas, permitiendo la cuantificación y la diferenciación de las especies *Plasmodium* a un bajo costo.⁶⁻⁸ Más recientemente, las técnicas de tiras de diagnóstico rápido (TDR) fueron introducidas como herramientas de pesquisa en las encuestas de campo, pues al dar resultados rápidos permiten el tratamiento *in situ*.⁹⁻¹⁰ De hecho las TDR se han usado como único método para monitorear las infecciones por *Plasmodium* en los programas de vigilancia de Tanzania, Gambia y hasta en algunas regiones de Angola.¹¹⁻¹³

La elección entre la microscopía y las TDR no es siempre fácil, pues el desarrollo operacional de ambos procedimientos diagnósticos varía en dependencia de la intensidad de la transmisión, la prevalencia de las infecciones y la densidad parasitaria.^{5,14-16} Se ha informado que la microscopía detecta casi 75% de las infecciones con malaria en áreas de alta transmisión, mientras que en las de baja transmisión se pueden perder hasta 88% de las infecciones.¹⁷ Además, el nivel de experiencia de los técnicos, la calidad de los equipos, y la carga de trabajo pueden llevar a estimaciones incorrectas de la densidad parasitaria y en la diferenciación de las especies.^{4,15}

OBJETIVO

Comparar la ejecución de la microscopía contra un método de tiras de diagnóstico rápido para el diagnóstico de la malaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio de corte transversal en el período comprendido entre diciembre de 2013 y marzo de 2014 en Luanda, Angola.

Para la selección de la muestra se escogieron aleatoriamente 10 centros de salud de Luanda: Kassequel, Samba, Rangel, Sapú II, Zango I, Boa Vista, Funda, Zango II, Km 12, y Kilamba. En cada centro de salud se seleccionaron al azar 100 muestras de pacientes, quienes acudieron al laboratorio por diagnóstico sospechoso de malaria. En cada uno de ellos se seleccionaron dos microscopistas al azar que realizaban habitualmente el diagnóstico de la malaria por GG y TDR.

Se determinaron las características intrínsecas (sensibilidad y especificidad) y extrínsecas (Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN)), así como la concordancia con el índice kappa (IK) de dicha prueba de diagnóstico rápido frente a la prueba diagnóstica de referencia.

A cada paciente se le entregó un consentimiento informado para poder ser incluido en la investigación, y previa aprobación del mismo se le extrajo una muestra de sangre para estudio por gota gruesa, la que fue procesada siguiendo las normas técnicas nacionales para el diagnóstico de malaria.¹⁶

Las pruebas de diagnóstico rápido (SD Bioline Malaria AntigenPf/Pv®), fueron procesadas e interpretadas siguiendo las instrucciones del fabricante¹⁷ y el resultado se mantuvo en discreción para no interferir con los resultados de la GG.

Adicionalmente, todos los casos positivos fueron remitidos a un médico del mismo centro para ser tratados de forma gratuita.

Finalmente se obtuvieron 1 000 muestras (100 por cada centro), las que fueron observadas por GG y TDR por los 20 técnicos seleccionados de los 10 centros de salud. Posteriormente, a cada GG se le hizo 4 confirmaciones con la misma técnica microscópica de GG por 4 técnicos expertos del Laboratorio Nacional de Salud Pública de Luanda, para confirmar el diagnóstico inicial realizado por los técnicos involucrados en este estudio.

Las variables de estudio para cada técnica fueron los casos positivos y negativos. Ellas fueron recogidas en una base Microsoft-Excel y procesadas con el paquete de programas Epidat 3.1 (Dirección Xeral de Saude Pública, Organización Panamericana de la Salud, Galicia, España) y EpiInfo versión 6.04. Se determinaron las frecuencias en porcentajes y para comparar las variables cualitativas se utilizaron pruebas de comparación de proporciones.

Se determinó el índice de kappa de Cohen¹⁸ con sus respectivos intervalos de confianza, para evaluar la concordancia entre los resultados. Para determinar la validez se estimaron los valores de la sensibilidad y especificidad diagnóstica, mientras que la seguridad de ambos métodos fue determinada por los valores predictivos de los positivos y los negativos¹⁹

Las GG realizadas por los 4 técnicos expertos, y que fueron totalmente coincidentes en sus resultados entre ellos, fue considerada como la "prueba de oro" para compararla contra las GG realizadas por los 20 técnicos en los 10 centros de salud de Luanda primero, y con los resultados de las tiras rápidas después.

