



**13° CONGRESO COLOMBIANO &
19° CONGRESO IBEROAMERICANO DE
BANCOS DE SANGRE, MEDICINA
TRANSFUSIONAL Y TERAPIA CELULAR**

—  **CONECTADOS CON EL PACIENTE**  —

Octubre 31 a Noviembre 3 del 2024
Bogotá Colombia, Hotel Sheraton

Malaria y transfusión, estado del arte prevención

13° Congreso Colombiano y 19° Congreso Iberoamericano de Bancos de Sangre, Medicina Transfusional y Terapia Celular

31 de Octubre al 3 de Noviembre de 2024 – Bogotá

Amadeo Sáez Alquezar



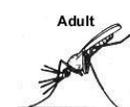
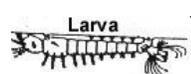
MALARIA



La malaria es una enfermedad infecciosa causada por protozoarios del genero *plasmodium**

Los parásitos son transmitidos por la hembra del mosquito *Anopheles* (vector)

*Clase: Esporozoa; Sub orden: Haemosporina; Orden: Eucoccidiida;
Familia: Plasmodiidae; Genero: *Plasmodium*



Datos de la OMS sobre Malaria (diciembre 2023)

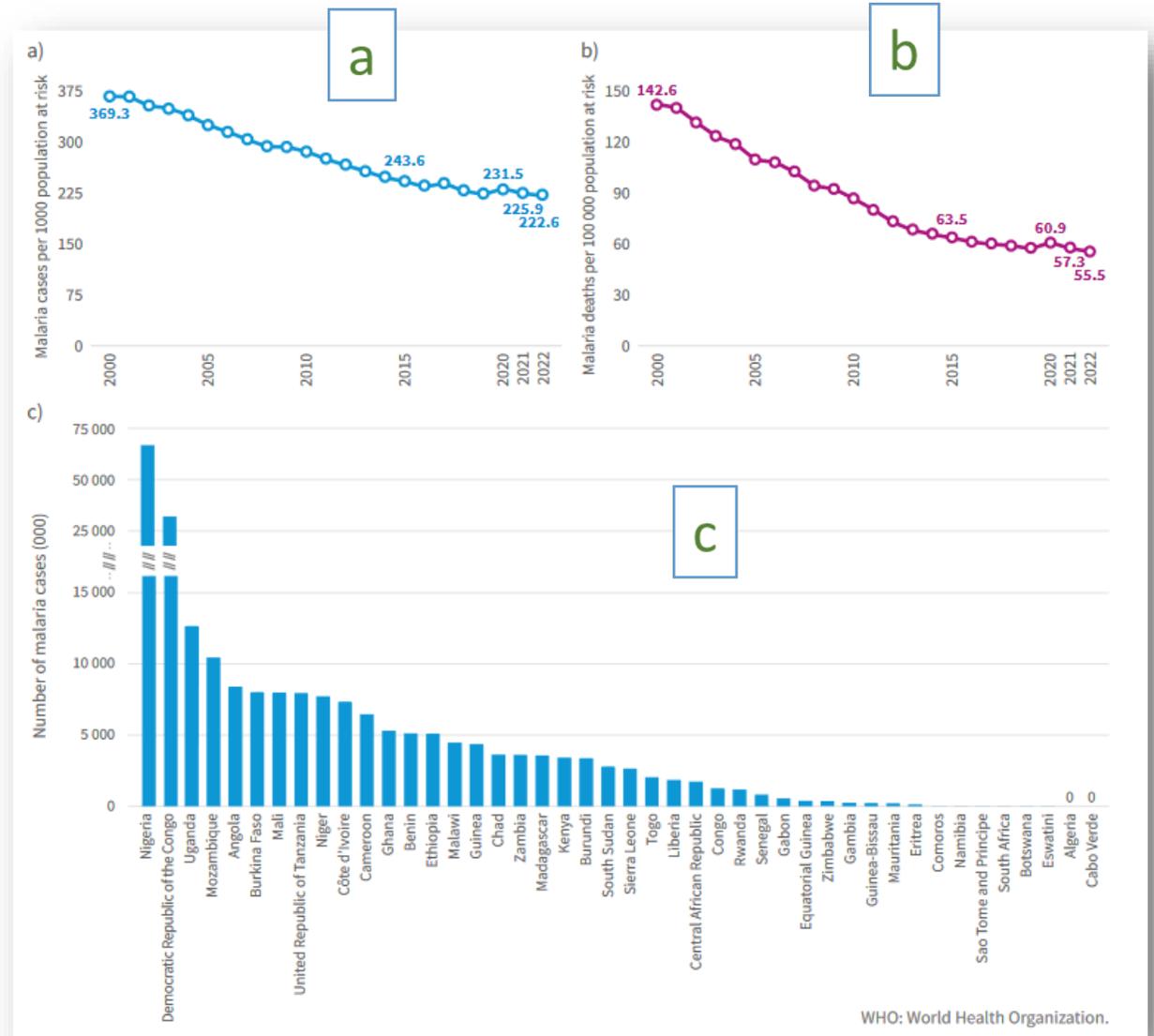
En 2022, a nivel mundial, se produjeron 249 millones de casos de paludismo y 608 000 muertes por la enfermedad en 85 países. Casi la mitad de la población mundial corría riesgo de contraer malaria

- **La Región de África de la OMS soporta una fracción desproporcionadamente alta de la carga mundial de paludismo.**
 - En 2022, la Región concentró un 94% de los casos de paludismo (233 millones) y un 95% de las defunciones por la enfermedad (580 000).
 - De todas las muertes por paludismo registradas en la Región, alrededor de un 80% corresponde a niños menores de 5 años.

Malaria en la Región de África OMS: 2000 - 2022

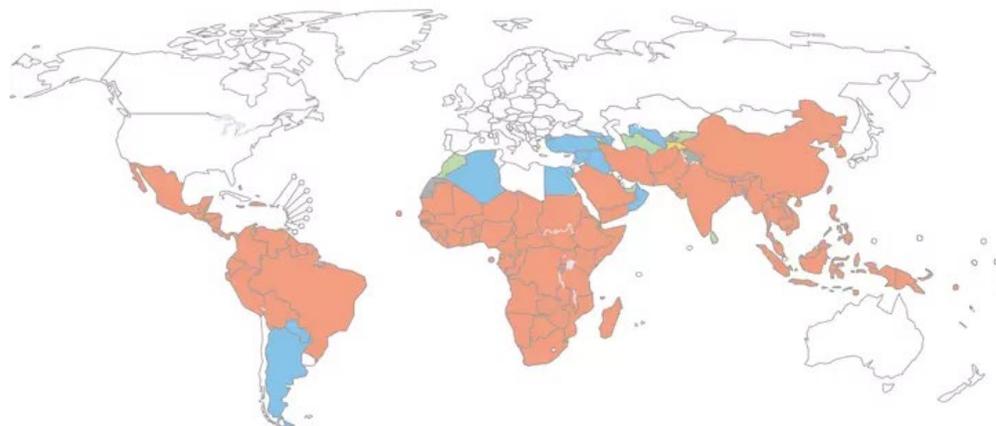
Tendencias:

- La incidencia de casos de malaria (casos por 1000 habitantes en riesgo)
- La tasa de mortalidad (muertes por 100 000 habitantes en riesgo), 2000-2022;
- Casos de malaria por país en la Región de África de la OMS,



Las regiones de la OMS del Sudeste Asiático, el Mediterráneo Oriental, el Pacífico Occidental y las Américas también reportan números significativos de casos y muertes por la malaria.

Países e territórios com casos autóctonos em 2000 e seu status em 2016.
Países com zero casos autóctonos ao menos nos últimos 3 anos consecutivos são elegíveis para a certificação de estado livre de malária da OMS. Todos os países da Região Europeia da OMS relataram zero casos indígenas em 2016. O Quirguistão e o Sri Lanka foram certificados sem malária neste ano.



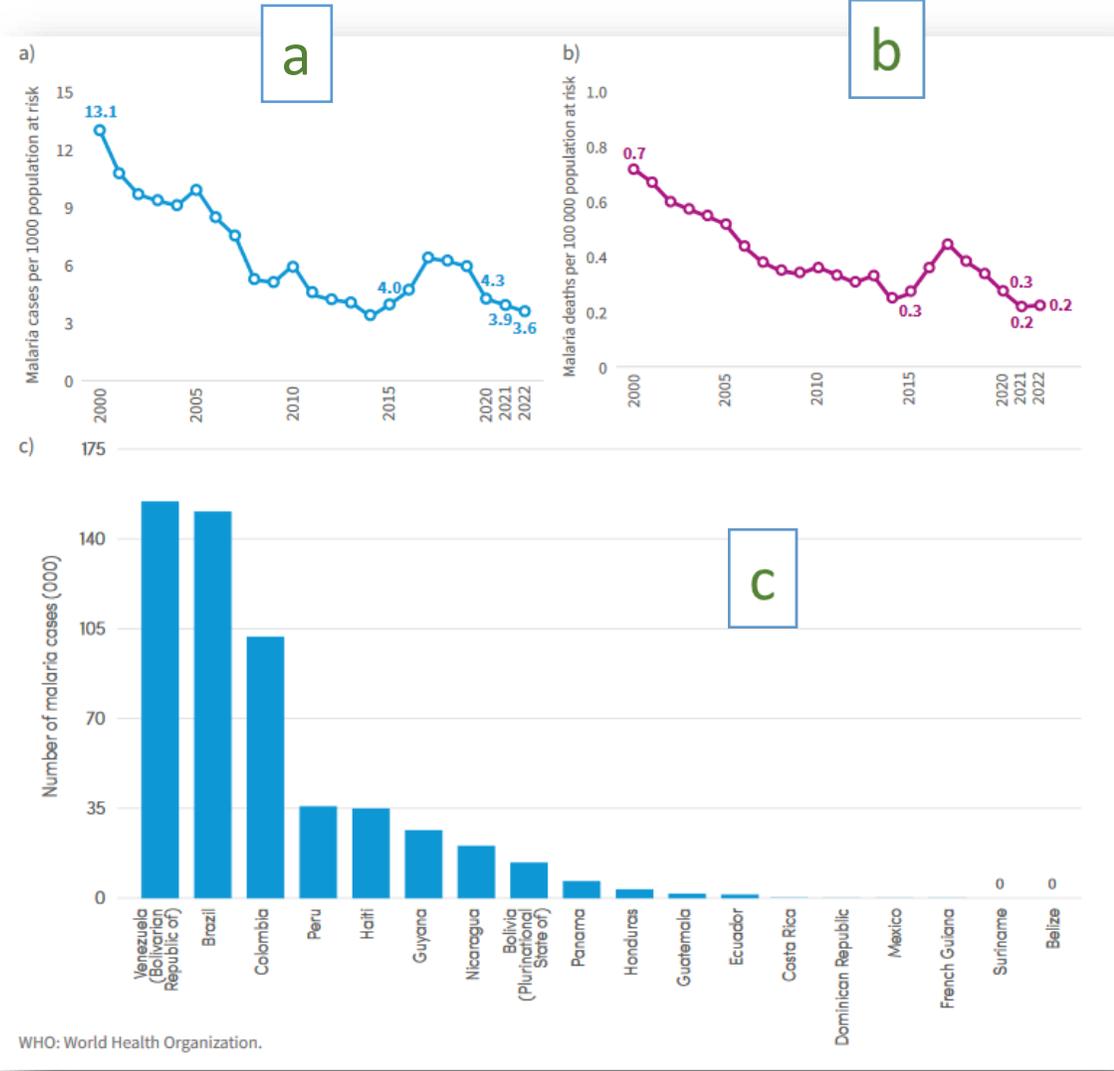
Fonte: base de dados da OMS

≥1 cases
Zero cases in 2016
Zero cases (≥3 years)
Certified malaria free since year 2000
No malaria
Not applicable

