



**COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA
COORDINADORA: DRA CELINA MONTEMAYOR**

**PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO
COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ**

**“PALUDISMO: RELEVANCIA EN LA TRANSMISIÓN POR VÍA
TRANSFUSIONAL EN EL CONTEXTO DEL CONTROL VECTORIAL”**

PROFESORAS INVITADAS:

LAURA BELAUZARÁN. Licenciada en Ciencias Biológicas, especialista en Biología Molecular y Biotecnología. Investigadora Adjunta del Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica. Facultad de Medicina, UBA.
mbelaunzaran@fmed.uba.ar

JORGELINA BLEJER. Licenciada en Ciencias Biológicas, con Doctorado en Ciencias Biológicas y Maestría en Biología Molecular Médica (UBA). Responsable de Capacitación en Centro Regional de Hemoterapia Fundación Hemocentro Buenos Aires. Directora del Curso de formación para el desempeño de Bioquímicos en Servicios de Hemoterapia y Bancos de Sangre, AAHITC
jblejer@gmail.com

Introducción

El paludismo o malaria es una infección causada por parásitos del género *Plasmodium* que aún es considerada un problema de salud pública a nivel mundial por ser la primera causa de muerte por parásitos en el mundo. Esta infección es causada por cinco especies diferentes de protozoarios intracelulares obligados que causan paludismo en el ser humano: *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi*, *P. falciparum* y *P. vivax*, siendo las dos últimas las más peligrosas por causar una enfermedad febril aguda potencialmente mortal (1). *P. knowlesi* es un patógeno emergente en el sudeste asiático, sobre todo en Malasia, siendo los macacos los principales hospederos de esta especie. La transmisión del paludismo está muy extendida, con una concentración de casos en áreas tropicales y subtropicales, principalmente en América Central y del Sur y en el sudeste asiático para *P. vivax* y en África para *P. falciparum* (2). *P. vivax* es el parásito predominante en la región de las Américas, donde es la causa del 75% de los casos de paludismo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), casi la mitad de la población mundial estuvo en riesgo de padecer malaria en 2020 (1).

A nivel mundial, se estima que en 2020 hubo 241 millones de casos de paludismo, en comparación con los 227 millones de 2019, en 87 países donde esta parasitosis es endémica. Según las estimaciones, la enfermedad causó 627.000 muertes en 2020, lo que supone un aumento de 69.000 muertes con respecto al año anterior. Aunque alrededor de dos tercios de este aumento se explican por las interrupciones de los servicios derivadas de la pandemia de COVID-19, el tercio restante obedece a un cambio que la OMS introdujo hace poco en su método de cálculo de la mortalidad por paludismo (con independencia de las interrupciones debidas a la COVID-19) (3).

Según la OMS el continente africano es el que tiene la mayor carga de esta enfermedad parasitaria, con un estimado de 228 millones de casos en 2020, que representa alrededor del 95% de los mismos. La mayoría de los casos y de las muertes se registran en el África subsahariana, siendo los niños menores de 5 años el grupo más afectado, representando el 68% de todas las muertes por paludismo en el mundo. Entre 2000 y 2019, la incidencia de casos en ese continente se redujo de 368 a 222 por 1.000 la población en riesgo, pero aumentó a 232 en 2020, principalmente debido a interrupciones en los servicios durante la pandemia de COVID-19 (3).

El control vectorial es el principal medio para reducir su transmisión y desde el año 2000 se han dado avances significativos debidos principalmente a la ampliación del acceso a las intervenciones de lucha contra los vectores, en particular en el África subsahariana. Con respecto a la región de las Américas, los casos de paludismo se redujeron en un 58% (de 1,5 millones a 0,65 millones) y la incidencia de casos en un 67% (de 14 a 5 por 1.000 habitantes en riesgo) entre los años 2000 a 2020. En los últimos años, el progreso del control del paludismo en esta región se ha visto afectado por el mayor aumento del número de casos en la República Bolivariana de Venezuela, que tuvo

alrededor de 35.500 casos en 2000, aumentando a más de 467.000 en 2019 (3).

En 2020, el número de casos se redujo a 232.000, más de la mitad en comparación con 2019, debido a las restricciones de movimiento durante la pandemia de COVID-19 y la escasez de combustible que afectó a la industria minera, que es la principal actividad que contribuye al reciente aumento del paludismo en este país. Estas restricciones también pudieron haber afectado el acceso a la atención sanitaria, reduciendo los casos notificados desde los establecimientos de salud (3).

Los países que experimentaron aumentos sustanciales en las Américas en 2020 en comparación con 2019 fueron Haití, Honduras, Nicaragua, Panamá y el Estado Plurinacional de Bolivia. La República Bolivariana de Venezuela, Brasil y Colombia contribuyen con más del 77% de todos los casos en las Américas. En relación con países certificados libres de transmisión vectorial, Argentina, El Salvador y Paraguay fueron certificados como libres de paludismo en 2019, 2021 y 2018, respectivamente. Con respecto a países en camino de ser certificados, Belice reportó cero casos autóctonos por segundo año consecutivo (3).



Figura 1: Países con casos autóctonos en 2000 y su estado para 2020

Se considera que los países con cero casos autóctonos durante al menos 3 años consecutivos han eliminado el paludismo. En 2020, la República Islámica de Irán y Malasia informaron cero casos autóctonos por tercer año consecutivo, y Belice y Cabo Verde informaron cero casos autóctonos por segunda vez. China y El Salvador fueron certificados libres de malaria en 2021, luego de 4 años sin casos de malaria. Extraído y modificado de Malaria World Report 2021, World Health Organization (3), página 23.

CICLO DE VIDA

El ciclo biológico de *Plasmodium spp*, transcurre de forma cíclica entre dos hospederos: el humano y los mosquitos hembra del género *Anopheles*, siendo la vía vectorial la más relevante para su transmisión. En el mundo hay más de 30-40 especies de vectores para transmisión del paludismo (1).