Para comparar los índices de kappa se empleó la prueba de homogeneidad de kappa, teniendo en cuenta los errores estándares. En todos los casos se consideraron como significativos los valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En la Tabla 1, al comparar la frecuencia de positividad a Malaria por los diferentes métodos, encontramos que con la técnica de diagnóstico rápido, se obtuvo una mayor frecuencia de positividad ($p < 0,05$) que con la técnica de GG por los técnicos en los centros de salud de Kassequel, Samba, y el de Km 12. En el resto de los centros de Salud no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de positividad entre los métodos evaluados ($p > 0,05$).

Tabla 1. Comparación de la positividad de las gotas gruesas examinadas por expertos, con las vistas por técnicos locales, y el método rápido para el diagnóstico de la malaria

Centros de Salud	GG positivas examinadas por expertos*		GG positivas examinadas por técnicos locales		TDRs SD Bilinepositivos Malaria Ag f/Pv		Valor de p
	No.	%	No.	%	No.	%	
Kassequel	0	0	0	0	3	3	$P < 0.05$
Samba	0	0	0	0	4	4	$P < 0.05$
Rangel	6	6	6	6	8	8	NS
Sapú II	14	14	14	14	14	14	NS
Zango I	12	12	12	12	13	13	NS
Boa Vista	44	44	44	44	45	45	NS
Funda	7	7	12	12	12	12	NS
Zango II	35	35	35	35	35	35	NS
Km 12	2	2	2	2	9	9	$P < 0.05$
Kilamba	6	6	6	6	8	8	NS
Total	126	12,6	131	13,1	151	15,1	NS

* Coincidentes totalmente en 4 confirmaciones que hicieron 4 técnicos de experiencia.

Al comparar los valores de concordancia, validez y seguridad entre los métodos empleados para el diagnóstico de la malaria en los 10 centros de salud evaluados en Luanda (Tabla 2), y teniendo como "prueba de oro" los resultados confirmados por 4 observadores expertos, se determinó que los valores de concordancia (índice de kappa) fueron superiores con la GG que con las tiras rápidas (Prueba de homogeneidad de kappas, $p < 0,01$). De la misma forma, la especificidad y los valores predictivos de los positivos también fueron superiores con la GG que con el método rápido ($p < 0,01$). Debe destacarse que no se encontraron diferencias significativas en los valores de sensibilidad y los valores predictivos para los negativos entre la GG realizadas y los obtenidos con las técnicas de tiras rápidas en la red de salud (NS).

Tabla 2. Concordancia, validez y seguridad entre los métodos para el diagnóstico de la malaria

Parámetros a evaluar		GG examinadas por expertos* contra GG realizadas en el centro		GG examinadas por expertos* contra TDRs SD Bioline Malaria Ag f/Pv		Valor de P
		Valor	(IC al 95 %)	Valor	(IC al 95 %)	
Concordancia	Índice de Kappa	0,98	(0,96-0,99)	0,89	(0,85-0,93)	P<0,01**
Validez	Sensibilidad	100	(99,60-100)	100	(99,60-100)	P<0,05***
	Especificidad	99,43	(98,87-99,99)	97,14	(95,98-98,30)	P<0,01***
Seguridad	Valor predictivo para los positivos	96,18	(92,52-99,85)	83,44	(77,18-89,70)	P<0,01***
	Valor predictivo para los negativos	100	(99,94-100)	100	(99,94-100)	P<0,05***

* Coincidentes totalmente en 4 confirmaciones que hicieron 4 técnicos de experiencia.

** Prueba de homogeneidad de kappas.

*** Prueba de comparación de proporciones.

DISCUSIÓN

Las pruebas de diagnóstico rápido que existen, comercialmente se basan en la detección de la deshidrogenasa láctica parasitaria (pLDH), la proteína 2 rica en histidina (HRP II) y la aldolasa.¹⁷ Estas técnicas están disponibles en la mayoría de los centros de salud de Luanda, Angola, y existen evidencias anecdóticas de falsos resultados negativos.¹ Algunas de estas técnicas han demostrado un valor predictivo de 69,0% lo que hace que no sean siempre óptimas en relación con la microscopía de referencia.¹

Llama la atención que en este estudio la técnica SD Bioline Malaria Ag f/Pv), obtuvo una mayor frecuencia de positividad que la GG en tres de los centros de Salud de los 10 evaluados. En un estudio realizado también en Angola, en el que se utilizó como "prueba de oro" un método de PCR, se encontró que la TDR de Paracheck-Pf® tuvo una mayor sensibilidad, especificidad y valor predictivo para los positivos que la microscopía.²⁰ Es necesario aclarar que el rendimiento de algunos métodos inmunocromatográficos de diagnóstico rápido, como los que detectan histidinas, pudiera estar afectado por la detección de antigenemias de infecciones previas, lo cual pudiera llevar a falsos positivos y a una sobrestimación de la prevalencia.²¹⁻²³