Malaria en la Región de las Américas OMS: 2000 - 2022

Tendencias:

- a. La incidencia de casos de malaria (casos por 1000 habitantes en riesgo)
- b. La tasa de mortalidad (muertes por 100 000 habitantes en riesgo), 2000-2022;
- c. Casos de malaria por país en la Región de las Américas de la OMS,



Protozoarios del género *Plasmodium* que causan la infección por malaria en seres humanos y los periodos de incubación. (malaria transmitida por mosquitos)

Especies de plasmodios	Periodo de incubación
<i>Plasmodium falciparum</i>	7 – 10 días
<i>Plasmodium vivax</i>	10 – 17 días
<i>Plasmodium malariae</i>	18 – 40 días
<i>Plasmodium ovale</i>	≥ 8 días
<i>Plasmodium knowlesi</i>	10 – 12 días

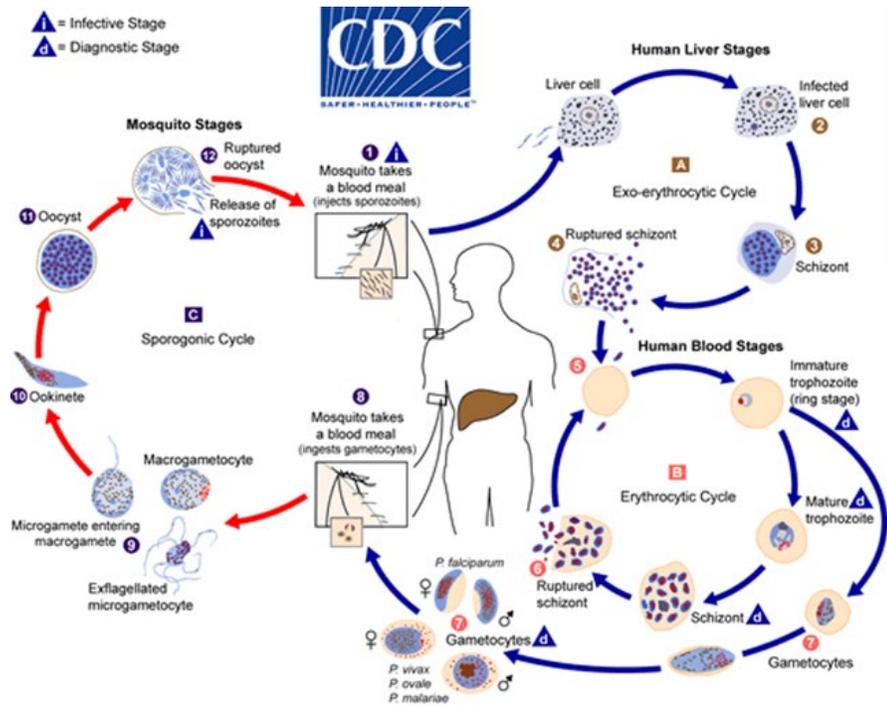
Formas de transmissão de la malaria

- ✓ **Picada de la hembra del mosquito**
Anopheles
- ✓ **Vía sanguínea**
Malaria transfusional*
Uso incorrecto de agujas/jeringas contaminadas
- ✓ **Trasplante de órganos y tejidos**
- ✓ **Vía congénita**
De la madre al feto a través de la placenta

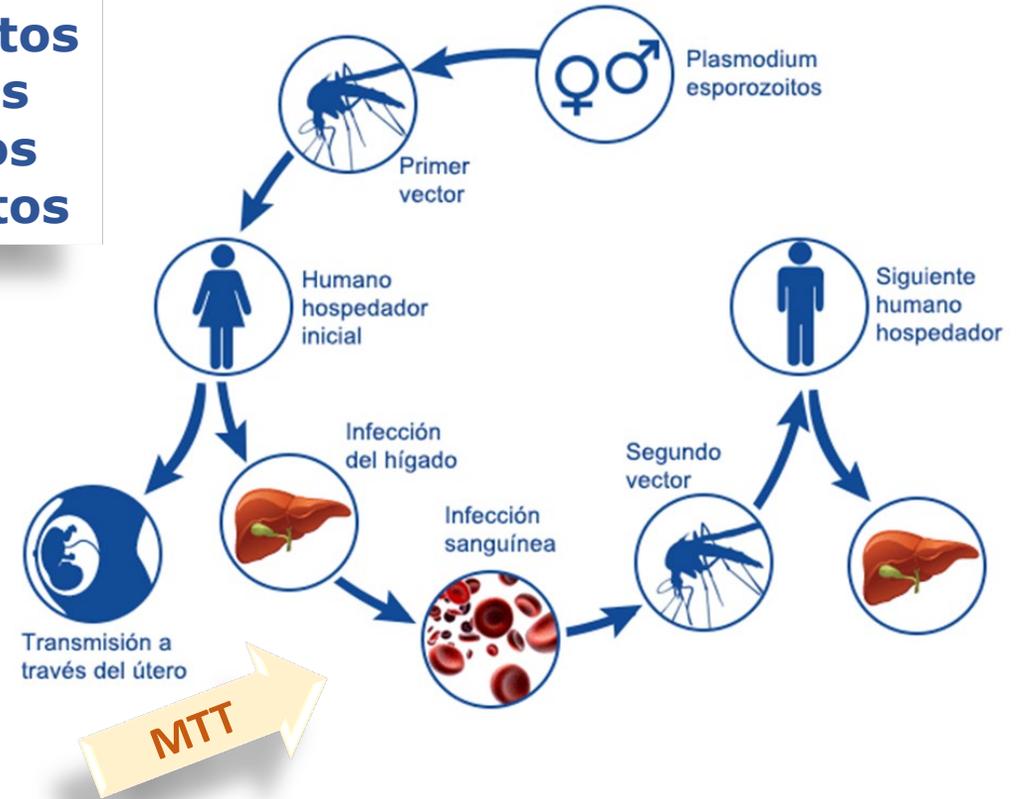
(*): Descrito inicialmente em 1911 por Woolsey

Ciclo de transmisión de la malaria

Esporozoítos
Merozoítos
Trofozoítos
Gametocitos



Ciclo de transmisión de la malaria



Malaria transfusional

Malaria transmitida por transfusão: MTT

- **Asociada a la fase del ciclo eritrocitario**
 - **7 – 40 días después de la infección**
- **Infección primaria del adulto**
 - **Los síntomas impiden la donación**
- **Personas con exposición crónica***
 - **Inmunidad parcial**
 - **Baja parasitemia**
 - **Ausencia de síntomas clínicos**

(*): Semi-immune donors

Riesgo de transmisión de malaria a través de transfusiones (MTT)

Sangre completa o concentrados de glóbulos rojos

Presencia de los parásitos en los eritrocitos

Las plaquetas y los leucocitos e incluso el plasma fresco no congelado

Contaminación con eritrocitos residuales

Con el plasma congelado, no se ha reportado ningún caso de TTM

Persistencia de los parásitos de malaria en el cuerpo humano

Los parásitos pueden seguir presentes en la sangre años después de la exposición y transmitir una infección al receptor

p.vivax y *p.ovale*.....>3 años
p.falciparum.....1 – 2 años

Infecciones recurrentes en residentes por largos periodos en áreas endémicas (estado semi inmune)*

MTT después que el donante abandono el área endémica

p.falciparum.....13 años
p.vivax.....27 años
p.malariae..... >50 años

(*): Parasitemia crónica assintomática de bajo grado

Gravedad de la Malaria transmitida por transfusión (MTT)

La MTT puede provocar casos graves con mayor frecuencia que la malaria transmitida por el vector.

En la infección transmitida por el vector, los parásitos pasan por la etapa pre eritrocítica durante la cual se activa la inmunidad innata para proteger al huésped.

En la MTT los parásitos se liberan directamente en el torrente sanguíneo, sin el ciclo hepático.

La MTT puede ser mortal, en particular en un receptor no inmune y si no se reconoce y se trata con prontitud.

Consideraciones sobre la cantidad mínima de parásitos necesaria para una MTT

MTT debido a concentrados de plaquetas en Canadá sugieren que incluso un pequeño número de eritrocitos infectados es suficiente para la transmisión de malaria al receptor.

Con respecto al *P. vivax*, se demostró que una infusión de diez parásitos era suficiente para la transmisión de la infección.

En ese sentido, se ha teorizado que una dosis infecciosa mínima de 10 o menos parásitos en una unidad de sangre donada podría conducir a una MTT.

Suponiendo una parasitemia baja en el donante de 1-2 parásitos por μL de sangre, una donación de 450 mL de glóbulos rojos resultaría en la transfusión de alrededor de 450.000–900.000 parásitos.

JAMA. 1971; 217(12): 1701–2.

Am J Med. 1943; 204: 141–6.

CMAJ. 2001; 164(3): 377–9.

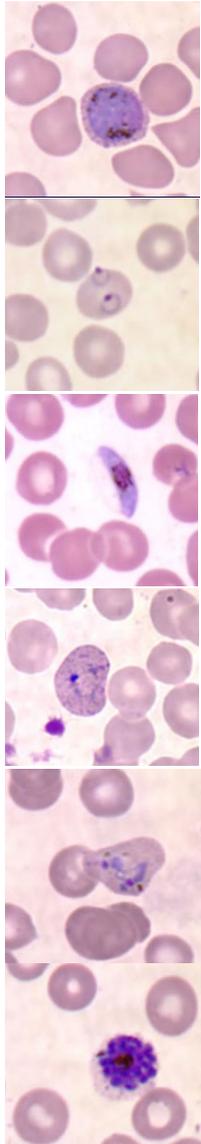
The Am J Trop Med. 1943; s1-23(2): 209 25.

