



OPS/DPC/CD/240/03  
Original: Español

Guía práctica para estudios *in vivo*  
de eficacia de los medicamentos antimaláricos  
en las Américas



(RAVREDA-AMI, enero de 2003)

**Tentativa – Draft – Rascunho**

Unidad de Control de Enfermedades Transmisibles  
División de Prevención y Control de Enfermedades, OPS/OMS

## Agradecimientos

La OPS quisiera agradecerle al equipo internacional que preparó esta guía para la Red Amazónica de Vigilancia de las Drogas Antimaláricas/*Amazon Malaria Initiative* (RAVREDA/AMI), integrado por las siguientes personas en los países indicados:

<b>Trenton Ruebush</b>	<b>Center for Disease Control and Prevention (CDC), Estados Unidos</b>
<b>Juan Carlos Ávila Rodolfo Villaroel</b>	<b>Bolivia</b>
<b>César Díaz Efraín Beltrán</b>	<b>Ecuador</b>
<b>Wilmer Marquino César Cabezas Salomón Durand Jorge Zegarra Carola Salas</b>	<b>Perú</b>
<b>Stephen Vreden</b>	<b>Suriname</b>

La guía fue preparada bajo los auspicios de la Red Amazónica para la Vigilancia de las Drogas Antimaláricas (RAVREDA) de la OPS junta con la Iniciativa Amazónica contra la Malaria (IAM, o *Amazon Malaria Initiative/AMI*) de USAID.

## Contenido

Introducción .....	4
Adecuación del protocolo estandarizado .....	5
Número de lugares de estudio .....	5
Selección de sitios para el estudio .....	6
El equipo de investigación.....	8
Coordinación del inicio del estudio.....	9
Preparación de insumos y materiales .....	9
Caja chica .....	10
Formatos y cuadernos de registro .....	10
La instalación del estudio .....	12
El enrolamiento y seguimiento de los pacientes.....	12
Preparación y manejo de las gotas gruesas .....	14
La supervisión.....	15
Cerrando el estudio .....	16
Costo de estudios in vivo .....	17
Preparación de la base de datos.....	17
Anexo I: Lista de materiales e insumos de campo necesarios para un estudio <i>in vivo</i> de 60 pacientes .....	18
Anexo II: Formato para resumir resultados de gota gruesa .....	20

## Introducción

La resistencia del *Plasmodium falciparum* a los medicamentos antimaláricos es un problema que dificulta el control de la malaria en las Américas. En la actualidad el *P. falciparum* es resistente a la cloroquina (CQ) y la sulfadoxina-pirimetamina (SP) en casi toda la región amazónica y a la CQ en la Costa del Pacífico de Sudamérica. Además, en los últimos años, varios investigadores han reportado infecciones de *P. vivax* resistente a la CQ. Por la amenaza para la salud pública que representa la farmacorresistencia, varios ministerios de salud de la región han empezado estudios para conocer mejor la distribución e intensidad de la resistencia de *P. falciparum* y *P. vivax* a los medicamentos antimaláricos en sus territorios. El Perú y Bolivia han terminado sus estudios básicos y han hecho cambios en sus tratamientos de primera línea para infecciones no-complicadas de *P. falciparum*. Actualmente, estos países están estableciendo sistemas de vigilancia para la farmacorresistencia en sitios centinelas.

Aunque los ministerios de salud han usado una variedad de métodos para evaluar la resistencia a los medicamentos antimaláricos, los estudios *in vivo* son considerados como el método de elección para proporcionar los datos necesarios para cambios en la política de tratamiento de la malaria debido a que correlaciona mejor con la respuesta clínica de pacientes a estos medicamentos. La Organización Mundial de Salud (OMS) ha publicado recomendaciones para estos estudios orientadas hacia áreas de alta transmisión, pero más recientemente con modificaciones apropiadas para áreas de baja o moderada transmisión, como las Américas. En Sudamérica, la mayoría de los cambios en la política de medicamentos durante los últimos 3-4 años se realizaron sobre la base de los resultados de estos estudios *in vivo*.

Los estudios *in vivo* no requieren una tecnología sofisticada; sin embargo, no son sencillos de realizar. Requieren de un equipo clínico y de laboratorio con experiencia o bien entrenado que sigue estrechamente al protocolo. Por la baja transmisión de malaria en los países de las Américas, se completa con dificultad el tamaño muestral requerida de pacientes con malaria por *P. falciparum*. Asimismo, en regiones como la Amazonía, donde la población es tan dispersa y móvil, puede ser difícil limitar el número de pacientes que abandonan el seguimiento a no más del 10-15% de los pacientes enrolados.

Aunque la mayoría de los estudios *in vivo* llevados a cabo en los últimos 3-4 años en las Américas han usado protocolos estándares basados en las recomendaciones de la OMS, estas recomendaciones y los protocolos no describen en detalle los pasos necesarios para implementar un estudio ni como evitar algunas de los problemas que se encuentran en el trabajo de campo. Por este motivo, se elaboró esta guía, como un complemento a los protocolos estándares, basándose en las experiencias con estudios de la eficacia de los medicamentos antimaláricos en Sudamérica en los últimos años. Se espera que esta guía, junto con los protocolos genéricos (ver abajo) coayudará a la realización exitosa de los estudios *in vivo* en base a los cuales se implemente el sistema de vigilancia de la farmacorresistencia a los medicamentos antimaláricos en la región.