La infección se inicia cuando el mosquito hembra infectado inocula esporozoitos en el humano durante la ingesta de sangre, los que viajan a través de la circulación venosa hasta el hígado, invaden los hepatocitos, se replican por fisión múltiple (esquizogonia), completando la etapa pre-eritrocítica (o exo-eritrocítica) del desarrollo del parásito. En el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, estas especies poseen hipnozoitos (formas quiescentes) los que pueden persistir en el hígado (si no se trata) y causar recidivas. Durante la fase pre-eritrocítica, el parásito no causa signos y síntomas clínicos en el humano. Luego de la replicación inicial en el hígado, los hepatocitos infectados se lisan y liberan merozoitos, cada uno de los cuales va a invadir un glóbulo rojo, donde se producirá la multiplicación asexual en los eritrocitos (esquizogonía eritrocítica). Los trofozoítos (con forma de anillo) maduran en esquizontes y los glóbulos rojos se lisan liberando merozoítos, lo que provoca un aumento de mediadores pro-inflamatorios provocando fiebre, escalofríos y malestar característico, siendo los estadios parasitarios de la fase eritrocítica los responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Durante los ciclos de replicación, algunos merozoitos se diferencian en estadios sexuales: los gametocitos masculinos (microgametocitos) y los femeninos (macrogametocitos), los que serán ingeridos por el mosquito hembra *Anopheles* durante su alimentación. En el estómago del mosquito, los microgametos se fusionan con los macrogametos generando cigotos (reproducción sexual). Estos últimos son móviles y alargados (ookinetos) e invaden la pared del intestino medio del mosquito donde se convierten en ooquistes, que se multiplican, rompen y liberan esporozoitos (esporogonia) que llegan hasta las glándulas salivales. Cuando el mosquito ingiere sangre de otro ser humano, inocula saliva junto con los esporozoitos, que migran al hígado, perpetuando así el ciclo de vida del parásito (4).

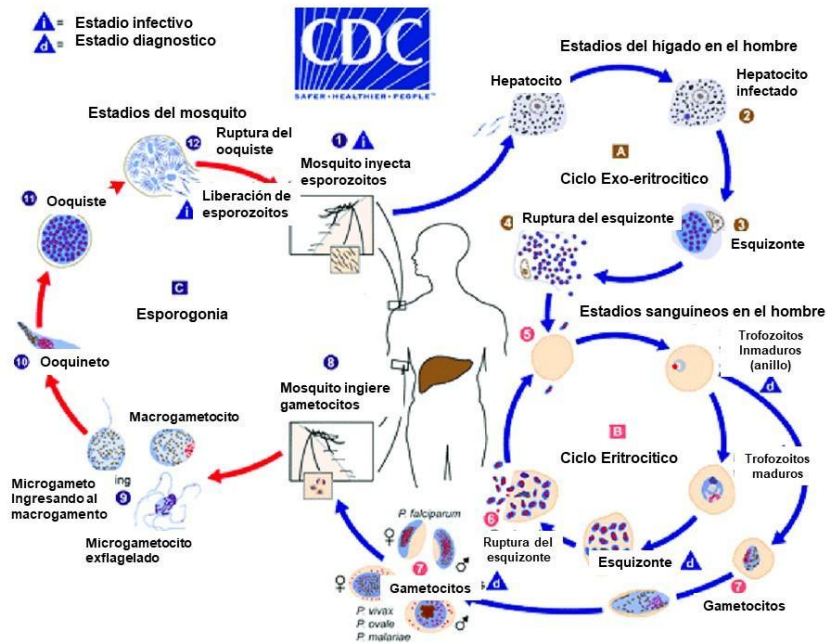


Figura 2: Ciclo de vida de *Plasmodium* spp.

Extraído y modificado del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) (4).

Vías de transmisión

Además de la transmisión vectorial, que es la más relevante, el segundo lugar lo ocupa, la vía transfusional la cual es la más importante generadora de nuevos casos tanto en áreas endémicas como no endémicas (3,4). Una tercera vía de relevancia es la congénita, donde el paludismo se puede adquirir verticalmente cuando los parásitos atraviesan la placenta durante el embarazo o por vía con-natal en el momento del parto (5).

Paludismo transmitido por transfusiones (PTT).

Las transfusiones se reconocieron como una fuente de infección de microorganismos antes de 1941 con la descripción de la sífilis transmitida por transfusión y se estableció la detección de esta infección en los donantes de sangre antes de que los bancos de sangre se hicieran comunes. Los parásitos de las diferentes especies de *Plasmodium* parecerían ser una de las primeras, si no la primera infección transmitida por transfusiones que fue descrita en 1911 (6).

El paludismo transmitido por transfusiones (PTT) es una vía accidental alternativa de infección causada por la transfusión de sangre entera o hemocomponentes de un donante infectado que posee parásitos del género *Plasmodium* a un receptor sano. La infección puede ser responsable del desarrollo de síntomas clínicos severos en los receptores, especialmente en individuos sin contacto previo con este parásito o inmunocomprometidos y puede convertirse en una amenaza para la vida (7).

En relación con datos sobre la prevalencia del paludismo en la población de donantes de sangre, la mediana mundial de esta parasitosis fue del 10,54 % por microscopía, del 5,36 % por técnicas moleculares y del 0,38 % por pruebas de diagnóstico rápido (**PDR**) y la prevalencia más alta se observó en Nigeria principalmente debido al aumento del número de mosquitos vectores (8).

Si bien la frecuencia de esta vía de transmisión es muy baja en áreas no endémicas, se han notificado casos de paludismo asociados a transfusiones en muchas partes del mundo, incluidos los Estados Unidos de América (**EUA**), Canadá, España, Inglaterra y Francia (9). Aunque se desconocen los números exactos, la frecuencia de PTT se ha estimado en 1 caso por cada 4 millones de unidades donadas en áreas no endémicas. Por el contrario, el riesgo de PTT en áreas endémicas puede ser alto y los sistemas de salud necesitan medidas alternativas para prevenirla, incluidas herramientas para detectar el parásito en potenciales donantes. Además, la urbanización de las áreas de transmisión de malaria en países donde la enfermedad es endémica ha contribuido a aumentar la posibilidad de transmisión accidental de infecciones por *Plasmodium* a través de transfusiones de sangre (9).

Inmunidad Natural contra el paludismo

La inmunidad adquirida naturalmente contra el paludismo es desarrollada progresivamente por individuos que viven en áreas endémicas de esta parasitosis y resulta de las repetidas inoculaciones del parásito por parte del mosquito vector *Anopheles spp.* Sin embargo, la inmunidad natural adquirida no puede considerarse una inmunidad estéril, ya que no evita la infección por el parásito, pero sí otorga cierta protección frente a las manifestaciones y complicaciones clínicas que pueden darse por las altas parasitemias.

En este sentido, es importante destacar que los niños menores de 5 años, mujeres embarazadas, pacientes inmunocomprometidos y esplenectomizados son especialmente vulnerables a la infección por paludismo, así como las personas sanas sin contacto previo con *Plasmodium* por vivir en áreas no endémicas (10). Se ha propuesto recientemente que la vacuna RTS, S/AS01 (nombre comercial Mosquirix™) podría favorecer la adquisición de inmunidad natural contra el paludismo (11).