21 Boyd MF. Malariology. Saunders; 1949.

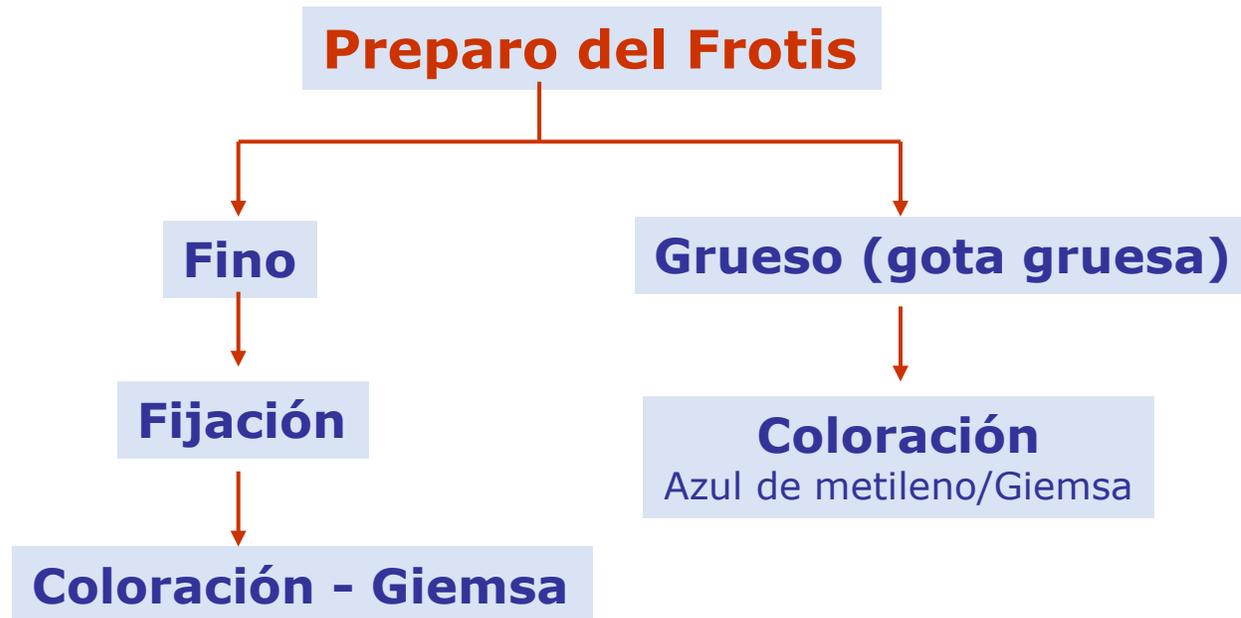
Transfuses Med Rev. 2005; 19(3): 229–40.

Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de malaria

- Examen microscópico (identificación directa de los parásitos).
- Pruebas Rápidas para identificación de antígenos.
- Pruebas moleculares para identificación del ARN/ADN de los plasmodios.
- Pruebas para la detección de anticuerpos.



Examen Microscópico



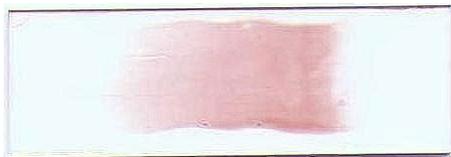
Examen de 100 campos
Semicuantitativo en cruces

- + = 1 parásito / campo
- ++ = 2-20 parásitos / campo
- +++ = 21-200 parásitos / campo
- ++++ = más de 200 parásitos / campo

Técnicas de identificación directa de los parásitos

ES LA BASE PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA AGUDA

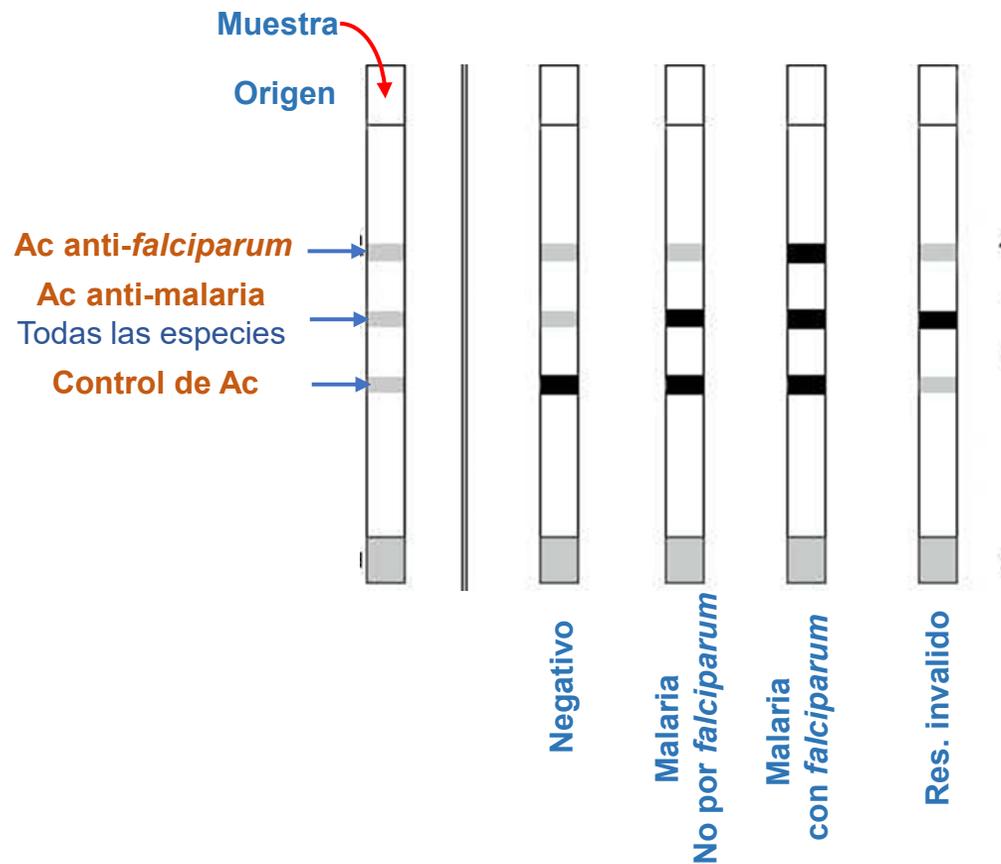
- ✓ **Frotis sanguíneo con coloración de Giemsa**
 - ✓ Microscopista con bastante experiencia
 - ✓ **5 – 50 parásitos / μL**
 - ✓ En situaciones de rutina (Tamizaje)
 - ✓ **>200 parásitos / μL**
 - ✓ No es suficientemente sensible para el tamizaje en bancos de sangre.



Pruebas Rápidas (PDR) p/ identificación de Ag

- ✓ Captura de antígenos de plasmodios en muestras de sangre periférica por Inmuno cromatografía
- ✓ Las PDR para la detección del *P. falciparum* se dirigen a un antígeno llamado proteína 2 rica en histidina (**HRP2**), así como de cierta reactividad cruzada con **HRP3**, una proteína del parásito estructuralmente similar.
- ✓ Detección de HRP2 sola o en combinación con otros antígenos:
 - lactato deshidrogenasa (**pLDH**)
 - aldolasa (**ALD**)

Prueba diagnóstica rápida (PDR)



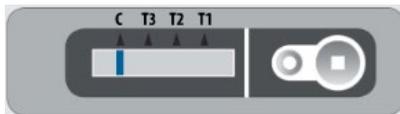
Inmunocromatografia

Pruebas moleculares para identificación del ADN de los plasmodios

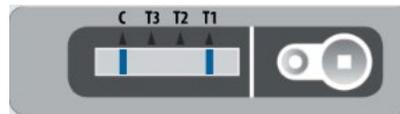
PR SD-BIOLINE MALARIA AG Pf/Pf/Pv
HRP-II / pLDH *P.falciparum* y pLDH *P.vivax*

C (control), T3 (*P.vivax*), T2 (*P.falciparum*), T1 (*P.falciparum*)

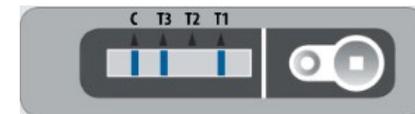
(Negativo)



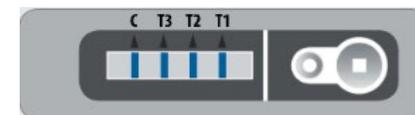
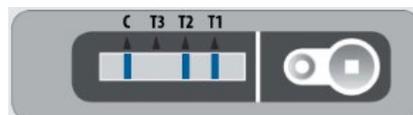
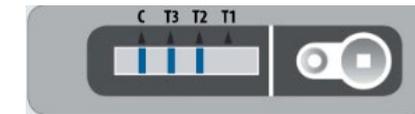
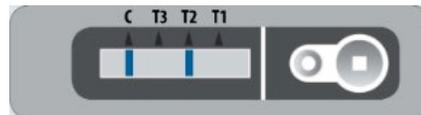
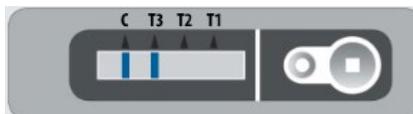
(*P.falciparum*)



(*P.vivax*) + (*P.falciparum*)



(*P.vivax*)



Sensibilidad: (*P.falciparum*) HRP II 100%; (*P.falciparum*) pLDH 99,7%; (*P.vivax*) 98,2%;
Especificidad: 99,3%

MS / GT-Malária/CGZV

Medida del desempeño de tres PR (Bioline; NxTek y Biocredit)