## Adecuación del protocolo estandarizado

El primer paso para llevar a cabo un estudio *in vivo* es preparar un protocolo aceptable para el(los) comité(s) científico/ético de la institución responsable para el estudio y la entidad que la va a financiar. Para ayudar a los investigadores con la preparación de protocolos específicos para su país o una región dentro del país, se ha preparado 3 protocolos genéricos. Estos protocolos están elaborados sobre la base de las normas de la OMS publicadas en el año 1996 para estudios *in vivo* de medicamentos antimaláricos con modificaciones del año 1998 para áreas de baja transmisión e incluyen las últimas recomendaciones derivadas de una reunión de la OMS llevada a cabo en Ginebra en diciembre del 2001. Los tres protocolos genéricos se pueden encontrar en la página Web de la Organización Panamericana de Salud (OPS), en

<http://www.paho.org/spanish/hcp/hct/mal/malaria.htm> :

1. Cloroquina (CQ) sola, sulfadoxina-pirimetamina (SP) sola, o una comparación de CQ y SP para *P. falciparum*;
2. Mefloquina (MQ) y mefloquina-artesunato (MQ-AS) para *P. falciparum*; y
3. CQ para *P. vivax*.

Para completar estos protocolos, solamente, requiere que el investigador local encargado reemplace o complete las frases y los párrafos resaltados a la realidad de la epidemiología de la malaria y la farmacorresistencia en el país y las características de la región y la localidad donde se realizará el estudio.

Aunque estos protocolos fueron preparados para la evaluación de un medicamento o combinación de medicamentos específicos, se les puede modificar para un estudio de otros medicamentos parecidos. Por ejemplo, el protocolo genérico para la evaluación de CQ o SP se puede modificar para un estudio de amodiaquina o el protocolo para MQ-AS para un estudio de SP-AS. También se puede ajustar el periodo de seguimiento a la epidemiología local. Si se piensa estudiar un medicamento del cual se espera  $\geq 20-25\%$  de fracasos terapéuticos, se puede limitar el estudio a 14 días de seguimiento para ahorrar tiempo y recursos. Al contrario, si se va estudiar un medicamento o combinación de medicamentos del cual se esperan pocos fracasos, se puede extender el seguimiento a 28 días de seguimiento para detectar recrudescencias de parasitemia más tardías y niveles de resistencia más bajos.

## Número de lugares de estudio

El número de diferentes sitios que se escogen para los estudios *in vivo* en un país o una región de un país depende de la epidemiología de la malaria y la información disponible sobre la resistencia en el área, el propósito de los estudios (estudios basales o estudios que forman parte de una red de farmacovigilancia), y los recursos disponibles. Generalmente, la resistencia a los medicamentos antimaláricos no varía mucho dentro de un área geográfica en el cual la epidemiología de la malaria es homogénea. Por ejemplo, no se han encontrado diferencias muy grandes en cuanto a los niveles o patrones de la resistencia a diferentes

medicamentos en la Costa del Pacífico de América del Sur o en la Cuenca Amazónica. También, en general, el nivel de la resistencia a un medicamento o una combinación de medicamentos no cambia muy rápidamente y normalmente lleva 2-3 años antes de que se pueda detectar un cambio significativo en una zona. Entonces, para los estudios básicos en una zona, un máximo de 2 a 3 sitios probablemente serían suficientes para conocer la distribución y intensidad de la resistencia. Para los estudios que forman parte de una red de vigilancia para la farmacoresistencia, asumiendo que existen datos básicos, un sitio por zona (que corresponda a un área geográfica o nicho ecológico común) puede ser suficiente y, generalmente, no será necesario repetir el estudio en este sitio más frecuentemente que cada 2 a 3 años.

## Selección de sitios para el estudio

Uno de los factores críticos para el éxito de un estudio *in vivo* es la selección de la(s) localidad(es) donde se desarrollará(n) el estudio. Los criterios principales para seleccionar un lugar adecuado son:

1. la incidencia de malaria *falciparum* o *vivax* en la localidad y las comunidades cercanas;
2. la infraestructura de salud en la localidad;
3. la accesibilidad al área y los medios de transporte dentro del área de estudio tanto para los residentes como los miembros del equipo; y,
4. la seguridad del equipo y disponibilidad de hospedaje y comida.

Antes de iniciar un estudio *in vivo*, un miembro experimentado del equipo debe visitar la zona seleccionada para el estudio para escoger la(s) localidad(es) y el establecimiento de salud más apropiado para el estudio. Durante esta visita, se debe revisar los registros de malaria del establecimiento de salud para conocer las comunidades con la incidencia de malaria más alta, el número de casos de malaria diagnosticados en los diferentes establecimientos de salud, y los meses de mayor transmisión. También se debe examinar las condiciones de la infraestructura de los establecimientos de salud, incluyendo posibles ambientes para el estudio, la existencia de luz (con el número de horas por día), teléfono o radio, y los medios de transporte disponibles. Vale la pena también entrevistarse con el personal del establecimiento de salud para saber el comportamiento de la gente en cuanto a cumplir con sus citas de control.