Respuesta Inmune contra el paludismo

La respuesta inmune innata, que se inicia frente a la infección por *Plasmodium spp.*, es clave tanto para el desarrollo de la inmunidad protectora como en la patogenia. Durante la fase eritrocítica y en respuesta a la presencia del parásito, el sistema inmune del hospedero produce citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-8, IFN- γ y TNF-alfa), que desempeñan un papel fundamental en el control del crecimiento y eliminación del parásito. A medida que avanza la infección, las citocinas reguladoras, como el factor de crecimiento transformante Beta (TGF- β) y la IL-10, mantienen el equilibrio entre las respuestas proinflamatorias y antiinflamatorias. Sin embargo, en muchos

casos, las citoquinas tienen un doble papel: por un lado, contribuyen a la eliminación de parásitos y por el otro, son responsables de contribuir en la patogénesis del paludismo (12).

Presentación clínica

El grado de evolución clínica y parasitológica de los individuos infectados depende de la interacción de factores relacionados con el parásito (especies de *Plasmodium*, cepas, inóculo, resistencia a tratamiento farmacológico específico, etc) y con el paciente (inmunidad previa, resistencia natural a la infección por bagaje genético, quimiopprofilaxis, residencia en zonas endémicas, etc) (10).

El paludismo puede manifestarse desde infecciones asintomáticas o leves hasta graves síntomas, que pueden evolucionar a casos letales. Entre los síntomas más frecuentes se observa: fiebre, malestar general similar a la influenza, escalofríos con temblor, dolores de cabeza, dolores musculares y cansancio, también pueden aparecer náuseas, vómitos y diarrea. Es importante recordar que la anemia e ictericia que se da en el paludismo es debida a la lisis de glóbulos rojos causada por la replicación del parásito durante el ciclo eritrocítico.

Con respecto a *P. falciparum*, la especie que puede desarrollar las formas clínicas más graves, su presentación puede variar desde asintomática, presentar fiebre y otros síntomas inespecíficos en el paludismo no complicado, o mostrar uno o varios signos de enfermedad grave que conducen al paludismo cerebral, anemia grave, coma, enfermedad pulmonar, edema o acidosis metabólica.

La infección primaria por *P. falciparum* o *P. vivax* en individuos no inmunes conduce a un alto pico de parasitemia, cuyos síntomas clínicos ocurren con una parasitemia relativamente baja en este grupo de pacientes (10). Estas últimas son particularmente desafiantes en entornos no endémicos y aquellos países que se acercan a la eliminación, ya que aún en bajas densidades de parásitos pueden transmitir la infección, siendo poco probable que pueda ser diagnosticada (2).

Diagnóstico

El examen microscópico de frotis de sangre periférica fue la primera técnica empleada en el diagnóstico del paludismo y sigue siendo hoy la más utilizada. El diagnóstico por microscopía es el método “estándar de oro” ya que permite la identificación rápida y económica de las diversas especies y estadios parasitarios en los frotis de sangre (y gotas gruesas) teñidos con Giemsa y la cuantificación de parásitos en sangre periférica (parasitemia) para monitorear a los pacientes con paludismo, incluido el seguimiento durante tratamiento específico (13).

Para mejorar la detección de parásitos en el frotis de sangre, se pueden utilizar métodos alternativos como la tinción con colorantes fluorescentes que tienen afinidad por el ácido desoxirribonucleico (**ADN**) por ej: naranja de acridina, directamente en frotis de sangre o utilizando una capa leucocitaria, método de concentración asociado con la tinción fluorescente (**QBC**).

Es importante destacar que la microscopía requiere habilidades específicas rara vez disponibles en entornos no endémicos, especialmente cuando se presentan casos de infección mixta o submicroscópica. Aunque la microscopía sigue siendo el método estándar de oro, la mayoría de los laboratorios ubicados en países no endémicos han evaluado otras técnicas que pueden usarse para el diagnóstico (13).

Las pruebas de diagnóstico rápido (**RDT**, por sus siglas en inglés) son dispositivos inmunocromatográficos que representan una alternativa rápida (15–20 min) y económica, que permiten establecer el diagnóstico de infección palúdica mediante la detección de uno o más antígenos parasitarios específicos en sangre. La gran mayoría de las RDT actualmente disponibles y utilizadas detectan la proteína rica en histidina 2 de *P. falciparum* (HRP-2), específica para la detección de esa especie en particular y también utilizan lactato deshidrogenasa (LDH) y aldolasa, enzimas glicolíticas presentes en todas las especies de *Plasmodium*, siendo el límite de detección de aproximadamente 200–2000 parásitos por μL de sangre (14).

Si bien existe una amplia variedad de diferentes ensayos comerciales; se considera que las RDT son herramientas de apoyo útiles para el diagnóstico del paludismo en áreas no endémicas. Aunque no pueden ser utilizados como métodos de diagnóstico únicos, las RDT permiten una interpretación rápida y fácil de realizar, especialmente si no se cuenta con un microscopista capacitado en casos de paludismo potencialmente mortales. Sin embargo, si el resultado es negativo, no se puede descartar la infección (13).

Con respecto al diagnóstico serológico, la detección de anticuerpos anti-*Plasmodium* se puede realizar utilizando varias técnicas y antígenos. Sin embargo, no es posible establecer una relación entre título de anticuerpos vs carga parasitaria y sumado al tiempo que requiere el desarrollo de anticuerpos y la persistencia de estos por años, las pruebas serológicas no son una forma práctica de diagnóstico del paludismo (15).

Si bien la microscopía sigue siendo el método de referencia por las razones descritas arriba y las RDT proporcionan un apoyo válido para diagnosticar el paludismo, los ensayos moleculares se han propuesto como método de confirmación. En particular, son cruciales en casos de parasitemia submicroscópica y cuando las características morfológicas se superponen, y/o cuando la morfología del parásito ha sido alterada por el tratamiento farmacológico o el almacenamiento inadecuado de la muestra (13,14).

Con respecto a las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, estas son al menos 10 veces más sensibles que la microscopía y han demostrado una mayor sensibilidad de aproximadamente 0,2 a 6 parásitos por μL de sangre, dependiendo del ensayo y la especie de *Plasmodium* involucrada (13).

Se han desarrollado varios métodos de diagnóstico molecular que amplifican el gen 18SrRNA. Este fue el primer gen diana considerado y continúa siendo referencia, ya que su elección se justifica en ser una secuencia específica de género conservada de aproximadamente 1,2 kb, que se presenta en 5-8 copias por genoma de *Plasmodium* (13).