Diagnostic Measure	N	Microscopy [95CI] (n/N)	Bioline HRP2 [95CI] (n/N)	NxTek HRP2 [95CI] (n/N)	Biocredit HRP2 [95CI] (n/N)	Biocredit LDH [95CI] (n/N)	Biocredit HRP2/LDH [95CI] (n/N)
Sensitivity (all densities)	205	28.3% [22.2, 34.9] (58/205)	39.5% [32.8,46.6] (81/205)	49.3% [42.2, 56.3] (101/205)	50.7% [43.7, 57.8] (104/205)	37.1% [30.5, 44.1] (76/205)	52.2% [45.1, 59.2] (107/205)
Only samples with > 2000 parasites/ μ L	37	70.3% [53.0, 84.1] (26/37)	94.6 [81.8, 99.3] (35/37)	100 [94.3, 100] (37/37)	94.6 [81.8, 99.3] (35/37)	94.6 [81.8, 99.3] (35/37)	94.6 [81.8, 99.3] (35/37)
Only samples with > 200 parasites/ μ L	63	76.2 [63.8, 86.0] (48/63)	88.9 [78.4, 95.4] (56/63)	95.2 [86.7, 99.0] (60/63)	92.1 [82.4, 97.4] (58/63)	90.5 [80.4, 96.4] (57/63)	92.1 [82.4, 97.4] (58/63)
Only samples with > 20 parasites/ μ L	89	62.9% [52.0, 72.9] (56/89)	78.7 [68.7, 86.6] (70/89)	88.8 [80.3, 94.5] (79/89)	88.8 [80.3, 94.5] (79/89)	74.2 [63.8, 82.9] (66/89)	88.8 [80.3, 94.5] (79/89)
Specificity	244	98.8% [96.5, 99.8] (241/244)	98.8% [96.5, 99.8] (241/244)	97.1% [94.2, 98.8] (237/244)	97.1% [94.2, 98.8] (237/244)	98.8% [96.5, 99.8] (241/244)	96.3% [93.1, 98.3] (235/244)
Positive Predictive Value	333	94.9% [85.7, 98.3]	95.9% [88.3, 98.6]	91.9% [84.4, 95.9]	91.9% [84.4, 95.9]	95.7% [87.8, 98.6]	89.8% [82.2, 94.4]
Negative Predictive Value	333	87.9% [84.8, 90.3]	92.7% [89.5, 94.9]	95.9% [92.9, 97.7]	95.9% [92.9, 97.7]	91.3% [88.1, 93.7]	95.9% [92.9, 97.7]
Accuracy (AUC)	449	0.892[0.85, 0.92]	0.887 [0.84, 0.93]	0.929 [0.89, 0.96]	0.929 [0.89, 0.96]	0.870 [0.82, 0.92]	0.931 [0.90, 0.96]
95% LOD (parasites/ μ L)	205	4393 [2129, 9064]	331 [148, 739]	84 [40, 177]	85 [43, 171]	349 [142, 858]	56 [28, 118]

Kayode, T.A., Addo, A.K., Addison, T.K. *et al.* Comparison of three rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* diagnosis in Ghana. *Malar J* **23**, 265 (2024).
<https://doi.org/10.1186/s12936-024-05073-z>

Medida del desempeño de tres PR (Bioline; NxTek y Biocredit)

PR (RDT)	Fabricante	Comentarios
NxTek Eliminate Malaria Ag Pf. (HRP2)	Abbott	Altamente sensible
Biocredit Malaria Ag Pf. (LDH/HRP2)	Rapigen	Altamente sensible
Bioline Malaria Ag Pf. (HRP2/pLDH)	Abbott	Diagnóstico convencional

Excluyendo las infecciones de densidad muy baja a <20 parásitos/ μ L, las sensibilidades de las pruebas rápidas de diagnóstico NxTek y Biocredit fueron idénticas en un 89%, en comparación con el 79% de SD Bioline. Si bien esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p = 0,09$), indica una mayor sensibilidad de NxTek y Biocredit.

Kayode, T.A., Addo, A.K., Addison, T.K. *et al.* Comparison of three rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* diagnosis in Ghana. *Malar J* **23**, 265 (2024).

Deleciones en los genes de las proteínas 2 y 3 ricas en histidina de *P. falciparum*

En 2010 un estudio patrocinado por la OMS descubrió algunos parásitos de *P. falciparum* en Perú que carecían del gen *pfhrp2*.

Sin este gen, el parásito no puede producir HRP2 y no puede ser detectado por las PDR basadas en HRP2. Este fue el primer informe que confirmó la ausencia del gen *pfhrp2* entre los parásitos de *P. falciparum* en un entorno clínico.

A partir de 2021, la base de datos de la OMS incluye datos de deleción del gen *pfhrp2/3* para 40 países en cinco regiones de la OMS.

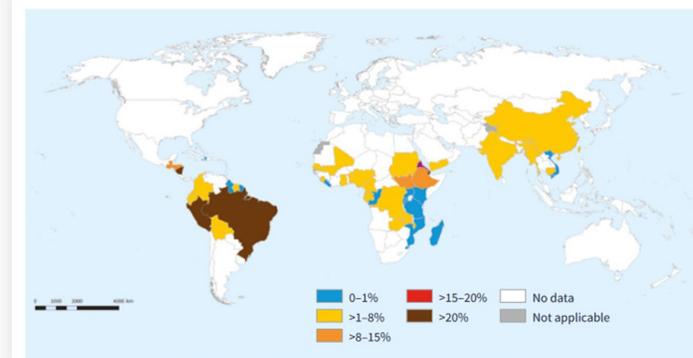


<https://apps.who.int/malaria/maps/threats/#/stories?theme=diagnosis>

Deleciones en los genes de las proteínas 2 y 3 ricas en histidina de *P. falciparum*

- PDR para detectar la malaria por *P. falciparum* se dirigen al antígeno de la proteína 2 rica en histidina (HRP2).
- Parásitos de *P. falciparum* que no expresan HRP2 pueden escapar de la detección.
- En altas densidades de parásitos, la proteína 3 rica en histidina (HRP3), un homólogo de HRP2 puede reaccionar de forma cruzada con los anticuerpos monoclonales que detectan HRP2.
- Los parásitos de *P. falciparum* que no expresan ni HRP2 ni HRP3 evadirán por completo por las PDR.
- Deleciones de Pfhrp2/3 deben ser informadas por los países.
- Caso el umbral de deleciones supere el 5% con RFN se requiere un cambio de la PDR.
- Actualmente no hay pruebas combinadas no HRP2, precalificadas por la OMS, que puedan detectar y distinguir entre *P. falciparum* y *P. vivax*.

Estimated prevalence of Pfhrp2 gene deletions, 2022 Source: Review of published literature included in the Malaria Threats Map (52).



Comentarios sobre las PDR para detectar Ag de malaria

De acuerdo con las directrices de la OMS se recomienda la genotipificación de las delecciones de HRP2/3, en las muestras que dieron positivo para pLDH pero negativo para HRP2.

La PDR Biocredit, con su objetivo pLDH, puede ser una alternativa adecuada a la PDR Bioline en regiones donde prevalece la delección de HRP2

Pruebas para identificación de anticuerpos (Ac)

- **Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)**
 - Considerado el “gold standard”
 - Pruebas con Ag de P.vivax y P.falciparum
 - No se detectan en los primeros días de la infección
 - Pueden persistir durante muchos años
- **ELISA con Ag nativos o recombinantes**
 - Una alternativa para el uso de la IFI, por tener mejor sensibilidad.

**Multicentric evaluation of the DiaMed enzyme-linked immunosorbent Assay malaria antibody test for screening of blood donors for malaria
Elghouzzi MH et al. Vox Sanguinis (2008)94,33-40**

Participación de 9 bancos de sangre en Francia

4.163 muestras de donantes sanos

10.995 muestras de donantes con riesgo para malaria

Estudio comparando el desempeño de una prueba ELISA
y una prueba de IFI

Especificidad del test ELISA: 99,02%

Concordancia entre ELISA y IFI: 97%

Pruebas serológicas para identificación de anticuerpos

- Las pruebas serológicas para detección de anticuerpos contra Ag de parásitos de la malaria, **no se indican para el diagnóstico.**
 - No permiten diferenciar entre infección reciente o anterior
 - Pueden ser útiles en estudios de vigilancia epidemiológica
 - Evaluar cambios en la transmisión a lo largo del tiempo
 - Identificación de puntos críticos y focos de transmisión
 - Requieren armonización de resultados de las pruebas

Pruebas moleculares para el diagnóstico de malaria

- **Pruebas para detección y amplificación del ARN/ADN de plasmodios**
 - Pruebas de alta sensibilidad
 - Uso en el tamizaje de donantes de sangre para mitigar el riesgo de MTT.

Morassin B et al. Am J Trop Med Hyg 2002;66:503-8

Castillo CM & Ramirez C. Biomédica 2005; 25(2)

A. D. Kitchen & P. L. Chiodini *Vox Sanguinis*(2006) 90, 77–84

Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos

Pruebas moleculares para malaria

PCR convencional

PCR anidada

qPCR (em tempo real)

LAMP

Pruebas que amplifican genes dianas:

18SrARN

p.Vivax
Pvr64

p.Falciparum
TARE-2

ADNmt

P. falciparum/p.Vivax
ADNmt
cox III y cox I

Diana molecular: Región conservada del gen 18SrARN
Secuencias únicas que permiten la identificación de las cinco especies (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*) y, por lo tanto, es un objetivo común para su amplificación.

Pruebas dirigidas a los genes para el ARN 18S, que están presentes en 5-8 copias por genoma

- **Un estudio del Reino Unido detectó ADN de Plasmodios en 14 donantes no reactivos a las PDR de antígeno***
- **Una PCR de investigación para el gen 18SrARNr detectó ADN de Plasmodios en muestras de 19/101 (18,81%) adultos asintomáticos en Ghana que dieron negativo en la prueba de microscopía****
- **Un prototipo de prueba automatizada (NAT multiplex), que utiliza el gen diana 18SrARN*****
 - *En un estudio piloto de 4.745 donaciones de sangre, se identificaron tres donantes infectados con *P. vivax* con concentraciones de parasitemia que oscilaban entre 13 y 1.410 copias/ μ L.*
 - *Concluyeron que el sistema podría conducir a una mejora en la seguridad de las donaciones de sangre en países endémicos.*

(*): Kitchen AD, Chiodini PL, Tossell J. *Vox Sang.* 2014;107((2)):123-31.

(**): Mahajan B, et al. *Transfusion.* 2012;52((9)):1949-56.

(***): Rocha D, et al. *Malar J.* 2020;19((1)):275.

Pruebas LAMP

Pruebas	Positividad
Alethia® Malaria * LAMP	1,4% (15/1054)
Malachite Green (MG) LAMP	2,8% (5/180)
qPCR	5,3% (56/1054)
Gota gruesa	0,2% (2/1054)

Ferraz, Mariana Aschar. Avaliação dos protocolos moleculares LAMP Alethia® Malaria e Malachite Green para detecção de infecções assintomáticas e sua aplicabilidade em práticas de hemoterapia e de transplantes de órgãos ou tecidos [tese]. São Paulo: , Faculdade de Medicina; 2022 [citado 2024-10-08]. doi:10.11606/T.5.2022.tde-19042023-162057.