En una región con malaria inestable, como las Américas, puede ser difícil predecir con seguridad el número de casos de malaria que va a ocurrir en una determinada comunidad o mes del año. Por eso, el investigador no debe confiar completamente en los datos de la incidencia de la malaria de los años anteriores para escoger los mejores sitios para un estudio *in vivo*. Además, los registros de un establecimiento de salud generalmente no proporcionan toda la información necesaria para tomar una decisión o puede a veces dar una impresión falsa del número de pacientes que se puede enrolar. Normalmente, en los establecimientos de salud de las Américas se usa un sistema semicuantitativo de cruces (1/2+ a +++) para indicar el nivel de parasitemia, en vez de hacer cálculos de la densidad parasitaria. Como regla general, se puede estimar que “1/2+” equivale a una densidad parasitaria de 250 parásitos/ $\mu$ L y “+” equivale a 500-1,000/ $\mu$ L. Debido a los límites inferiores y superiores de

parasitemia necesarios para ser enrolado, es probable que varios de los pacientes con malaria anotados en el registro no van a reunir este criterio de inclusión. Adicionalmente, algunas de las mujeres con malaria pueden ser embarazadas y por esto no podrían entrar en el estudio. Finalmente, es probable que varios de los pacientes vengan de caseríos distantes y serán difíciles de seguir por los 14 o 28 días necesarios. Si se toman en cuenta todos estos factores, se puede estimar que solamente el 50% de todos los pacientes infectados con *P. falciparum* o *P. vivax* que asisten al puesto de salud y se anotan en los registros pueden ser enrolados en un estudio *in vivo*.

Logísticamente, puede ser difícil hacer estudios *in vivo* que duran más de 4-5 meses por el costo y la dificultad de mantener un equipo en el campo por un periodo largo. Entonces, si el estudio va a durar 4-5 meses y se va a incluir un total de 50-60 pacientes, será necesario enrolar un mínimo de 3-4 pacientes por semana. Asumiendo que solamente el 50% de los pacientes infectados que acuden al establecimiento de salud pueden ser enrolados, se necesitaría un paciente con malaria/día (o sea 7-10 pacientes/semana) asistiendo al establecimiento de salud para poder enrolar esos 3-4 sujetos por semana.

Las recomendaciones de la OMS recalcan la importancia de enrolar una muestra representativa de pacientes del área de estudio y sugieren no seleccionar hospitales ni establecimientos ubicados en zonas urbanas, porque en estos establecimientos se reciben más casos derivados de otros establecimientos periféricos que ya han recibido un tratamiento antimalárico. En las Américas, puede ser muy difícil cumplir con estas recomendaciones por los bajos niveles de transmisión y la población tan dispersa en áreas como la Amazonía, que reducen el número de sitios y sujetos potenciales para estudios. Entonces, muchas veces, el investigador no tiene la posibilidad de seleccionar entre varios sitios adecuados, sino tiene que escoger entre aceptar datos no tan representativos de un sitio o no llevar a cabo el estudio.

Como parte de la primera visita de reconocimiento a los establecimientos de salud y las localidades potenciales para el estudio, es importante conocer el estado de la infraestructura del servicio de salud para asegurar que el equipo tendrá suficiente espacio para su trabajo, incluyendo un área semiprivada para las entrevistas y los exámenes físicos, un área para la toma, coloración y examen de las muestras de sangre (que puede ser parte del laboratorio del mismo establecimiento de salud), y un área de espera para los pacientes antes de ser enrolados y durante su seguimiento. También, se debe establecer el flujo de pacientes febriles, de su entrada a la consulta externa del establecimiento al laboratorio para su gota gruesa inicial, y al equipo del estudio. Si no está disponible un ambiente adecuado para atender a los pacientes del estudio, se debe pensar en adecuar un ambiente, pero esto llevaría más tiempo y se debe contemplar en el presupuesto de la investigación.

Este reconocimiento servirá además para conocer que materiales y equipos son necesarios, incluyendo disponibilidad de microscopios de buena calidad y vehículos y/o lanchas para el seguimiento, y para estimar cuál será el monto del dinero necesario para los gastos locales. Normalmente, los microscopios en los centros de salud rurales no son de buena calidad o bien mantenidos como los del laboratorio central del Programa de Malaria o del instituto de investigación que va a llevar a cabo el estudio, y es recomendable que el equipo lleve su propio microscopio al campo.

Cuando se escoge localidades muy remotas o de difícil acceso para un estudio *in vivo*, se debe tener en cuenta varios posibles problemas adicionales:

1. el abastecimiento de insumos, por lo que se debe enviar al inicio suficientes insumos para todo el estudio;
2. las dificultades con la supervisión, por lo que se debe enviar al lugar un equipo con experiencia; y
3. el costo más alto para enviar y mantener un equipo de investigación en un lugar remoto.

## El equipo de investigación

Aunque los estudios *in vivo* no son técnicamente complicados, requieren un equipo experimentado que pueda dedicar la mayor parte de su tiempo al estudio sin distracciones por otros compromisos. Por esta razón, es difícil que el personal del mismo establecimiento de salud de la localidad este a cargo del enrolamiento y seguimiento de los pacientes. Ellos tienen responsabilidades administrativas, tienen que atender a otros pacientes, y deben viajar de vez en cuando fuera de la localidad para reuniones, talleres o conferencias, por lo tanto no pueden garantizar la atención necesaria para los pacientes enrolados, particularmente durante el seguimiento cuando es necesario buscar a los pacientes en sus casas que no han regresado a sus citas.

Para los estudios *in vivo* que forman parte de un sistema de vigilancia para la farmacoresistencia que deben repetirse cada 2-3 años, el frecuente traslado de médicos en las áreas rurales hace difícil mantener un equipo local suficientemente bien entrenado. Por este motivo, es recomendable que alguna institución nacional o regional mantenga dentro de su personal a algunos investigadores y técnicos con experiencia, de tal forma que pueden responsabilizarse para el entrenamiento y supervisión de los nuevos equipos de campo y trabajadores locales durante el transcurso de un estudio.