Otras pruebas de amplificación de ácidos nucleicos recientemente desarrolladas incluyen genes diana adicionales, como el ADN mitocondrial (**ADNmt**), que permite la detección de todas las especies de *Plasmodium* que infectan al humano junto con 18S-rRNA. También se han desarrollado ensayos sobre otros genes que permiten la detección de una sola especie, como *P. falciparum* stevor de familia mutagénica, elemento repetitivo asociado a telómeros 2 (TARE-2) y secuencia Pvr64 de *P. vivax* (16).

En particular, se desarrolló una reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**) de un solo paso para detectar *P. falciparum* y *P. vivax* en la que se diseñaron cebadores específicos para hibridar secuencias de ADNmt con genes de citocromo c oxidasa de *P. falciparum* (cox III) y *P. vivax* (cox I) (17).

La PCR convencional ha sido el punto de partida para ensayos más sensibles, específicos y complejos como la PCR anidada y la aplicación de Southern blot para la identificación de especies de *Plasmodium*. El desarrollo de nuevos protocolos de PCR permitirá simplificar el análisis y reducir la posibilidad de contaminación y resultados falsos positivos. En este sentido, estas desventajas podrían ser mejoradas con el desarrollo de técnicas más robustas, como en la PCR en tiempo real. Estos ensayos son muy sensibles y específicos, sobre todo en muestras con bajos niveles de parasitemia y se realizan en un sistema cerrado donde no se requiere manipulación post-PCR, limitando la posibilidad de contaminación (13,18).

Otro de los desarrollos promisorios como alternativa a los métodos de diagnóstico convencionales del paludismo basado en PCR es la amplificación isotérmica mediada por bucle de ADN (**LAMP**) que reduce el tiempo de análisis y asegura un proceso de diagnóstico técnico simple con alta sensibilidad. La naturaleza isotérmica de la reacción LAMP elimina la necesidad de costosos termocicladores (19).

Paludismo post transfusional

Como ya hemos discutido, el PTT es un problema importante en la salud pública, especialmente en áreas no endémicas donde las personas no tienen inmunidad previa contra este parásito, representando un riesgo para los Servicios de Sangre (9). En los últimos 40 años, el incremento de la frecuencia de las transfusiones de sangre en la práctica médica y el aumento de los viajes entre países endémicos y no endémicos ha dado lugar a un problema clínico y de salud pública (20).

Es importante destacar que los pacientes que requieren transfusión de sangre son en general una población vulnerable, pero, a pesar del riesgo para los receptores, el PTT ha recibido poca atención por parte de las autoridades sanitarias (2).

En áreas hiperendémicas, como en África subsahariana, en donde la mayoría de los países no cuentan con Servicios de Sangre centralizados y los donantes de sangre son principalmente de reposición, el PTT es una de las infecciones asociadas a transfusiones más importante (21).

P. falciparum, *P. vivax* y *P. malariae* son las especies detectadas con mayor frecuencia en PTT. Existen aspectos de la biología del parásito que hacen posible esta ruta accidental de infección, como la persistencia de la infección: *P. falciparum* durante al menos 1 año antes de eliminarse, *P. vivax* durante 3 años, mientras que se sabe que *P. malariae* permanece como una infección crónica a baja densidad durante décadas sin sintomatología (22).

En cuanto a los componentes que transmiten PTT, la sangre total y los concentrados de glóbulos rojos fueron por supuesto las fuentes más comunes, con el 94% del total de casos notificados; mientras que el plasma fresco congelado y los concentrados plaquetarios pueden transmitir con poca frecuencia la infección (2).

Todas las especies de *Plasmodium* pueden sobrevivir en sangre almacenada, incluso si está congelada (22) y conservan su viabilidad posiblemente hasta 18 días, según las condiciones de almacenamiento (8).

Una revisión sistemática encontró que el período de incubación de PTT fue más prolongado que por la infección natural, lo que podría deberse a parasitemias bajas en los componentes transfundidos (21).

Una diferencia importante entre la infección natural y la PTT es que la primera pasa por una fase inicial asintomática (pre-eritrocítica) que permite la activación de las células de inmunidad innata frente a los parásitos. Esta fase temprana, como ya hemos discutido, le da tiempo al huésped para desarrollar una inmunidad protectora más específica. Las transfusiones de sangre infectadas liberan directamente los parásitos en el torrente sanguíneo del receptor, lo que desencadena el desarrollo de complicaciones de alto riesgo y conduce potencialmente a un desenlace fatal.

La principal preocupación con respecto a la PTT en comparación con la infección natural es que los pacientes infectados por transfusión pueden presentar complicaciones graves tardías. Esto podría conducir a desenlaces fatales en niños, ancianos y pacientes embarazadas o inmunodeprimidos (21).

¿Cómo minimizar el riesgo de PTT?

En áreas no endémicas, el primer paso en la cadena de suministro de sangre es un cuestionario epidemiológico para evaluar el riesgo, lo que puede resultar en un diferimiento para dos grupos de personas: los que nacieron y vivieron durante varios años en áreas endémicas y los que han visitado dichas áreas. La selección de donantes de sangre y las instrucciones de diferimiento son los pasos fundamentales para garantizar la seguridad y prevenir las infecciones transmisibles por transfusión. Comprender los factores de riesgo y el momento de la enfermedad es clave en el proceso de selección de donantes.

El riesgo de la transfusión se puede abordar difiriendo a los donantes durante el tiempo suficiente para desarrollar síntomas o resolver la infección después del viaje, o analizando a los donantes en riesgo después de un período de

diferimiento más breve. El primer país en implementar pruebas selectivas fue Francia en 1986 seguido de Inglaterra en 1997 y Australia en 2005, así como varios otros países (23).

En áreas endémicas, aunque la mayoría de los receptores de sangre están expuestos, se desconoce el impacto clínico del PTT en estos entornos y las pautas internacionales recomiendan la detección de paludismo en donantes de sangre (8). Las normativas de la OMS sobre la selección de donantes de sangre enfatizan la importancia de implementar herramientas de detección adaptadas al contexto local para todas las infecciones transmisibles por transfusiones (24).