Pruebas	LoDs (límite de detección)
Alethia® Malaria LAMP	2,0 p/μL (<i>p.falciparum</i>) 0,125 p/μL (<i>p.vivax</i>)
Malachite Green (MG) LAMP	4,0 p/μL (<i>p.falciparum</i> ; <i>p.vivax</i> ; <i>p.ovale</i>) 8,0 p/μL (<i>p.malariae</i>)
qPCR	1,0 parásito/μL

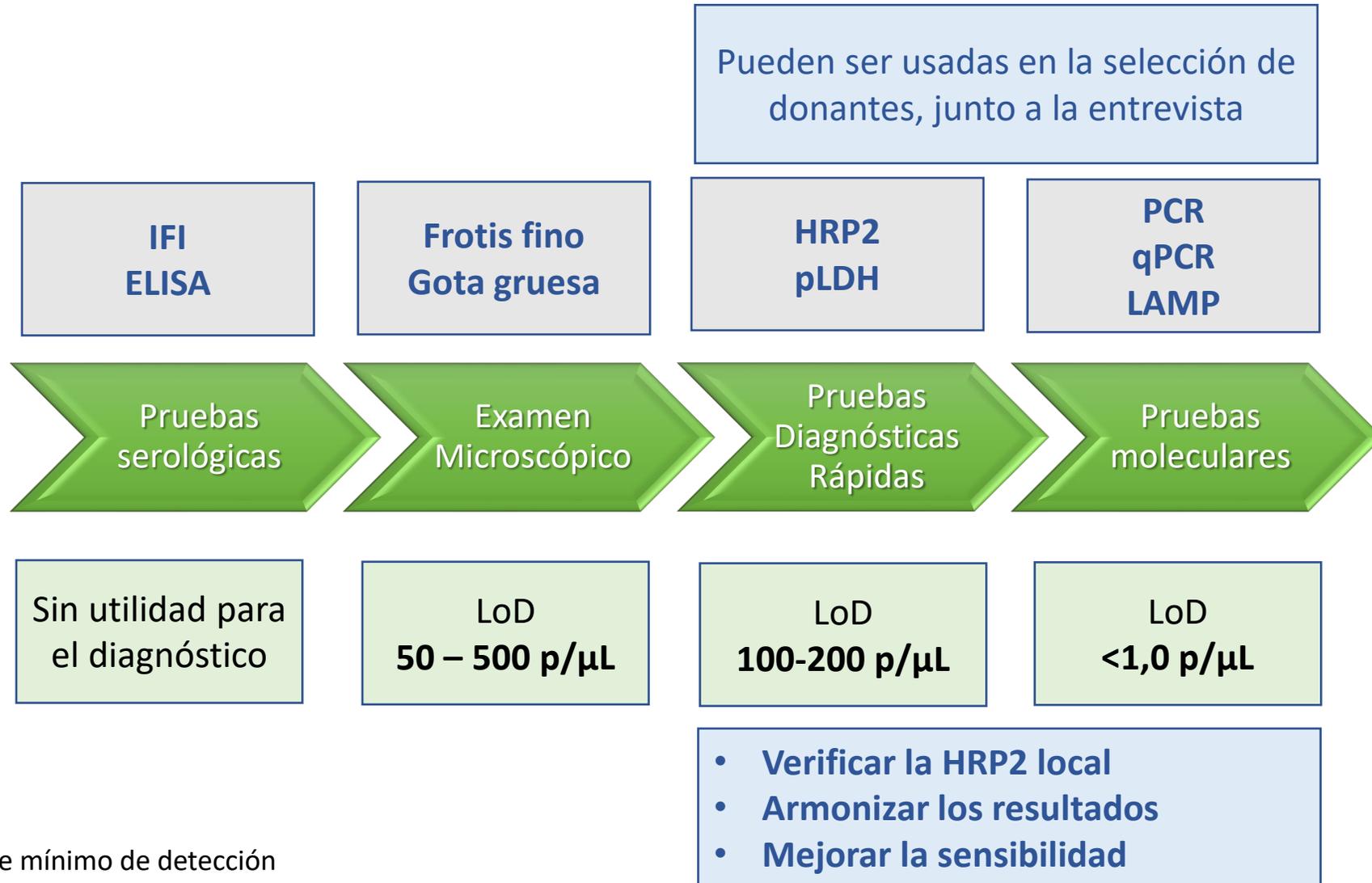
Lucche NW, et al; Sci Rep. 2016; 9 (6): 36808.

Lucchi NW, et al; PLoS One. 2016;11(3):e0151437.

Lima GF et, al; Mem Inst Oswaldo Cruz, São Paulo. 2011; 106 (6): 691-700

(*): Illumigene Malaria

Estrategias para el diagnóstico de Malaria



LoD: Limite mínimo de detección

Pruebas para el diagnóstico de la infección por malaria

Microscopia

Frotis / Gota gruesa
(tinción p/ Giemsa)

Límite detección
50 parásito / microlitro

**Pruebas de Ag
PDR**

HRP2 (p.falciparum)
pLDH (Otras especies)

Límite detección
≈ 100 parásitos / microlitro

Pruebas moleculares

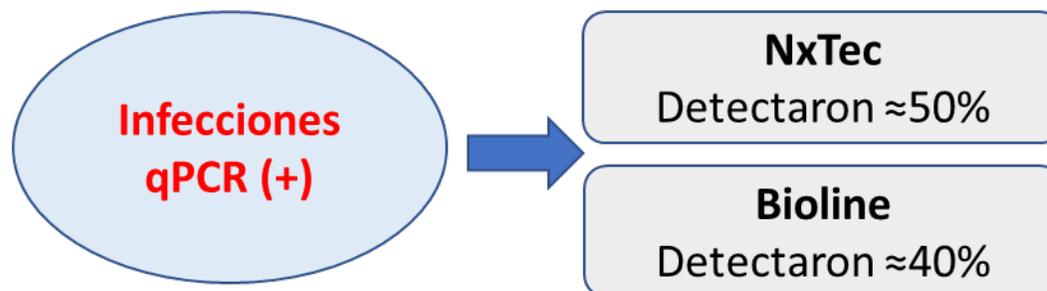
ARN 18S
ARNr 18S

Límite detección
< 1,0 parásito / microlitro

Pruebas para el diagnóstico de la infección por malaria

Estudio en poblaciones asintomáticas encontró que, en promedio, las pruebas rápidas de antígenos detectaron ligeramente más infecciones que la microscopía, pero solo el 41% de las infecciones detectables por PCR.

01



02

(01): Wu L et al; Comparison of diagnostics for the detection of asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections to inform control and elimination strategies; *Nature* 528, S86-S93 December 2015

(02): Kayode, T.A., Addo, A.K., Addison, T.K. *et al.* Comparison of three rapid diagnostic tests for *Plasmodium falciparum* diagnosis in Ghana. *Malar J* 23, 265 (2024).

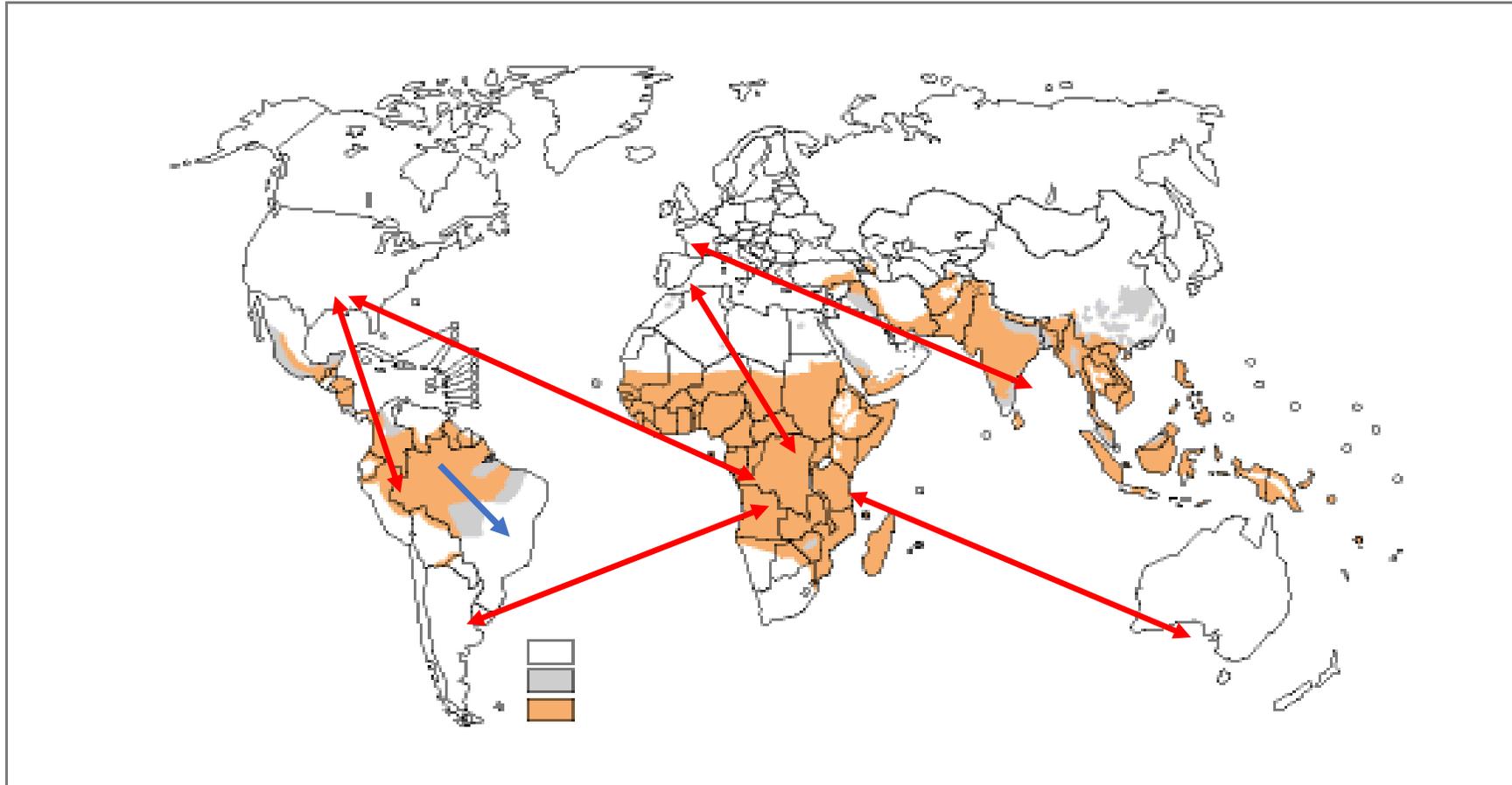
El gran desafío

**COMO SELECCIONAR DONANTES EN
REGIONES ENDÉMICAS Y NO ENDÉMICAS
PARA ELIMINAR EL RIESGO DE TRANSMITIR
MALARIA TRANSFUSIONAL**

La Importancia del diagnóstico de Malaria

- **Saber si la persona, con síntomas, está realmente infectada para tomar las providencias necesarias**
 - **Principalmente en regiones endémicas**
- **Saber si la persona, sin síntomas, está infectada**
 - **Muy importante en el tamizaje de donantes de sangre**

Malaria en el mundo



Above: World malaria situation. Malaria is endemic to tropical and subtropical regions.

Facilidades para viajar crean un flujo intenso de desplazamiento entre Áreas no-endémicas y Áreas endémicas

Selección de donantes en áreas endémicas

- **Examen microscópico.**
 - Por técnicos experimentados (por lo menos en 100 campos)
- **Pruebas Rápidas para Antígenos.**
 - Fáciles de usar incluso em la ausencia de infraestructura.
- **Pruebas moleculares.**
 - Con las mínimas condiciones de infraestructura.