El equipo mínimo para un estudio *in vivo* consiste de un médico, una enfermera o técnica de enfermería, y un microscopista. Idealmente, el médico encargado del estudio debe haber participado antes en estudios similares. Si no es posible que el equipo cuente con un médico experimentado, la capacitación de el médico nuevo se realizará en antes de llegar al campo. Luego, un médico con experiencia debe acompañar al nuevo médico en el campo durante el enrolamiento y 10-14 días de seguimiento de los primeros 5 a 7 pacientes enrolados para asegurar que entienden el trabajo.

La enfermera o técnica de enfermería que tiene la responsabilidad para medir el peso de los pacientes, administrar todas las dosis de los antimaláricos y otros medicamentos, y avisar a los pacientes acerca del seguimiento, puede ser un miembro del personal del mismo establecimiento de salud. El/ella debe ser capacitado y supervisado por el médico encargado, especialmente en el cálculo de las dosis y la administración de los medicamentos antimaláricos, que pueden ser bastante amargos, a los niños menores.

Un punto clave en este tipo de estudio es contar con un microscopista bien entrenado, idealmente con experiencia en anteriores estudios. De no ser posible, debe

entrenarse a un microscopista semanas previas al inicio del estudio, y un microscopista experimentado debe supervisarlos con una frecuencia no menor a cada 3-4 semanas para evaluar la calidad de las gotas gruesas, el diagnóstico por especie, y el recuento de la densidad parasitaria. Los problemas más comunes son gotas gruesas demasiado delgadas o gruesas, contaminación con hongos, bacteria o precipitación del colorante, o la falta de deshemoglobina por la fijación de la gota gruesa por el calor. Todas las gotas gruesas se deben guardar para una reexaminación más tarde por un microscopista experimentada.

## **Coordinación del inicio del estudio**

Idealmente, el estudio debe iniciarse 2-4 semanas antes del momento de mayor transmisión de malaria. De esta forma, se espera enrolar con rapidez el número de pacientes necesarios para completar el tamaño muestral. Para lograr este objetivo, es necesario conocer el comportamiento estacional de la malaria en la localidad donde se realizará el estudio, aunque debe recordarse que el momento de mayor transmisión de malaria puede variar de un año a otro y los datos de años anteriores no son siempre una guía buena para seleccionar la mejor época para el estudio. Entonces, empezando 1 a 2 meses antes de la fecha programada de inicio del estudio, vale la pena que el investigador comunique periódicamente con el personal del establecimiento para averiguar si el número de casos de malaria está aumentando y será suficiente para el estudio. Si no es posible iniciar el estudio inmediatamente antes de la época de mayor transmisión, se debe tomar las precauciones para un estudio de duración más larga.

## **Preparación de insumos y materiales**

Para el momento del inicio del estudio debe estar listo y bien entrenado el equipo de investigación. Debido al tiempo necesario para la compra y preparación de los insumos y materiales necesarios, el equipo debe hacer sus pedidos con unos 3-4 meses de anticipación y tener todo listo por lo menos 3-4 semanas antes de la fecha programada para comenzar el estudio. El Anexo 1 tiene una lista de materiales para un estudio de 60 pacientes con un medicamento o una combinación de medicamentos. No incluye los materiales necesarios para la genotipificación o para detectar mutaciones puntuales asociadas con la resistencia a los medicamentos antimaláricos.

Dependiendo del acceso al sitio del estudio y las dificultades del transporte, se debe considerar llevar consigo todos los medicamentos y materiales de laboratorio y de escritorio necesarios cuando se movilice el equipo de investigación al sitio para iniciar el estudio. De acuerdo al informe del investigador que hizo el reconocimiento inicial de la zona, se debe acondicionar un microscopio con fuente de luz (con bombillas de reemplazo) o con espejo si no existe electricidad en la localidad.

## Caja chica

En la experiencia de los estudios hechos en Perú, Bolivia, y Ecuador, ha sido muy útil tener una caja chica a cargo del médico responsable para el estudio en el sitio para el reembolso de pasajes para los pacientes y la compra de insumos y/o medicamentos imprevistos. Normalmente, estos gastos locales no son grandes. Si el sitio del estudio es accesible y va a haber una supervisión cada 3-4 semanas, una suma equivalente de unos (US) \$20-25 probablemente sería suficiente. Si el sitio es inaccesible y la supervisión va a ser menos frecuente o se espera gastos más grandes, tendrán que aumentar esta suma.

## Formatos y cuadernos de registro

Para facilitar el trabajo del equipo encargado del enrolamiento y seguimiento de los pacientes en el campo, se ha usado algunos registros que no figuran como tales en el protocolo. Para preparar estos registros, se puede usar cuadernos escolares de 50-100 hojas.

*Registro de febriles y de casos de malaria:* El equipo de trabajo debe llevar un registro con el número de pacientes febriles y con diagnóstico de malaria que se atienden diariamente en el establecimiento. En este registro se debe anotar el número de los pacientes febriles, el número con diagnóstico de malaria, si fueron enrolados o no, y si no fue enrolado, el motivo de exclusión. Este registro será útil al momento de hacer un informe de los resultados del estudio, porque permitirá conocer la población de febriles sobre la que se realizó el estudio y conocer posibles sesgos en el enrolamiento de pacientes. Un ejemplar de una página de este registro sigue:

**Tabla 1: Registro de febriles y casos de malaria**

Fecha	Nombre y Apellidos	Edad	Sexo	Diagnóstico (+/-; especie)	Enrolado (Sí/No)	Motivo de exclusión