En cuanto a los viajes en general, el trasladarse a áreas en las que las infecciones zoonóticas y las transmitidas por vectores son prevalentes, puede exponer en forma inadvertida a paludismo, leishmaniasis, fiebre amarilla, dengue, brucelosis, etc. y estos agentes patógenos pueden producir infecciones asintomáticas que podrían transmitirse por transfusión. Por esta razón, la Organización Panamericana de la Salud (**OPS**) recomienda que los donantes potenciales que han realizado viajes a zonas endémicas para infecciones transmisibles deben, ser diferidos de acuerdo con la infección a la que han estado expuestos (24). Los lugares de donación de sangre deben contar con una lista en orden alfabético de países, zonas y ciudades para que, cada vez que un donante comunique un viaje, el entrevistador pueda consultarla y tomar una decisión.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre (**AABB**) requiere que se analice la historia de viajes del donante para determinar si existe algún riesgo potencial. La Cruz Roja Australiana (**ARC**) establece tres áreas relacionadas con riesgo de infecciones asociadas a viajes. Estas son las zonas endémicas de paludismo, las de alta prevalencia de HIV y en las que está presente la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (**nvCJ**). El Consejo de Europa (**CoE**) requiere que se pregunte al donante en qué país nació, creció o ha visitado. Cada Servicio de Sangre debe disponer de un mapa de las zonas endémicas y una lista de los países de riesgo en orden alfabético. Recomienda el testeo en las áreas en las cuales las políticas de diferimiento afecten el suministro de sangre. Por último, Hema – Quebec (**H-Q**) requiere el diferimiento permanente de personas que hayan pasado un mes o más en el Reino Unido, entre 1980 y 1996 por la nvCJ y establece que quienes viajen a países en donde el paludismo es endémico deben diferirse en forma permanente (24).

En cuanto a los requerimientos para los donantes que han viajado a áreas endémicas de paludismo los diferentes organismos establecen lo siguiente:

La AABB (25), los Estándares de la Región del Caribe (**CRS**) (26) y el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (**CDC**) (27) difieren a los donantes hasta que se cumplan 12 meses de haber dejado el área endémica, siempre que no presenten síntomas. En el caso de individuos procedentes o que han vivido por lo menos cinco años consecutivos en un país endémico, los mismos son diferidos durante tres años. En caso de que el potencial donante haya presentado síntomas o haya sido diagnosticado de paludismo, se difiere por tres años después de la desaparición de estos.

Para la CoE, los Servicios de Sangre deben tener acceso a un mapa o lista actualizada de áreas endémicas y períodos estacionales de riesgo. Se debe consultar a los donantes sobre el país en que ha nacido, ha vivido o visitado y si se utiliza sólo plasma para fraccionamiento no se realiza diferimiento (28).

Las personas que han vivido en áreas endémicas dentro de sus primeros cinco años de vida pueden ser aceptadas como donantes después de seis meses de su última visita a la zona endémica, siempre y cuando los resultados de las pruebas inmunológicas validadas o de biología molecular resulten negativas.

Si la prueba resulta positiva, el donante es diferido y puede ser reevaluado después de un período adecuado cuando la prueba de anticuerpos haya vuelto a ser negativa (se sugiere un período de 3 años). Si las pruebas no están disponibles, el donante debe ser diferido hasta que se realice la prueba y sea negativa. Todas las personas pueden ser aceptadas después de pasados seis meses del retorno si no tuvieron episodios febriles durante su estadía en la zona en cuestión.

Para individuos con diagnóstico de paludismo el diferimiento se mantiene hasta que la persona esté asintomática y haya finalizado el tratamiento, y en ocasiones se excluyen definitivamente o por un periodo de 3 a 5 años. Los períodos de diferimiento y las pruebas de laboratorio mencionadas pueden ser omitidos cuando los glóbulos rojos son descartados y solo es utilizado el plasma para el fraccionamiento industrial.

ARC: En Australia, no se realiza tamizaje de rutina para paludismo, pero si para donantes "en riesgo". Esto incluye a los donantes con antecedentes de viaje o residencia en países donde esta parasitosis es endémica, así como aquellos con antecedentes de infección previa. El tamizaje dirigido se realiza por ensayos serológicos y no de biología molecular, lo que permite recuperar significativamente componentes sanguíneos celulares (glóbulos rojos y plaquetas), ya que antes de la implementación de dichas pruebas sólo podía utilizarse el plasma para fraccionamiento. Anualmente, es posible recuperar aproximadamente 65.000 glóbulos rojos y 7.000 plaquetas gracias a la realización de los estudios serológicos contra el paludismo. Dado que los anticuerpos contra la malaria pueden indicar infección reciente o pasada, todos los donantes reactivos reciben asesoramiento médico (29).

En Brasil, en áreas no endémicas, los candidatos no son aceptados como donantes si provienen de área endémica (índice anual de parásitos mayor a 49 casos/ 10.000 habitantes), si han estado en ellas en los últimos 6 meses o han tenido paludismo en los últimos 3 años, mientras que, en áreas con transmisión activa, debe estudiarse la presencia de *Plasmodium* (30).

En Argentina, el riesgo de paludismo postransfusional está ligado esencialmente, a los viajeros que visitan zonas endémicas y a los inmigrantes que provienen de zonas endémicas (31). Las personas nacidas en países donde el paludismo es endémico no pueden ser aceptadas como donantes hasta que hayan transcurrido 3 años desde su llegada, y siempre que durante este periodo hayan permanecido libres de síntomas. Igualmente, estas personas deberán ser excluidas durante 3 años después de cada visita a su

país de nacimiento o a otro donde el paludismo sea endémico. Por otra parte, toda persona que ha visitado un área donde el paludismo es endémico, puede ser aceptada como donante 12 meses después de su regreso, si no ha presentado síntomas febriles; si los ha presentado, no podrá ser aceptada como donante hasta que hayan transcurrido un mínimo de 3 años libres de síntomas. Por último, los donantes diagnosticados de paludismo en el pasado serán excluidos de la donación hasta transcurridos 3 años sin tratamiento y libres de síntomas de la enfermedad.

Las regulaciones de la OMS sobre donación de sangre deben reforzarse, ya que muchos de los informes de casos de PTT observados, incluso en el lapso transcurrido desde que se implementaron las pautas de seguridad de la sangre podrían haberse evitado si esas pautas se hubieran aplicado con rigor. Por lo tanto, se deben combinar diferentes estrategias para garantizar la seguridad de las transfusiones de sangre, es decir, la detección de donantes de sangre mediante herramientas de diagnóstico apropiadas, que probablemente deberían incluir pruebas moleculares y posiblemente la inactivación de parásitos en el suministro de sangre (22).

En un metaanálisis realizado en países de América (2), en cuanto a las razones para el diferimiento, las más frecuentes en países no endémicos, fueron los viajes o la residencia en países que sí lo son. En los EUA, los datos indicaron una tasa de diferimiento del 1,1% debido a la presunta exposición a paludismo. En 2006, el viajar a países endémicos fue causa del 16,2% de los diferimientos de donantes en seis servicios de sangre. En Canadá, los datos nacionales estimaron una tasa de postergación de la donación entre el 3% y el 4,7%.