Las Pruebas para detección de Anticuerpos no tienen utilidad en áreas endémicas

Selección de donantes en áreas no-endémicas

- **Estrategias recomendadas a nivel internacional**

A-Combinación de un interrogatorio estandarizado con pruebas por microscopia o PDR para Ag.

B- Combinación de un tamizaje por pruebas serológicas (Inmunoensayos para Ac) y un interrogatorio estandarizado.

C-Combinación de un tamizaje con pruebas moleculares y un interrogatorio estandarizado.

Diferentes tipos de Guías para Interrogatorio

- **Llevan en consideración**
 - **Local de Residencia**
 - **Periodo de residencia en área con malaria**
 - **Periodo desde que salió de un área con malaria**
 - **Histórico de malaria***

(*) o episódio febril de causa no identificada

Normas y directrices de autoridades sanitarias en distintas regiones no endémicas del planeta

Comisión Europea

Antecedentes de malaria:

3 años después del tratamiento y sin síntomas; aceptar si una prueba inmunológica o genómica molecular es negativa.

Vivió en un área palúdica dentro de los primeros 5 años de vida:

3 años después de la última visita si no tiene síntomas; puede reducirse a 4 meses si una prueba inmunológica o genómica molecular es negativa en cada donación.

Visitantes asintomáticos de áreas endémicas:

6 meses después de dejar el área endémica.

Antecedentes de enfermedad febril no diagnosticada durante o dentro de los 6 meses posteriores a una visita a un área endémica

3 años después de la resolución de los síntomas; puede reducirse a 4 meses si una prueba inmunológica o molecular es negativa

[https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/commission-directive-2004/33/ec-22-march-2004-implementing-directive-2002/98/ec-european-parliament-council-regards-certain-technical-requirementsblood-blood-components_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/commission-directive-2004/33/ec-22-march-2004-implementing-directive-2002/98/ec-european-parliament-council-regards-certain-technical-requirements-blood-blood-components_en.pdf)

Normas y directrices de autoridades sanitarias en distintas regiones no endémicas del planeta

U S A

Antecedentes de malaria

Aplazamiento por 3 años, después de los cuales el donante puede ser aceptado si no ha tenido malaria durante este período mientras residió en un país no endémico.

Residencia previa en un país endémico de malaria (estadía continua de 5 años o más)

Aplazamiento por 3 años, después de los cuales el donante puede ser aceptado a menos que haya viajado de regreso a un área endémica de malaria.

Viaje a un área endémica de malaria por parte de un residente anterior de un país endémico de malaria

Aplazamiento por 3 años después de una visita a un área endémica de malaria si el donante ha sido residente de países no endémicos por menos de 3 años consecutivos.

Viaje a un área endémica de malaria por parte de residentes de países no endémicos

Aplazamiento por 3 meses después de la última salida de un área endémica de malaria*

U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Revised recommendations to reduce the risk of transfusion-transmitted malaria. Guidance for industry. 2020. Available from: <https://www.fda.gov/media/72243/download>.

(*): Las directrices de la FDA de EE. UU. permiten la recolección de plaquetas o plasma de estos donantes siempre que los componentes sanguíneos se traten con un dispositivo de reducción de patógenos aprobado por la FDA que sea eficaz contra *P. falciparum*.

Normas y directrices de autoridades sanitarias en distintas regiones no endémicas del planeta

CANADA

Antecedentes de malaria

No es elegible para donar sangre completa o plaquetas

Permaneció en un área con riesgo de malaria durante 6 meses o más

Aplazar por 3 años

Permaneció en un área con riesgo de malaria menos de 6 meses

Aplazar por 3 meses

Canadian Blood Services. Travel to a malariarisk country? Canadian Blood Services; 2022. Available from: <https://www.blood.ca/en/blood/am-i-eligible-donate-blood/abcs-eligibility/travel>.

Normas y directrices de autoridades sanitarias en distintas regiones no endémicas del planeta

BRASIL

En zonas endémicas de malaria, se considera no apto donar sangre a:

- Persona que haya padecido malaria en los 12 meses anteriores a la donación;
- Persona con fiebre o sospecha de malaria en los últimos 30 días;
- Persona que se ha desplazado o procede de zona de alto riesgo (IPA $\geq 50,0$ casos/1.000 habitantes) hace menos de 30 días.
- Independientemente de la endemicidad de la zona, si la persona tuvo malaria por *P. malariae*, ya no podrá donar sangre.
- Para otras especies, depende del tiempo entre la enfermedad y la donación.

Normas y directrices de autoridades sanitarias en distintas regiones no endémicas del planeta

BRASIL

En zonas No endémicas de malaria, se considera no apto a donar sangre:

- Viajo o llego desde locales localizados en zonas endémicas:
 - De 30 días a 12 meses después del retorno, desde que una prueba para detección de plasmocitos (microscopia) o PDR para detección de Antígenos sea negativa el día de la donación.

Consideraciones sobre algunos trabajos seleccionados sobre MTT

Alho *et al.* *Malar J* (2017) 16:78

Verra, F., Angheben, A., Martello, E. *et al.* A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. *Malar J* **17**, 36 (2018).

Okalla Ebongue *et al.* *Translational Medicine Communications* (2017) 2:4

Estudio de 63 publicaciones sobre MTT de siete países, de las Américas, desde 1971 hasta 2016

Casos de MTT (1971-2016)	
Total de casos de MTT	422
Mujeres	62,0%
Edades > 61 años	39,5%
México (214)	50,7%
Brasil (28)	6,6%
EE.UU (170)	40,3%
Canadá (4); Venezuela (3); Perú (2); Colombia (1)	2,4%
Glóbulos rojos concentrados (RBC)	50,7%
Sangre completa	43,3%
<i>P.malariae</i>	58,4%
<i>P.vivax</i>	20,7%
<i>P.falciparum</i>	17,9%

- ✓ 66,6% fueron diagnosticados por microscopía.
- ✓ El período de incubación de 2 a 3 semanas (28,6%).
- ✓ Se observó letalidad en el 5,3% de los casos
 - ✓ asociada con vivir en países no endémicos
 - ✓ infección por *P. falciparum*
 - ✓ enfermedades neoplásicas concomitantes.

Conclusiones:

No hay ningún método de detección que sea práctico, asequible y adecuadamente sensible disponible en los bancos de sangre de los países latinoamericanos, donde las infecciones con baja parasitemia contribuyen en gran medida a la transmisión.

Alho et al. *Malar J* (2017) 16:78

Periodos de incubación de la MTT

Species	TTM (95% CI)	MTM (95% CI) ^a	p value ^b
<i>P. falciparum</i>	25.7 (7.4–43.9)	13.1 (7–27)	0.172
<i>P. malariae</i>	63.9 (43.5–84.4)	34.8 (27–37)	0.006
<i>P. ovale</i>	19.0 (11.7–26.3)	13.6 (8–31)	0.118
<i>P. vivax</i>	29.3 (12.3–46.2)	13.4 (11–16)	0.060
<i>P. knowlesi</i> ^c	15.5 (9.1–21.9)	10.0 (/)	0.058

TTM: Malaria transmitida por transfusión

MTM: Malaria transmitida por mosquitos

Verra, F., Angheben, A., Martello, E. *et al.* A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. *Malar J* 17, 36 (2018).

Especies de plasmodios responsables por la MTT

Especies de plasmodios responsables por MTT (N=100)		
<i>P.falciparum</i>	45%	11 casos fatales
<i>P.malariae</i>	30%	02 casos fatales
<i>P.vivax</i>	16%	
<i>P.ovale</i>	4%	01 caso fatal
<i>P.knowlesi</i>	2%	
<i>P.falciparum+P.malariae</i>	1%	

Verra, F., Angheben, A., Martello, E. *et al.* A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. *Malar J* **17**, 36 (2018).

Residual risk of transfusion-transmitted malaria infection in a malaria endemic sub-Saharan African setting

Okalla Ebongue et al. Translational Medicine Communications (2017) 2:4

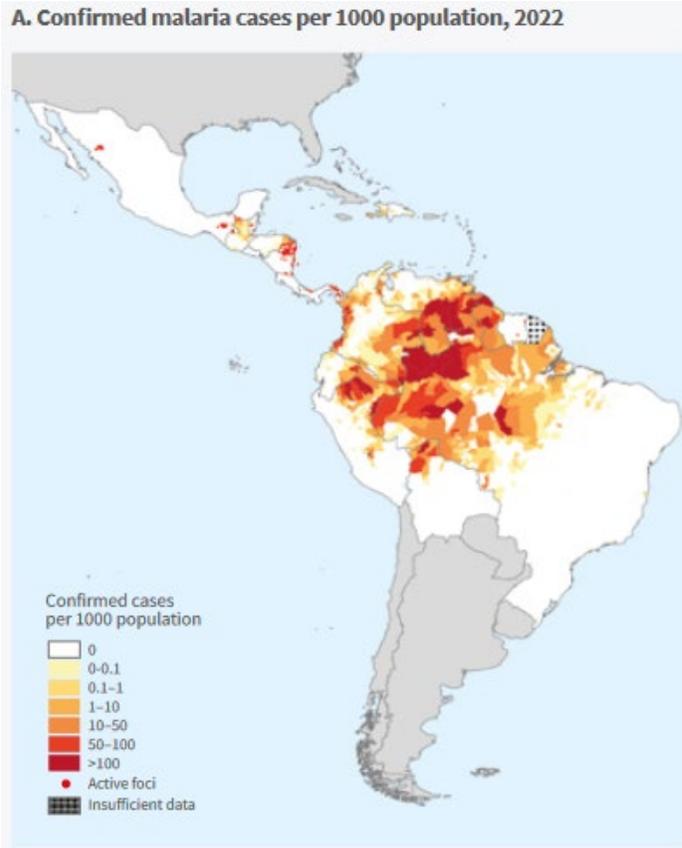
Resultados obtenidos em Camerún	
Total de donantes	250
Tipos de pruebas para detectar la presencia de plasmodios	PDR Microscopia (frotis y gota gruesa)
Donantes del sexo masculino	96,8%
Edad media de los donantes	28,5 años
Donantes de reemplazo familiar infectados	97,2%
Prevalencia de la infección por <i>P.falciparum</i>	12,0%
Densidad parasitaria media poblacional	6.056 parásitos / μ L
El riesgo residual medio individual de MTT	5,59 / 10.000 2,64 / 1.000 Unidades de sangre

Altas necesidades de transfusión de sangre en las regiones de África subsahariana

La detección de malaria no se realiza rutinariamente en estas áreas

En Camerún, al igual que en muchos países endémicos de malaria en África, los donantes de sangre no son sometidos a pruebas rutinarias para detectar la infección por *Plasmodios*, que podría potencialmente provocar malaria grave en algunos receptores.