*Registro de citas para pacientes enrolados:* Luego de enrolar varios pacientes al estudio, se hace complicado recordar cuales pacientes tienen que acudir en un día determinado para su control clínico y de gota gruesa. Por este motivo, el médico a cargo del seguimiento de los pacientes debe contar con un cuaderno de citas. El mismo día que un paciente es enrolado, las fechas de las citas futuras del paciente deben ser anotadas en este cuaderno por el médico. Se usa una página para cada día y se escribe el código del paciente abajo del día de su control. Ver abajo para un ejemplo de una de las hojas de este cuaderno del 7 de junio en que los pacientes J037 y J038 tienen su control del Día 1, el paciente J034 su control del Día

3, los pacientes J026, J027, J028, y J029 su control del Día 14, etc. Cuando el paciente acude o es ubicado para su control de ese día, se tacha el código del paciente. Este cuaderno también permite al equipo predecir y controlar la carga de trabajo diaria.

**Tabla 2: Registro de Citas**

7 de junio del 2002 (fecha de la cita)

Día 1* J037** J038	Día 14 J026 J027 J028 J029
Día 2	Día 21 J008 J009 J010
Día 3 J034	Día 28
Día 7	

*Cuaderno de registro de laboratorio:* El encargado del laboratorio debe tener un cuaderno de registro para los resultados de las gotas gruesas. Este cuaderno es llenado cada día. Al finalizar el día, el médico a cargo del estudio revisará el cuaderno y anotará en la ficha clínica correspondiente del paciente los resultados obtenidos. Un ejemplo de una página de este cuaderno se ve en la siguiente tabla:

**Tabla 3: Registro de Laboratorio**

ID #	Día	Fecha	Resultado	Especie	Parásitos asexuales	Leucocitos	Parásitos/ μL	Gametocitos	Gametocitos/ μL	Comentarios
J001	D7	22-Jun-02	-							
J002	D7	"	-							
J003	D3	"	+	F	33	217	912	0		
J004	D0	"	+	F	295	205	8634	0		
J005	D0	"	+	F	380	201		0		

*Registro de gastos:* Para la administración de los fondos de la caja chica, es útil llevar un cuaderno donde se registren los gastos locales en pasajes, insumos, medicamentos

comprados u otros imprevistos. De ser posible, se debe guardar y adjuntar los recibos o facturas de las compras.

## La instalación del estudio

Normalmente, al llegar a un sitio nuevo para un estudio *in vivo* se necesita un día o dos para acondicionar el ambiente para el estudio. Para la atención de los pacientes se necesita un lugar con un mínimo de 3-4 sillas, una mesa y una camilla para el examen físico de los pacientes. En algunos casos varios pacientes acuden al mismo tiempo, por lo tanto es recomendable tener una banca o varias sillas extras donde los pacientes y sus familiares podrán sentarse mientras están esperando. Para la obtención de muestras, el técnico de laboratorio debe contar con una mesa y dos sillas. Idealmente, el lugar de toma de las muestras de control debe estar cerca del lugar donde se atienden los pacientes, pero si se tomará muestras para dosaje de medicamentos, la obtención de muestras se debe realizar en un ambiente separado de donde se administra medicamentos, para no correr el riesgo de contaminar las muestras. No es necesario tener un ambiente separado para la obtención de muestras de sangre para PCR.

Es complicado fraccionar bien las tabletas de cloroquina, sulfadoxina-pirimetamina, y mefloquina para adecuar la dosis al peso del paciente. Por lo tanto, es recomendable tener frascos con tapa que contengan los medicamentos fraccionados previamente en mitades o cuartos de comprimidos. Además de los medicamentos antimaláricos, el equipo debe contar con algunos otros medicamentos básicos, como paracetamol y el dimenhidrinato para las náuseas o vómitos. En una mesa de trabajo se debe acondicionar un bidón con agua de mesa con vasos descartables para la administración de los medicamentos. Para evitar que los pacientes tomen medicamentos con el estomago vacío, se debe contar con galletas dulces o saladas.

En una pared visible para el médico se debe pegar el flujograma del estudio. Esto facilitará a los miembros del equipo seguir los procedimientos del protocolo para cada paciente enrolado.

## El enrolamiento y seguimiento de los pacientes

En muchos países de las Américas es posible simplificar la selección inicial de los pacientes con malaria porque a todo paciente con fiebre en zonas maláricas, se le toma una gota gruesa. De ser este el caso, es posible que el microscopista del equipo realice el conteo de parásitos directamente de la muestra tomada por el establecimiento. Si la muestra es de mala calidad, será necesario repetir la gota gruesa para un mejor conteo de la densidad parasitaria.

Según las recomendaciones de la OMS para los estudios *in vivo* de *P. falciparum*, uno de los criterios de inclusión es una densidad parasitaria mínima de 1,000 parásitos asexuados/ $\mu$ L. Sin embargo, en las Américas, muchos pacientes tienen baja parasitemia al llegar al establecimiento de salud y tendrán que ser excluidos si se usa este nivel como limite

inferior. Por esta razón, en la mayoría de estudios realizados en los últimos 2-3 años en el Perú, Ecuador, y Bolivia se tomó como límite inferior 250 parásitos asexuados/ $\mu\text{L}$ . Disminuir aun más la densidad parasitaria mínima dificultaría la posibilidad de observar cambios en la densidad de parásitos luego de iniciado el tratamiento.