La prueba inmunocromatográfica evaluada usa un anticuerpo monoclonal específico contra la proteína II rica en histidina (HRP-II) de *P. falciparum* y otro anticuerpo monoclonal específico para la detección de la lactato deshidrogenasa de *P. vivax*, haciendo posible diagnosticar infecciones causadas por *P. falciparum* o *P. vivax* de manera independiente, o infecciones mixtas por ambas especies. Además, esta prueba rápida ha sido diseñada para ser almacenada y trabajada a temperaturas de uno a 40°C, lo cual la hace aplicable en condiciones de campo, sin requerir refrigeración.

Se ha demostrado que la detección de histidinas es de mayor duración que la de lasLDH en sangre, aunque los niveles de esta última pueden ser detectables por técnicas inmunocromatográficas hasta 7 días después de ser curada la infección²³ lo que pudiera explicar la presencia de algunos falsos positivos en nuestro estudio.

Adicionalmente las sensibilidades de algunas TDRs pueden variar debido a su vulnerabilidad a las temperaturas extremas y a la alta humedad, especialmente durante el desarrollo de encuestas de campo en países tropicales.²⁴ Otro estudio

demonstró la superioridad de la técnica rápida Bioline Malaria Ag f/Pv® cuando se comparó con la de Paracheck-Pf®.²⁵

CONCLUSIONES

Este trabajo nos permite considerar la técnica de diagnóstico rápido Bioline Malaria Ag f/Pv, como un método adecuado y sensible para diagnosticar infecciones por *P. falciparum* en Luanda. Aunque no se ha demostrado la existencia del fenómeno de prozona específicamente con este método comercial, como ha sucedido con otras técnicas rápidas que detectan histidinas,^{26, 27} sería oportuno evaluar esta posibilidad con este método inmunocromatográfico. El desarrollo de otros estudios como los comparativos de costos²⁸ sería recomendable antes de la extensión definitiva de estas técnicas rápidas en la red nacional de laboratorios de Angola.

Agradecimientos

Al Programa Nacional de Control de la Malaria (PNCM), la Colaboración del Laboratorio Nacional de Referencia de Malaria (LNRM) de la República de Angola encabezado por el Instituto Nacional de Salud (INSP), la Dirección Provincial de Salud de Luanda (DPSL), y a los responsables y técnicos de los 10 centros de salud seleccionados en Luanda por contribuir al desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thwing JI, Mihigo J, Fernandes AP, Saute F, Ferreira C, Fortes F, *et al.* How much malaria occurs in urban Luanda, Angola? A health facility-based assessment. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80(3):487-91.
2. Sousa-Figueiredo JC, Gamboa D, Pedro JM, Fançonny C, Langa AJ, Magalhães RJ, *et al.* Epidemiology of malaria, and others in the context of a demographic surveillance system in northern Angola. *PLoS One.* 2012; 7:e331-89.
3. WHO. World Malaria Report. Geneva: World Health Organization; 2008.
4. COSEP: *Angola Malaria Indicator Survey 2006/2007.* Luanda-Angola: Consultoria de Serviços, Estudos e Pesquisas - COSEP Lda.Consultadoria de Gestão e Administração em Saúde - ConsaúdeLda. Macro International Inc; 2007.
5. PMI. Country Profile: Angola. Washington: President's Malaria Initiative. PMI. President's Malaria Initiative; 2006.
6. Fançonny C, Sebastião YV, Pires JE, Gamboa D, Nery SV. Performance of microscopy and RDTs in the context of a malaria prevalence survey in Angola: a comparison using PCR as the gold standard. *Malar J.* 2013; 12: 284.
7. Kilian AH, Metzger WG, Mutschelknauss EJ, Kabagambe G, Langi P, Korte R, *et al.* Reliability of malaria microscopy in epidemiological studies: results of quality control. *Trop Med Int Health.* 2000; 5:3-8.