Casos de malária confirmados



En Brasil la mayoría de los casos de malaria ocurren en la región amazónica

Los otros casos ocurren en la Región extra-amazónica y pueden ser importados o autóctonos

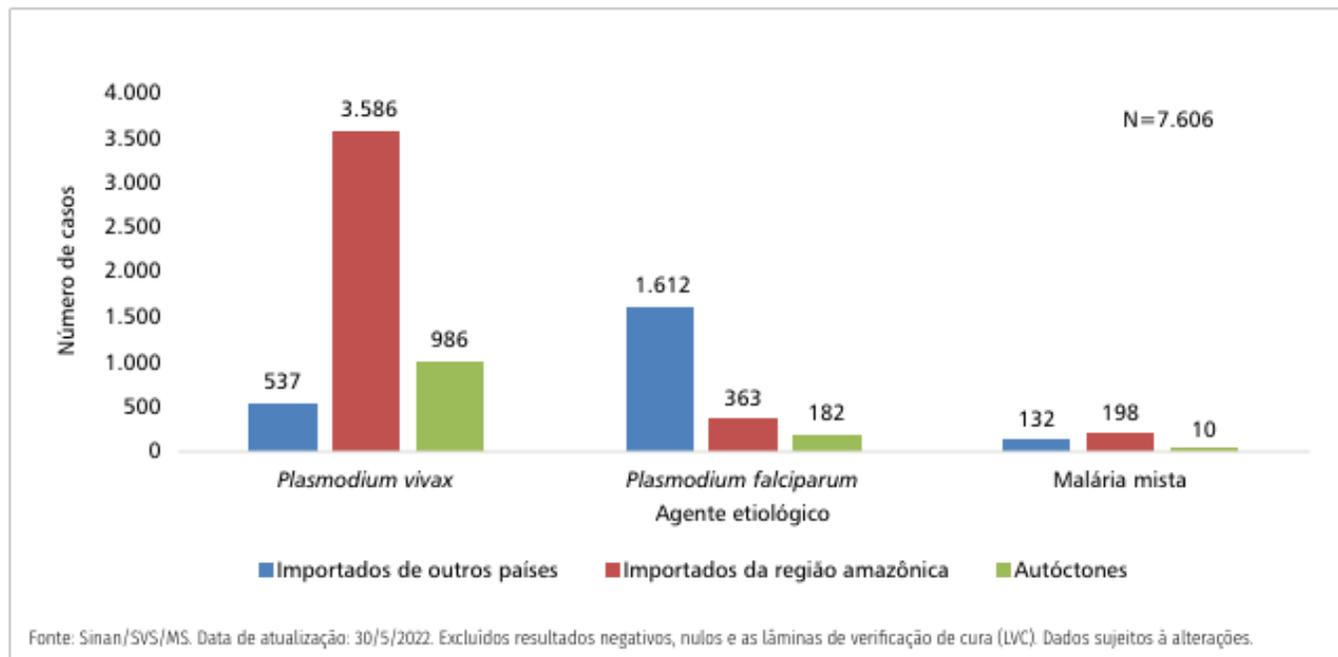
Casos de malária notificados em la Región extra-amazónica (2010 – 2021)

TABELA 2 Análise descritiva dos casos positivos de malária notificados na região extra-amazônica do Brasil de acordo com a origem da infecção no período de 2010 a 2021

Provável local de infecção	n.º	%
Casos importados da região amazônica	4.161	50,0
Casos importados de outros países	2.337	28,1
Casos autóctones da região extra-amazônica	1.187	14,3
Indeterminado ou ignorado	632	7,6
Total	8.317	100,0

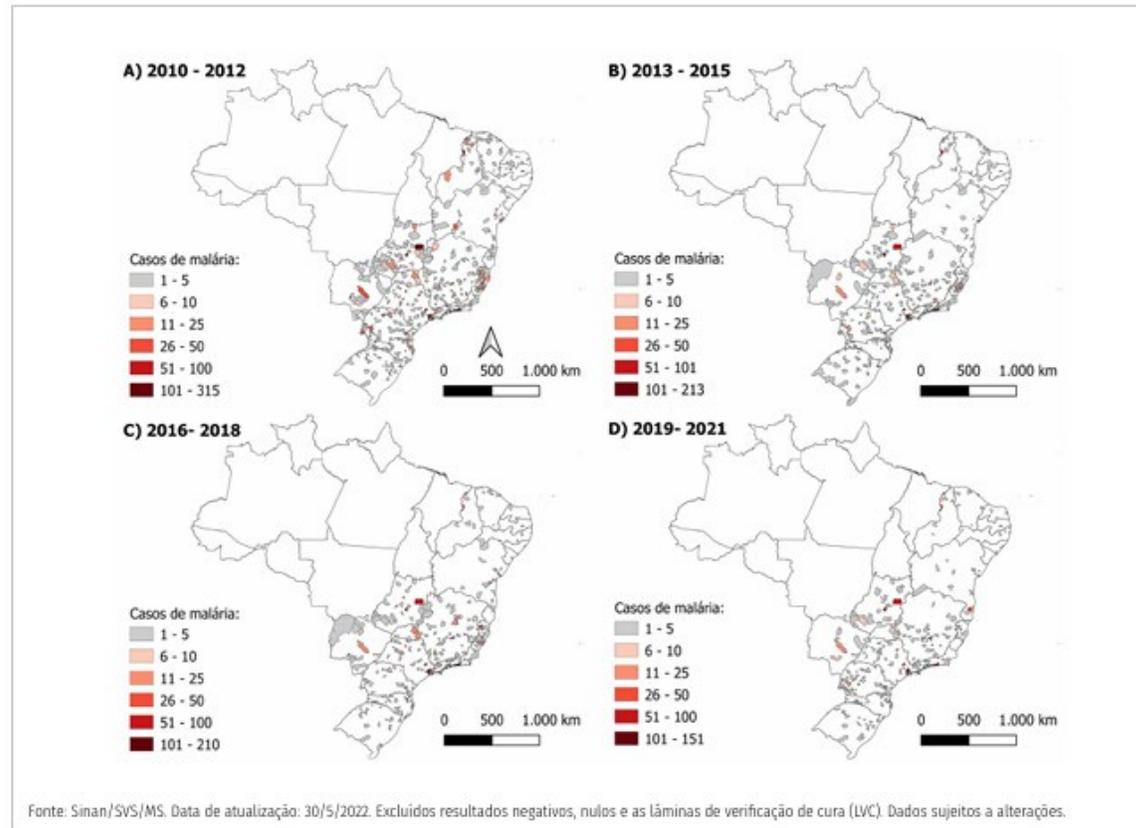
Fonte: Sinan/SVS/MS. Data de atualização: 30/5/2022. Excluídos resultados negativos, nulos e as lâminas de verificação de cura (LVC). Dados sujeitos a alterações.

Casos de malaria por *P.falciparum* y *P.vivax* en la Región extra-amazónica (2010-2021)

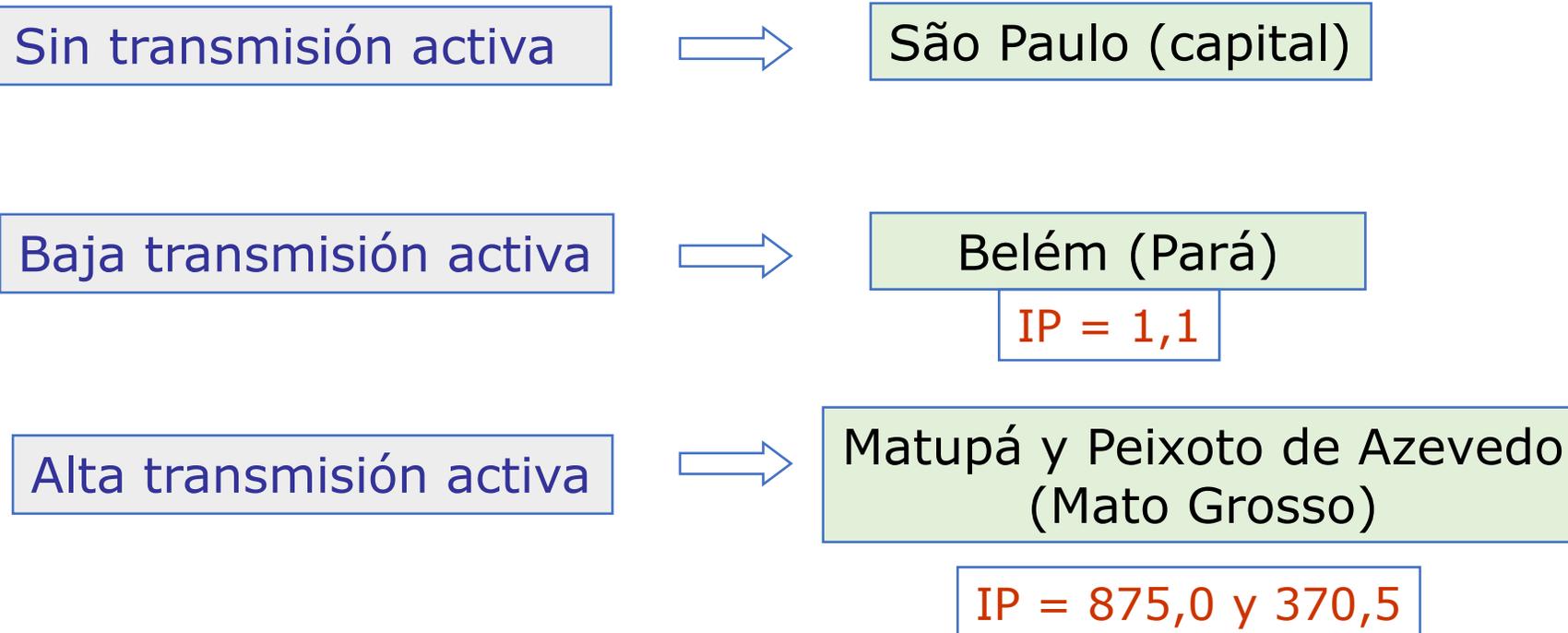


De acuerdo con el origen probable de la infección (importados)
a) Importados de otros países; b) importados de la Región amazónica; c) autóctonos

Distribuição de los casos de malária en la Región extra-amazônica, notificados en el período de: 2010 – 2021. (N=8317)



Control de malaria transfusional en regiones endémicas y no endémicas de Brasil



IP: Índice parasitario anual/mil habitantes

Sáez-Alquezar A, et al. Rev Soc Bras Med Trop 1998;31(1):27-34

Control de malaria transfusional en regiones endémicas y no endémicas de Brasil

TAMIZAJE CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO

São Paulo (capital) N = 1.200

Malaria anterior: exclusión definitiva

Dislocamiento para área de transmisión activa sin uso de profilaxis medicamentosa: exclusión por 6 meses; con: exclusión por 3 años

Ex residentes: áreas c/ transmisión activa: exclusión por 3 años

Aptos: 1.164
Inaptos: 36 (3%)

Belém (Pará) N = 250

Exclusión:

Fiebre en los últimos 30 días

Dislocamiento p/ áreas c/ transmisión (últimos 6 meses)

Malaria en los últimos 12 meses

Aptos: 238
Inaptos: 12 (4,8%)

Matupá y Peixoto de Azevedo

(Mato Grosso) N = 31

El único criterio de exclusión: fiebre en los últimos 30 días

Aptos: 31 (100%)

Sáez-Alquezar A, et al. Rev Soc Bras Med Trop 1998;31(1):27-34

Adopción de las pruebas NAT en el tamizaje de donantes de sangre

En Brasil pasaron a ser obligatorios:

Para HIV y HCV en 2013

Para HBV en 2016

El kit NAT HIV/HCV/HBV multiplex Bio-Manguinhos se está utilizando actualmente en los 14 centros públicos de sangre brasileños, y cubre todas las donaciones de sangre del país.