El mayor riesgo de PTT proviene de las personas nacidas en áreas endémicas que presentan baja inmunidad, pero el mayor impacto en el suministro de sangre proviene de los viajes a corto plazo de bajo riesgo (23).

En São Paulo, Brasil, en área no endémica, los sujetos con antecedentes de viajes a áreas endémicas sin profilaxis en los últimos 6 meses, que viven en áreas endémicas de paludismo y los que presentaron la enfermedad se consideran no elegibles, dando lugar a una tasa de diferimiento del 3%. En las áreas endémicas de la Amazonía brasileña, las tasas de donación diferida fueron variables, llegando al 11,7% (2).

Tamizaje

En cuanto a los estudios en Servicios de Sangre, no hay ningún ensayo disponible para detectar sangre con parasitemia baja que sea lo suficientemente sensible, práctico y asequible para los países en desarrollo en áreas endémicas.

Como ya discutimos, la microscopía es el método "gold standard" para el diagnóstico del paludismo, si bien es económica, no permite trazabilidad ni automatización en los Servicios de Sangre y requiere mucho tiempo, presenta baja sensibilidad y depende de personal altamente capacitado y del equipo apropiado (2,32). Por otra parte, las pruebas de diagnóstico rápido, aunque más rápidas y sencillas y que no requieren de instrumental ni personal especializado, no ofrecen una mejora sustancial de la sensibilidad en comparación con la microscopía (33).

Comparando ambas metodologías, Mwenda y col (34) demostraron que la sensibilidad es mayor para las pruebas rápidas comparadas con la microscopía, pero la especificidad, los valores predictivos y precisión fueron menores. Los métodos moleculares, en comparación con la microscopía, han demostrado mayor sensibilidad y especificidad para infecciones mixtas (32,33).

Está claro que los estudios moleculares son los ideales para conseguir tanto el aumento de sensibilidad detectando pequeñas concentraciones de parásitos, como la trazabilidad requerida en los Servicios de Sangre (30).

Freitas y col. utilizaron “pooles” de muestras de donantes de sangre para la realización de PCR anidada y comprobaron que fueron capaces de detectar 40 veces más parásitos que con la técnica de microscopía tradicional (37).

También se ha utilizado en Servicios de Sangre el método de PCR en tiempo real basado en mtDNA, que como ya describimos, es capaz de detectar todas las especies de *Plasmodium* (9). La sensibilidad analítica fue de 0.000006 parásitos/ μ L detectándose mtDNA en 10 de 2.224 donantes asintomáticos (0.45%).

Lima y col. (38) examinaron 4 ensayos moleculares en muestras evaluadas previamente por expertos en estudios por microscopía, comprobando la mayor sensibilidad de las pruebas moleculares; además que la estrategia de “pooleo” no afectó la sensibilidad ni especificidad.

En la década de 1990, algunos países comenzaron a implementar el uso de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (**NAT**) para detección de VIH, VHC y VHB en Servicios de Sangre. Esta medida que disminuye el riesgo de transmisión de estos virus por vía transfusional se está difundiendo cada vez más. Recientemente, Rocha y col (20) desarrollaron y validaron un prototipo de ensayo NAT de VIH/VHC/VHB/paludismo, detectando el gen 18S rRNA; incorporando así la detección de paludismo en una plataforma que actualmente se utiliza en el tamizaje de HIV y hepatitis virales en Servicios de Sangre en Brasil. Como ya discutimos, el objetivo del gen 18S rRNA es una elección basada en su alta conservación de secuencia y el hecho de que se sabe que cada parásito alberga cinco copias de dicho gen (39). Este ensayo de NAT presentó una especificidad del 99,8%-100%, la sensibilidad fue del 92,45%-100% y la precisión del 99,8%-100%.

Recientemente, en 2021, se ha publicado un artículo realizado en Camerún en el cual se estudió en donantes de sangre asintomáticos, el desempeño de LAMP, la sencilla reacción molecular isotérmica que ya hemos descrito, comparándola con la microscopía y el test rápido (40).

En 256 donantes, el 14,1% fue positivo por microscopía, el 14,8% por la prueba rápida, mientras que el 30,5% lo fue por RT-LAMP, demostrando la utilidad del método molecular. El hecho de haber detectado más del doble de los positivos debe atribuirse a su mayor capacidad para detectar parasitemias más bajas (0.08 parásitos por microlitro de sangre entera).

Como conclusión de los trabajos discutidos, queda clara la necesidad de implementar técnicas moleculares en el tamizaje de donantes de sangre en áreas endémicas.

Inactivación de patógenos

En cuanto a los mecanismos de inactivación, se ha demostrado que los parásitos son muy sensibles a las medidas de reducción de patógenos.

Desde hace muchos años se ha comprobado que el violeta de genciana es eficaz para inactivar a *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, en unidades de sangre, y se ha sugerido su posible acción contra *P. falciparum* en forma similar en la prevención de la transmisión de PTT (41).

En un estudio con tratamiento fotoquímico y luz ultravioleta (UV) evaluaron la eficacia de amotosaleno y UV en glóbulos rojos, concentrado plaquetario y plasma fresco congelado contaminados con *P. falciparum* y *Babesia microti*. Luego del tratamiento, la inactivación fue mayor a 5.3 log (42).

En Ghana, se realizó un ensayo clínico aleatorizado, controlado, en el cual fueron incluidos 223 pacientes, de los cuales 111 recibieron componentes sanguíneos tratados. Se demostró la eficacia y seguridad con la reducción de patógenos en la sangre total utilizando UV y riboflavina (sistema Mirasol) para prevenir el PTT (43). La incidencia de PTT en un área endémica fue significativamente menor en el grupo de pacientes que recibieron hemocomponentes inactivados.

Tratamiento antipalúdico

Otro enfoque potencial para reducir la tasa de PTT sería el tratamiento con antipalúdicos, ya sea agregados a las bolsas de sangre *in vitro*, administrados a los receptores de transfusiones o a grupos de alto riesgo específicos (32).

Un estudio en área endémica encontró que la administración de quimio prevención por 3 meses, después del alta hospitalaria en niños ingresados con anemia palúdica grave, evitó el 40 % de las muertes o los reingresos hospitalarios (44).

Además, en otro estudio, se observa que la quimio prevención reduciría las reinfecciones por paludismo en los niños que reciben transfusiones de sangre (45). Esta situación podría extenderse a la PTT y por otra parte, la quimio prevención reduciría las reinfecciones en niños que deberían recibir transfusiones.