8. Njama-Meya D, Kanya MR, Dorsey G. Asymptomatic parasitaemia as a risk factor for symptomatic malaria in a cohort of Ugandan children. *Trop Med Int Health*. 2004; 9:862-868.
9. Keating J, Miller JM, Bennett A, Moonga HB, Eisele TP. *Plasmodium falciparum* parasite infection prevalence from a household survey in Zambia using microscopy and a rapid diagnostic test: implications for monitoring and evaluation. *Acta Trop*. 2009;112:277–282.
10. Endeshaw T, Gebre T, Ngondi J, Graves PM, Shargie EB, Ejigsemahu Y, *et al*. Evaluation of light microscopy and rapid diagnostic test for the detection of malaria under operational field conditions: a household survey in Ethiopia. *Malar J*. 2008; 7:118.
11. Rowe AK, De León GF, Mihigo J, Santelli AC, Miller NP, Van-Dúnem P. Quality of malaria case management at outpatient health facilities in Angola. *Malar J*. 2009; 8:275.
12. Tanzania Commission for AIDS (TACAIDS) ZACZ, National Bureau of Statistics (NBS), Office of the Chief Government Statistician (OCGS), and Macro International Inc: Tanzania HIV/AIDS and Malaria Indicator Survey 2007–08. Dar es Salaam, Tanzania: TACAIDS, ZAC, NBS, OCGS, and Macro International Inc; 2008.
13. Nyan OJC, Manneh K, Jarjou E. Malaria Baseline Survey Final Report. Gambia: Malaria case management (MCM), Insecticide treated nets (ITNs), Intermittent preventive treatment (IPTp); 2009.
14. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test(RDT). *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 77:119-127.
15. Manual de Diagnóstico Laboratorial de Malaria, Editora MS- OS 2005/0626. Brasília DF: Ministério da Saúde; 2005.
16. Mendoza NM, Cucunubá ZM, Aponte S, González NE, Bernal SD. Evaluación de campo de la precisión de la prueba de diagnóstico rápido SD Bioline Malaria Antigen Pf/Pv® en Colombia: *Biomédica*; 2013; 33:587-97.
17. Okell LC, Ghani AC, Lyons E, Drakeley CJ. Submicroscopic infection in *Plasmodium falciparum*-endemic populations: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2009; 200:1509-1517.
18. Gisev N, Bell JS, Chen TF. Interrater agreement and interrater reliability: key concepts, approaches, and applications. *Res Social Adm Pharm*. 2013; 9:330-8.
19. Cerda L, Cifuentes L. Uso de tests diagnósticos en la práctica clínica (Parte 1). Análisis de las propiedades de un test diagnóstico. *RevChilInfect*. 2010; 27: 205-208.
20. Fançonny C, Sebastião YV, Pires JE, Gamboa D, Nery SV. Performance of microscopy and RDTs in the context of a malaria prevalence survey in Angola: a comparison using PCR as the gold standard. *Malar J*. 2013; 12: 284.
21. Endeshaw T, Gebre T, Ngondi J, Graves PM, Shargie EB, Ejigsemahu Y, *et al*. Evaluation of light microscopy and rapid diagnostic test for the detection of malaria

under operational field conditions: a household survey in Ethiopia. *Malar J.* 2008, 7:118.

22. Kyabayinze DJ, Tibenderana JK, Odong GW, Rwakimari JB, Counihan H: Operational accuracy and comparative persistent antigenicity of HRP2 rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* malaria in a hyperendemic region of Uganda. *Malar J.* 2008, 7:221.

23. Hopkins H, Kambale W, Kanya MR, Staedke SG, Dorsey G, Rosenthal PJ. Comparison of HRP2- and pLDH-based rapid diagnostic tests for malaria with longitudinal follow-up in Kampala, Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2007, 76:1092-97.

24. WHO: Malaria Rapid Diagnosis: Making it Work. Meeting Report Regional Office for the Western Pacific. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003.

25. Djallé D, Gody JC, Moyon JM, Tekpa G, Ipero J, Madji N, *et al.* Performance of Paracheck™-Pf, SD Bioline malaria Ag-Pf and SD Bioline malaria Ag-Pf/pan for diagnosis of falciparum malaria in the Central African Republic. *BMC Infect Dis.*; 2014; 14:109.

26. Luchavez J, Baker J, Alcantara S, Belizario V Jr, Cheng Q, McCarthy JS, *et al.* Laboratory demonstration of a prozone-like effect in HRP2-detecting malaria rapid diagnostic tests: implications for clinical management. *Malar J.* 2011;10:286.

27. Gillet P, Scheirlinck A, Stokx J, De Weggheleire A, Chaúque HS, Canhanga OD, *et al.* Prozone in malaria rapid diagnostics tests: how many cases are missed? *Malar J.* 2011; 10:166.

28. Ansah EK, Epokor M, Whitty CJ, Yeung S, Hansen KS. Cost-effectiveness analysis of introducing RDTs for malaria diagnosis as compared to microscopy and presumptive diagnosis in central and peripheral public health facilities in Ghana. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 89:724-36.

Recibido: 3 de diciembre de 2014.

Aprobado: 15 de diciembre de 2014.