Modificación del kit NAT HIV/HCV/HBV multiplex Bio-Manguinhos

Un nuevo kit, **NAT PLUS HIV/HBV/HCV/ Malaria** Bio-Manguinhos, fue autorizado por la Agencia Brasileña de Regulación Sanitaria (ANVISA) en marzo de 2022 para la detección de donantes de sangre en los bancos de sangre públicos de Brasil

- **Objetivo: Detectar Plasmodium spp. a partir de ácidos nucleicos presentes en el plasma en “pool” de seis muestras**
 - **La inclusión de la detección de malaria en la actual plataforma brasileña NAT PLUS es fundamental para prevenir la MTT.**
- **Además, el kit NAT PLUS también fue aprobado para analizar muestras de donantes de órganos.**

El nuevo kit, **NAT PLUS HIV/HBV/HCV/ Malaria** Bio-Manguinhos



Plataforma automatizada permite analizar, al mismo tiempo, hasta 552 bolsas de sangre por rutina.

Consiste en dos equipamientos que actúan en etapas consecutivas:

- preparo de las muestras (pool de 6)
- extracción
- amplificación/detección del ácido nucleico por PCR en tiempo real

Objetivo: analizar hasta 3,5 millones de bolsas de sangre por año, cubriendo integralmente la hemo red pública brasileña.

Plataforma: NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos kit.

CONSIDERACIONES

- **La prueba NAT para detectar malaria no es obligatoria.**
- **Tal como lo determina la legislación vigente es obligatorio realizar una prueba para detectar plasmodios o antígenos plasmodiales en **regiones endémicas de malaria, con transmisión activa**, independientemente de la incidencia parasitaria. **En regiones no endémicas**, los criterios de no idoneidad de los candidatos para la donación dependen de la exposición a regiones endémicas**
- **La realización de la prueba NAT de malaria permitirá reducir el período de incapacidad en **regiones no endémicas de 12 (doce) meses a 30 (treinta) días.****

Ministério da Saúde Secretaria de Atenção Especializada à Saúde Departamento de Atenção Especializada e
Temática Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados
NOTA TÉCNICA Nº 49/2023-CGSH/DAET/SAES/MS

Plataforma: NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos kit.

CONSIDERACIONES

- El proceso de pruebas de laboratorio debe ser el mismo que se utiliza para las pruebas NAT de VIH, VHB y VHC ya realizadas en la rutina de tamizaje por ITT, en las que las muestras obtenidas en la donación se analizan en mini pools y, si **ES POSITIVO**, se prueba individualmente para identificar la muestra **POSITIVA**.
- Todos los componentes sanguíneos con resultado positivo **no pueden liberarse para transfusión**.
- Se recomienda **cambiar las etiquetas finales de identificación** de los componentes sanguíneos con la inclusión de información sobre resultados negativos de la prueba NAT de malaria.

Ministério da SaúdeSecretaria de Atenção Especializada à SaúdeDepartamento de Atenção Especializada e
TemáticaCoordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados
NOTA TÉCNICA Nº 49/2023-CGSH/DAET/SAES/MS

Plataforma: NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos kit.

La prueba NAT PLUS para detección de material genómico tiene alta sensibilidad, reemplazando cualquier prueba de detección utilizada.

- Al tratarse de una prueba molecular aislada, **no es necesario realizar una prueba confirmatoria o complementaria**
- Se deben realizar esfuerzos, con el objetivo de permitir la introducción del **CCI para la malaria**
-
- Los donantes con resultados (+) para NAT malaria en “pool”, confirmados en muestras individuales tendrán todos los hemo componentes bloqueados y serán llamados para **orientación, derivación para servicio especializado para complementación diagnóstica y tratamiento.**

Ministério da SaúdeSecretaria de Atenção Especializada à SaúdeDepartamento de Atenção Especializada e
TemáticaCoordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados
NOTA TÉCNICA Nº 49/2023-CGSH/DAET/SAES/MS

Plataforma: NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos kit.

- Respecto al **período de incapacidad** tras una infección confirmada y tratada, la legislación vigente determina que el tiempo está **relacionado con la especie de plasmodio** relacionada con el caso clínico.
- También es necesario realizar **retro vigilancia** en los casos de donantes con resultados **POSITIVOS** en la prueba NAT de malaria con donaciones **NEGATIVAS o NO PROBADAS** anteriormente.
- Se deben investigar los receptores de concentrados de **glóbulos rojos (CH)**, **granulocitos (CG)** y **plaquetas (CP)**, no siendo necesario investigar a los receptores de plasma fresco congelado (PFC) o crioprecipitado (CRIO), obtenidos de donaciones realizadas al **MÍNIMO hasta 12 (doce) meses antes de la donación POSITIVA.**

Ministério da SaúdeSecretaria de Atenção Especializada à SaúdeDepartamento de Atenção Especializada e
TemáticaCoordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados
NOTA TÉCNICA Nº 49/2023-CGSH/DAET/SAES/MS

RESULTADOS

Costa E, Rocha D, Lopes JIF, Andrade E, Cardoso P, Ribeiro M, et al. Detection of Plasmodium spp. in asymptomatic blood donors by the new Brazilian NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos kit. Transfusion. 2024;64(3):501–9.

Resultados: Desde la implementación de la plataforma NAT PLUS hasta febrero de 2023, HEMORIO ha recibido y analizado con éxito **200.277** donaciones.

La plataforma detectó **dos donantes asintomáticos** en la ciudad de Río de Janeiro, que es una región no endémica de malaria.

Los análisis sugirieron una malaria de la región amazónica causada por **Plasmodium vivax**, en el primer caso, mientras que se identificó un caso de transmisión autóctona por **Plasmodium malariae** en el área rural del estado de Río de Janeiro.

Discusión: La plataforma NAT PLUS detecta Plasmodium spp. en muestras de plasma con una sensibilidad capaz de detectar infecciones subpatentes. Esta es la primera vez en todo el mundo que un grupo desarrolló e implementó el diagnóstico molecular para Plasmodium spp. para ser utilizado por los centros de sangre públicos para evitar la MTT.

Donantes asintomáticos que respondieron Negativo para Viaje o residencia en áreas endémicas

Aplicación de la prueba NAT para malaria en Brasil – Primeros resultados

RESULTADOS

Fecha de inicio del NAT Malaria	01/Oct/2022
Número de donaciones tamizadas (hasta 07 de agosto de 2023 – 10 meses)	576.913
Origen de las muestras (donaciones)	Rio de Janeiro Espírito Santo
Casos Positivos (N=5)	<i>P.vivax</i> - 02 casos <i>P.malariae</i> - 03 casos
Prevalencia	1/115.382 donaciones

Dr. Luiz Amorim
HEMORIO

Desde diciembre de 2022, cuando el producto comenzó a implementarse en la red de sangre brasileña, se encontraron 12 bolsas de sangre infectadas por el patógeno, 6 de ellas en la Región Norte, 2 en el Nordeste y 4 en el Sudeste (R J, zona considerada no endémica). Como cada bolsa puede llegar hasta a 4 personas, la detección puede haber evitado que 48 receptores de sangre se infectaran.

Ana Cristina Campos – Repórter da Agência Brasil
Publicado em 25/07/2023 - Rio de Janeiro

Prueba COBAS® Malaria

Aprobación de la FDA (2024)

- La prueba cobas® Malaria para uso en los sistemas cobas® 6800/8800 (cobas® Malaria) es una prueba cualitativa de detección de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección directa de ADN y ARN de Plasmodium (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. knowlesi*) en muestras de sangre completa de donantes humanos individuales, incluidos donantes de sangre completa y componentes sanguíneos, así como otros donantes vivos.
- También está destinada a su uso en pruebas de muestras de sangre completa para detectar donantes de órganos y tejidos cuando las muestras se obtienen mientras el corazón del donante aún está latiendo.

Prueba COBAS ® Malaria

Aprobación de la FDA (2024)

- **Las muestras de sangre completa de todos los donantes se analizan como muestras individuales.**
- **La prueba no está destinada a utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la infección por Plasmodio.**
- **Esta prueba no está destinada a utilizarse en muestras de sangre del cordón umbilical.**
- **Esta prueba no está destinada a utilizarse en muestras de sangre de cadáveres.**

Otras formas de prevención de la MTT

- **Inactivación de patógenos**
 - Tratamiento fotoquímico y luz UV
 - UV y riboflavina (sistema Mirasol)
- **Tratamiento antipalúdico**
 - Agregado a las bolsas de sangre
 - Administrados a los receptores
- **Vacunación**
 - Vacuna RTS, S/AS01 (Mosquirix™)
 - Eficacia: 26% - 50% en bebés y niños pequeños.

Laurens MB; Human Vaccines and Immunotherapeutics; 2020.

Allain JP, et al; The Lancet; 2016.

Phiri K et al; The Lancet Infectious Diseases; 2012

Kwambai TK et al; Trials; 2018.

MTT - Consideraciones

A nivel mundial, un gran número de donantes potenciales quedan excluidos de la donación de sangre debido a que viajan a zonas endémicas de malaria.

La microscopia y las pruebas para detectar Antígenos, existentes no son lo suficientemente sensibles para mitigar de manera confiable el riesgo de transfusión de malaria.

MTT - Consideraciones

Las pruebas moleculares para el tamizaje de donantes de sangre, órganos y tejidos, representan la mejor opción, en la actualidad, para reducir el riesgo de MTT.

Mejoran la seguridad y la disponibilidad de la sangre.

MTT - Consideraciones

Se debe establecer una logística a nivel nacional para poder implementar adecuadamente el tamizaje por pruebas moleculares para malaria, de preferencia, junto a las pruebas NAT utilizadas en los bancos de sangre.

Adoptar criterios para los procedimientos de control de calidad interno y externo para las pruebas moleculares de malaria.

**MUCHAS GRACIAS POR SU
ATENCIÓN**

amadeo62@gmail.com