Vacunación

La vacuna RTS, S / AS01 AS01 (nombre comercial Mosquirix™) (11), es la primera vacuna de proteínas recombinantes que fue aprobada para su uso en humanos en 2015 para la prevención de la malaria causada por *Plasmodium falciparum*, especie prevalente en África subsahariana. Es una herramienta complementaria de control del paludismo que podría sumarse (y no reemplazar) al paquete básico de medidas preventivas, de diagnóstico y de tratamiento recomendadas por la OMS. La vacuna fue desarrollada a través de una colaboración entre GlaxoSmithKline y el Instituto de Investigación del Ejército Walter Reed y fue financiada en parte por la Iniciativa de Vacuna contra la Malaria PATH y la Fundación Bill & Melinda Gates. Su eficacia oscila entre el 26% y el 50% en bebés y niños pequeños.

En 2015, el Grupo Asesor Estratégico sobre Inmunización (**SAGE**) de la OMS y el Comité Asesor de Políticas de Malaria (**MPAC**) recomendaron conjuntamente una implementación piloto de la vacuna en África. Este proyecto piloto de vacunación se lanzó en 2019 en 3 países del África subsahariana: Ghana, Kenia y Malawi, los que están liderando la introducción de la vacuna en áreas seleccionadas de transmisión de malaria de moderada a alta como parte de un programa piloto a gran escala coordinado por la OMS.

La vacuna RTS, S es considerada una vacuna pre-eritrocítica al interferir a que los esporozoitos infecten las células del hígado ya que esta expresa fragmentos repetitivos de la región central y C-t de la proteína del circumsporozoito (proteína de superficie del esporozoito de *P. falciparum*). Se suman monómeros del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) que se fusionan con el CSP truncado y sirven como “portadores” de proteínas. Contiene además tres epítopes de células T conocidos tanto de células T CD4 como de células T CD8 para estimular la respuesta inmune. La vacuna no ofrece protección contra la malaria por *P. vivax*, que predomina en muchos países fuera de África (11).

La vacuna RTS, S / AS01 podría favorecer la adquisición de inmunidad natural contra el paludismo (11), promoviendo en los individuos vacunados cierta protección frente a las manifestaciones y complicaciones clínicas que pueden darse por las altas parasitemias, sobre todo en niños menores de 5 años y otros pacientes de riesgo que hemos mencionado. La relación entre la dosis de patógenos y la transmisión de enfermedades puede tener importantes implicaciones para la epidemiología de la enfermedad, la transmisión en el campo y el impacto de la vacunación. Parece intuitivo que la transmisión aumentará con el tamaño del inóculo, aunque hay poca evidencia empírica para apoyar esta suposición y no hay evidencia directa en el caso del paludismo humano (46).

En este sentido, se espera que la vacunación permita disminuir los casos graves de paludismo en zonas endémicas, hecho que podría reducir la necesidad de realizar transfusiones en casos de anemia grave, con los riesgos que esto implica en regiones donde gran parte de la población posee esta infección. Más aún, los receptores de sangre, al estar vacunados podrían poseer una inmunidad previa que minimice la gravedad de la infección, tal como acabamos de discutir.

Malaria en el contexto de la pandemia de COVID-19

El Informe mundial sobre el paludismo publicado a finales del 2021 que realizó la OMS (3) informa sobre la magnitud del daño causado por la pandemia de COVID-19 y su impacto en la respuesta contra el paludismo en el mundo y expone lo que se necesita para retomar el rumbo y acelerar los progresos en la lucha para el control de una de las enfermedades más antiguas y mortales. Se estima que en 2020 se produjeron 14 millones de casos y 47.000 muertes de malaria más que en 2019, debido a los trastornos sufridos por los servicios de salud durante la pandemia. Es importante destacar, que dicho incremento

podría haber sido mucho peor si no fuera por los esfuerzos para mantener los servicios en los países donde la malaria es endémica y que hubo logros tales como la certificación de China y El Salvador como libres de paludismo, así como la continuidad de programas en otros 25 países para acabar con la transmisión del paludismo para el 2025. Más aún, en octubre de 2021 la OMS recomendó el uso generalizado de la vacuna contra el paludismo RTS, S / AS01 para la prevención en niños que viven en regiones con una transmisión moderada a alta, hecho que permitirá salvar la vida de decenas de miles de niños cada año. Se ha demostrado que la vacuna tiene un perfil de seguridad favorable; reduce significativamente el paludismo grave y potencialmente mortal y puede administrarse eficazmente en entornos de vacunación infantil reales, incluso durante una pandemia.

Conclusión

El paludismo ha afligido a la humanidad durante milenios, y hoy en día debemos profundizar en la implementación y utilización de las nuevas herramientas de diagnóstico y prevención. Estas estrategias permitirán salvar muchas vidas y empezar a imaginar un mundo libre de paludismo.

Referencias

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Paludismo. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
2. Alho RM, Machado KVA, Val FFA, Fraiji NA, Alexandre MAA, Melo GC, et al. Alternative transmission routes in the malaria elimination era: an overview of transfusion-transmitted malaria in the Americas. *Malaria Journal*. 2017; 16(1):78.
3. World Health Organization. World Malaria report 2021. Geneva; 2021.
4. Center for Disease Control and Prevention. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria. Biology. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>.
5. Fried M, Duffy PE. Malaria during pregnancy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2017; 7(6):a025551.
6. Fong IW. Blood Transfusion-Associated Infections in the Twenty-First Century: New Challenges. En: *Current Trends and Concerns in Infectious Diseases. Emerging Infectious Diseases of the 21st Century*. Springer, Cham. 2020. p. 191–215.
7. Mangano VD, Perandin F, Tiberti N, Guerriero M, Migliaccio F, Prato M, et al. Risk of transfusion-transmitted malaria: Evaluation of commercial ELISA kits for the detection of anti-Plasmodium antibodies in candidate blood donors. *Malaria Journal*. 2019; 18(1):17.
8. Ahmadpour E, Foroutan-Rad M, Majidiani H, Moghaddam SM, Hatam-Nahavandi K, Hosseini SA, et al. Transfusion-transmitted malaria: A systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infectious Diseases*. Oxford University Press; 2019. Vol. 6:1–8.
9. Batista-dos-Santos SA, Freitas DRC, Raiol M, Cabral GF, Feio AC, Póvoa MM, et al. Strategy to improve malaria surveillance system preventing transfusion-transmitted malaria in blood banks using molecular diagnostic. *Malaria Journal*. 2018; 17(1):344.
10. Mischlinger J, Rönnerberg C, Álvarez-Martínez MJ, Bühler S, Paul M, Schlagenhauf P, et al. Imported Malaria in countries where malaria is not endemic: A comparison of semi-immune and nonimmune travelers. *Clinical Microbiology Reviews*. 2020; 33(2):e00104-19.
11. Laurens MB. RTS,S/AS01 vaccine (Mosquirix™): an overview. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2020;16(3):480-489.
12. Popa GL, Popa MI. Recent Advances in Understanding the Inflammatory Response in Malaria: A Review of the Dual Role of Cytokines. *Journal of Immunology Research*. 2021; 2021:7785180.
13. Calderaro A, Montecchini S, Buttrini M, Piccolo G, Rossi S, Arcangeletti MC, et al. Malaria diagnosis in non-endemic settings: The european experience in the last 22 years. *Microorganisms*. 2021; 9(11):2265.
14. Varo R, Balanza N, Mayor A, Bassat Q. Diagnosis of clinical malaria in endemic settings. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2021; 19(1):79-92.
15. Center for Disease Control and Prevention. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria. Malaria Diagnostic Tests. [Internet].