Antes de enrolar a cada paciente, el médico a cargo del estudio debe tratar de valorar, a través de una conversación con el paciente, la aceptación del paciente a participar en el estudio y la probabilidad de que va a acudir a las citas de control. Las causas principales para abandonar el seguimiento es el trabajo, por residir en un lugar muy distante del establecimiento, por problemas familiares, o por viajes. Con la gente tan móvil de la Amazonía, es común que los residentes se ausentan de sus casas por uno o dos días para atender a sus cultivos o para la caza o la pesca. Por el tiempo que el equipo tiene que invertir en buscar pacientes en sus casas, generalmente es preferible no enrolar estos pacientes en el principio en vez de enrolarlos y perderlos más tarde.

La experiencia ha demostrado que es preferible enrolar solamente pacientes que son residentes permanentes en la localidad donde se realiza el estudio, o dentro de un máximo a 30 ó 45 minutos a pie o por río de la localidad. Si vienen de caseríos más distantes, aumenta la probabilidad que los pacientes no acudan para todos sus controles. En la Amazonía, por las distancias tan grandes, puede ocurrir que residentes de otras comunidades que están alojándose con sus parientes en la comunidad del estudio se enfermen. Aunque sería fácil enrolar a estos pacientes, al sentir mejoría de sus síntomas, pueden regresar a sus lugares de origen y abandonar el seguimiento.

Todos los pacientes enrolados deben tener un número de código, generalmente empezando con 01 o 001. Algunos investigadores prefieren usar códigos para todos los pacientes febriles de los cuales se les toma gota gruesa y seguir usando los mismos números si los pacientes son enrolados. Otros investigadores asignan un número nuevo a cada paciente enrolado. Si están llevando a cabo dos o más estudios *in vivo* simultáneamente, se puede incluir los iniciales del establecimiento de salud en el código del paciente, por ejemplo, "SJ007," para paciente No. 7 del Centro de Salud San Juan.

Para asegurar que todos los pacientes se controlen en el día de seguimiento indicado, es recomendable citar a los pacientes para sus controles por las horas de la mañana. De esta forma, se sabe al mediodía si el paciente va a regresar o no y es posible visitarlo en su domicilio por la tarde. Por el problema en buscar a pacientes que no acuden a sus citas en horas de la noche, especialmente en las localidades sin luz eléctrica, es recomendable hacer estas visitas no más tarde de las 17 horas. Para facilitar la búsqueda del paciente en su domicilio, al momento de enrolar al paciente, se debe anotar cuidadosamente en su ficha clínica la ubicación de su domicilio y algunos puntos de referencia que faciliten su ubicación, como iglesias, escuelas, tiendas, etc.. Cuando hay problemas en ubicar a un paciente, se puede recurrir para ayuda al personal antiguo del establecimiento que generalmente conoce los domicilios de la mayoría de sus pacientes.

Por el tiempo y esfuerzo que el equipo tiene que invertir en el seguimiento de los pacientes que no regresan para sus controles, es costo-efectivo reembolsar el pasaje al paciente para que acuda por sí mismo al establecimiento. Muchas veces resulta más caro y

difícil buscarlo en su domicilio. Para incentivar que el paciente acuda al establecimiento para sus controles, algunos investigadores han usado pequeños incentivos (se ha usado bolsas de kilo de arroz, azúcar, o leche en polvo, enseres plásticos, etc.) el Día 14 y el Día 28. Cuando un paciente no acude a su cita de control y es ubicado en su domicilio se le debe recomendar que acuda al establecimiento de salud para la siguiente cita, porque de no hacer esto, el paciente puede confiar que se le buscará en su casa para los demás controles.

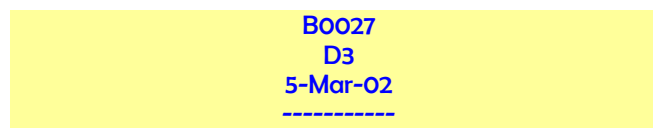
En áreas como la Amazonía donde la población es muy dispersa, es difícil lograr las visitas de control en exactamente la fecha citada. Si un paciente no acude el día de su cita y no es encontrado ese día en su domicilio, es posible hacer el control al día siguiente. Se debe anotar en la ficha del paciente la fecha del control y los datos se pueden ajustar al momento de hacer el análisis. En los estudios hechos en Bolivia, Ecuador y Perú, se aceptó una variación de más o menos un día para los controles entre el día 7 y 14 y de  $\pm 2$  días para los controles de los días 21 y 28. Cuando la variación es más grande, el paciente debe salir del estudio.

Por la baja transmisión de la malaria en las Américas, los equipos a veces tienen que hacer un esfuerzo especial para encontrar suficientes pacientes para un estudio. Por ejemplo, en algunas comunidades los promotores de salud locales administran antimaláricos a los pacientes febriles antes que lleguen a los establecimientos, y por lo tanto estos pacientes nunca acuden al establecimiento. En estas localidades se puede hacer una búsqueda activa de pacientes febriles, tomarles una gota gruesa y de ser positivos y cumplir con los criterios de inclusión, invitarlos a participar en el estudio. Aunque es posible encontrar parasitemia en personas que no tienen fiebre, la parasitemia probablemente será baja y por lo tanto no vale la pena tomar gotas gruesas de personas afebriles.

## Preparación y manejo de las gotas gruesas

La identificación y la conservación adecuada de las láminas de gota gruesa y frotis es importante para el éxito del estudio. Se puede usar cualquier clase de lámina, pero las láminas con un borde esmerilado permiten rotularlas adecuadamente. La lámina debe ser rotulada con el código del paciente, el día de control (D0, D2, D3, etc.) y la fecha en que se toma la muestra. Un ejemplo de una lámina correctamente rotulada se muestra abajo:

**Figura 4**



Es recomendable usar una lámina aparte para cada paciente para no confundir los códigos y dejar suficiente espacio para la gota gruesa. Aunque no es necesario, muchos investigadores prefieren hacer un extendido en la misma lámina con la gota gruesa del paciente para ayudar en la identificación de la especie del parásito cuando la densidad parasitaria es baja y para diferenciar infecciones mixtas.

Existe en el mercado portaláminas de cartón tipo carpeta, con capacidad para transportar hasta 20 láminas. Estas son prácticas porque permiten proteger las láminas y mantenerlas en posición horizontal mientras secan luego de tomar las muestras y son particularmente útiles para transportar las muestras cuando se toman en el domicilio del paciente. Se debe tener cuidado de no dejar las laminas aún sin colorear sin protección, porque la gota gruesa puede ser devorado por las moscas o otros insectos que se alimentan de sangre. También, en ambientes calurosos es mejor colorear las muestras dentro de uno o dos días, para evitar que las gotas gruesas se fijen por el calor. Después de colorear y examinar las gotas gruesas, las láminas deben ser almacenadas para una lectura más tarde. En áreas con alta humedad, como en la Amazonía, las laminas deben ser almacenadas en cajas portaláminas de plástico con cierre hermético para evitar que se contaminen con hongos.

El orden para almacenar las laminas en el campo es por fechas, aunque al terminar la primera y segunda lectura y de resolver las discordancias, estas deberán ser finalmente agrupadas por paciente.

## La supervisión

La supervisión periódica del estudio es crítica para asegurar que todo vaya bien y para corregir cualquier error. La persona que hace la supervisión debe tener experiencia previa con estudios *in vivo* y idealmente, debe tener experiencia en el examen de gotas gruesas y el conteo de parásitos. Así, puede revisar una muestra de las gotas gruesas tomadas para confirmar el diagnóstico y el cálculo de la densidad parasitaria. Si el supervisor no puede hacer esto, sería necesario la supervisión por un microscopista experimentado.

Una lista de chequeo hace más fácil la supervisión y asegura que no se olvida nada de importancia:

### Enrolamiento de pacientes

- ¿El equipo de investigación tiene una buena comunicación con el personal del establecimiento que capta los pacientes febriles? ¿Cómo se captan los febriles? ¿Se anotan los febriles en el cuaderno apropiado?
- ¿Quién y dónde se toman de gotas gruesas? ¿Las gotas gruesas son de buena calidad en cuanto a tamaño, grosor, y tinción?
- ¿Se están siguiendo correctamente los criterios de inclusión/exclusión del protocolo?
- ¿Son correctos el diagnóstico por especie y las densidades parasitarias que informa el microscopista?
- ¿Se toman todas las muestras necesarias según protocolo? (revisar el flujograma)
- ¿Las muestras para estudios moleculares se toman de manera adecuada y en el lugar adecuado?
- ¿Las fichas de los pacientes enrolados tienen todos los campos llenos?
- ¿Las muestras son correctamente rotuladas y conservadas adecuadamente?
- ¿Todas las dosis del medicamento son supervisadas por un miembro del equipo?
- ¿El equipo esta pesando los pacientes y calculando correctamente la dosis de medicamento?

### **Seguimiento de los pacientes**

- ¿Se anota la dirección de los pacientes en una forma suficientemente detallada para encontrar su casa?
- ¿Se está administrando correctamente a los pacientes las dosis del antimalárico?
- ¿Se llena adecuadamente el cuaderno de citas?
- ¿Los miembros del equipo reconocen los signos de malaria grave? ¿Se está preparado para atender una emergencia por malaria grave o derivar a los pacientes?
- ¿Cuál es el porcentaje de pacientes a los que es necesario buscarlos en su domicilio?
- ¿Cuáles son las causas para el abandono de los pacientes? ¿Es necesario alguna nueva medida para disminuir el abandono de los pacientes?

### **Informe económico**

- ¿Se llena el cuaderno de gastos diariamente?
- ¿Cuadran los gastos anotados con los fondos gastados?
- ¿Es necesario mayores fondos de caja chica?

Al terminar la supervisión, se debe conversar con el equipo para felicitarlo por su trabajo, para corregir posibles errores que se estén cometiendo y para responder a sus preguntas o dudas si las hay. Una supervisión adecuada de un estudio *in vivo* normalmente lleva un mínimo de 3 días.

Es recomendable que el equipo de investigación en el campo envíe breves informes semanales o quincenales a los investigadores principales del estudio. En estos informes se debe detallar el número de casos de malaria diagnosticados, el número de casos enrolados, el número de fracasos, el retiro de pacientes del estudio y sus causas, y si hubiera problemas del entorno que puedan poner en riesgo la continuación del estudio, asimismo un informe de lo que resta en la caja chica. Este informe puede enviarse por teléfono, fax, o correo electrónico, según la situación en el lugar de estudio.

### **Cerrando el estudio**

Antes de retirarse por última vez del sitio del estudio, debe haber una revisión general de las fichas clínicas de los pacientes para cerciorarse que no hay un dato olvidado o equivocado como la edad o el sexo de un paciente. Al finalizar el estudio, es necesario asegurarse que se esta recolectando toda la información necesaria para elaborar el informe final y un artículo científico.

El equipo de campo debe elaborar un informe final de su trabajo, incluyendo el número de pacientes febriles examinados, el número de pacientes enrolados, el número excluidos y sus causas, y la proporción con fracasos parasitológicos y/o terapéuticos según las clasificaciones de la OMS que se encuentran en el Internet en la siguiente página: [http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_17/en](http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO_CDS_CSR_EPH_2002_17/en) . Además, se debe incluir un informe de los gastos del equipo de campo por rubros como pasajes, medicamentos, combustible u otros gastos. Si hay recomendaciones para futuros equipos trabajando en la misma zona, valdría la pena incluirlas en el informe también.

## **Costo de estudios *in vivo***

Basándose en los estudios *in vivo* hechos en el Perú entre 1998 y 2001, un estudio de 14 días que dure 12 semanas, costó aproximadamente 9 mil dólares, incluyendo la contratación del personal para el estudio. Un estudio de 28 días costó aproximadamente mil dólares más. Estos cálculos no incluyen el costo de los medicamentos.

## **Preparación de la base de datos**

Antes de ingresar las fichas en una base de datos, es necesario que uno de los investigadores principales revise cada ficha. En esta revisión se debe buscar errores como discordancias en datos que figuran en más de una página, en el sexo del paciente con su nombre, en el peso del paciente para la edad, en la dosis de medicamento administrada para el peso u otros datos que faltan. Esta revisión servirá también para estandarizar algunos términos utilizados para describir síntomas (por ejemplo, cefalea y dolor de cabeza, o nombres de medicamentos comerciales por el nombre genérico de los mismos).

Se ha preparado un programa de EpiINFO para el ingreso de los datos, su limpieza, y los análisis básicos de un estudio *in vivo*. Este programa va a estar en la página Web de la OPS. Si el equipo quiere hacer más análisis, tendrá que agregar estos al programa básico. La base de datos puede ser ingresada por un digitador o por las mismas personas que hicieron el trabajo de campo. Si no se va a hacer doble entrada de los datos, una vez que se tenga la base de datos, debe imprimirse para que pueda compararse la base de datos con los datos originales de las fichas.

Anexo I: Lista de materiales e insumos de campo necesarios para un estudio *in vivo* de 60 pacientes

Ítem	Descripción	Cantidad	Observaciones
1	Aceite de inmersión Cargille, tipo A (botella de 100ml)	1	
2	Agua destilada (frasco de 1 L)	01	Para las coloraciones
3	Agujas para tubo vacutainer (caja de 100) 21 x 1 ½ y 20 x ½	02	
4	Alcohol – etanol (frasco de 1 L)	02	
5	Algodón (paquete der 500 g)	01	
6	Baja lenguas de madera (caja de 500)	01	
7	Bolsas para desecho descartables (paquete de 100 (bioseguridad))	01	
8	Caja porta láminas de acrílico ó madera	10	
9	Campos descartables x unidad		
10	Capuchón para tubos vacutainer	01	
11	Contador manual	02	
12	Contenedor de bioseguridad	01	
13	Fólder de cartón para transporte de laminas 3x1”	2	
14	Frascos pequeños con tapa para medicamentos	3	
15	Cronómetro de triple entrada	01	
16	Giemsa colorante (frasco de 100 mL)	01	
17	Guantes de látex descartable (caja de 100 unidades) tallas S y M	04	
18	Hojas papel lente (una caja)	60	
19	Láminas portaobjetos (caja de 50)	35	
20	Lancetas descartables (caja de 100)	05	
21	Lápiz carbón	02	
22	Libretas de apunte	01	
23	Marcador de tinta indeleble	02	
24	Metanol (frasco de 50 mL)	01	Para fijar el frotis
25	Micro slide mailer	05	
26	Papel toalla (rollos)	05	
27	Kit para pruebas de embarazo	40	Si se tomará prueba de embarazo
28	Pipetas de plástico no estériles	120	
29	Rack para secado de láminas	1	
30	Termómetro digital	02	

Ítem	Descripción	Cantidad	Observaciones
31	Tubos al vacío con EDTA de 2mL	70	Para dosaje de metabolitos de CQ
32	Vasitos descartables para recolectar orina	250	Si se tomara muestra de orina
33	Vasitos descartables para tomar agua	200	
34	Tubos de plástico graduados	50	
35	Carpeta con tres anillos tamaño A4 o carta	2	
36	Fólder tipo acordeón	01	
37	Cuaderno tamaño carta cuadrado de 100 hojas	03	
38	Calculadora simple	01	
39	Lapiceros color negro y rojo	06	
40	Estetoscopio	01	
41	Tensiómetro	01	
42	Plumón indeleble de punta fina	03	
43	Tarjador para lápices	02	
44	Engrapador	01	
45	Caja de grapas	01	
46	Cinta adhesiva transparente	01	
47	Tijeras	01	
48	Reloj de mesa con alarma	01	
49	Linternas y pilas	02	
50	Tablero de madera con sujetador A4	03	
51	Regla de madera con borde metálico	01	
52	Protector plástico de documentos	12	
53	Hemocue y 100 cubetas para Hemocue	01	Opcional si se piensa dosar hemoglobina
54	Tampón con tinta para huellas digitales	01	
55	Balanza de baño	01	Si el centro de salud no tiene balanza
56	Bolsas de plástico 9 x 12"	60	Para PCR
57	Sobrecitos con <i>silica-gel</i>	300	Para PCR
58	Piezas de papel de filtro WHATMAN, grado 3, cromatográfico.	60	No si se usará Microtainer para las muestras para PCR
59	Microtainer (paquete de 50 unidades)	01	Si no se usara papel filtro para muestras para PCR
60	Sobres de manila 9x12"	300	Para PCR