[Consultado Feb 2022]. Disponible en: https://www.cdc.gov/malaria/diagnosis_treatment/diagnostic_tools.html. 2020.

16. Zimmerman PA, Howes RE. Malaria diagnosis for malaria elimination. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2015; 28(5):446-454.

17. Cunha MG, Medina TS, Oliveira SG, Marinho AN, Póvoa MM, Ribeiro-dos-Santos AKC. Development of a Polymerase Chain Reaction (PCR) method based on amplification of mitochondrial DNA to detect *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. *Acta Tropica*. 2009; 111(1):35-38.

18. Haanshuus CG, Mørch K, Blomberg B, Strøm GEA, Langeland N, Hanevik K, et al. Assessment of malaria real-time PCR methods and application with focus on low-level parasitaemia. *PLoS ONE*. 2019; 14(7):e0218982.

19. Surabattula R, Vejandla MP, Mallepaddi PC, Faulstich K, Polavarapu R. Simple, rapid, inexpensive platform for the diagnosis of malaria by loop mediated isothermal amplification (LAMP). *Experimental Parasitology*. 2013; 134(3):333-340.

20. Rocha D, de Melo GC, Carneiro JMH, Ribeiro M, Ribeiro S, de Godoy DT, et al. Use of a NAT-based assay to improve the surveillance system and prevent transfusion-transmitted malaria in blood banks. *Malaria Journal*. 2020; 19(1):275.

21. Barro L, Drew VJ, Poda GG, Tagny CT, El-Ekiaby M, Owusu-Ofori S, et al. Blood transfusion in sub-Saharan Africa: understanding the missing gap and responding to present and future challenges. *Vox Sanguinis*. 2018; 113(8):726-736.

22. Verra F, Angheben A, Martello E, Giorli G, Perandin F, Bisoffi Z. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. Vol. 17, *Malaria Journal*. 2018; 17(1):36.

23. O'Brien SF, Delage G, Seed CR, Pillonel J, Fabra CC, Davison K, et al. The Epidemiology of Imported Malaria and Transfusion Policy in 5 Nonendemic Countries. *Transfusion Medicine Reviews*. 2015; 29(3):162-171.

24. Organización Panamericana de la Salud. Elegibilidad para la Donación de Sangre: Recomendaciones para la Educación y la Selección de Donantes Potenciales de Sangre". Washington, D.C.; 2009. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/elegibilidad-para-donacion-sangre-recomendaciones-para-educacion-seleccion-donantes>

25. Association for the Advancement of Blood & Biotherapies. Analysis of guidance for industry: recommendations for donor questioning, deferral, reentry and product management to reduce the risk of transfusion-transmitted malaria. 2013. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://www.aabb.org/regulatory-and-advocacy/regulatory-affairs/infectious-diseases/malaria/malaria-analysis-130819>

26. Duits AJ. Challenges for developing sustainable blood transfusion services in the Caribbean. *ISBT Science Series*. 2013; 8(1)217–220.

27. Center for Disease Control and Prevention. Global Health Division of Parasitic Diseases and Malaria. Blood donor screening. 2020. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: https://www.cdc.gov/malaria/blood_banks.html

28. Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 2020. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://www.edqm.eu/en/blood-guide>

29. Kirby Institute US, Australian Red Cross Lifeblood. Transfusion-transmissible infections in Australia: 2021 Surveillance Report. 2021. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://kirby.unsw.edu.au/report/transfusion-transmissible-infections-australia-surveillance-report-2021>
30. Lacerda MVG, Monteiro WM, Alexandre MAA, Alho RRM, Kiesslich D, Fraiji NA. We need to talk more about transfusion-transmitted malaria in Plasmodium vivax endemic areas. Vol. 36, Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2014; 36(6):385-387.
31. Ministerio de Salud de Argentina. Criterios para la selección de donantes de sangre. Segunda Edición, 2016. [Internet]. [Consultado Feb 2022]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000001172cnt-criterios-seleccion-donantes-2018.pdf>
32. Murphy KJ, Conroy AL, Ddungu H, Shrestha R, Kyeyune-Byabazaire D, Petersen MR, et al. Malaria parasitemia among blood donors in Uganda. Transfusion. 2020; 60(5):955-964.
33. Torres KL, dos Santos Moresco MN, Sales LR, da Silva Abranches J, Araújo Alexandre MA, Malheiro A. Transfusion-transmitted malaria in endemic zone: Epidemiological profile of blood donors at the Fundação HEMOAM and use of rapid diagnostic tests for malaria screening in Manaus. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2014; 36(4):269-274.
34. Mwenda MC, Fola AA, Ciobotariu II, Mulube C, Mambwe B, Kasaro R, et al. Performance evaluation of RDT, light microscopy, and PET-PCR for detecting Plasmodium falciparum malaria infections in the 2018 Zambia National Malaria Indicator Survey. Malaria Journal. 2021; 20(1):386.
35. Wu L, van den Hoogen LL, Slater H, Walker PGT, Ghani AC, Drakeley CJ, et al. Comparison of diagnostics for the detection of asymptomatic Plasmodium falciparum infections to inform control and elimination strategies. Nature. 2015; 528(7580):S86-S93.
36. Perandin F, Manca N, Calderaro A, Piccolo G, Galati L, Ricci L, et al. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection of Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, and Plasmodium ovale for Routine Clinical Diagnosis. Journal of Clinical Microbiology. 2004; 42(3):1214-1219.
37. Freitas DRC de, Gomes LT, Fontes CJF, Tauil PL, Pang LW, Duarte EC. Sensitivity of nested-PCR for plasmodium detection in pooled whole blood samples and its usefulness to blood donor screening in endemic areas. Transfusion and Apheresis Science. 2014; 50(2):242-246.
38. Lima GFMD, Lucchi NW, Silva-Flannery L, Macedo-De-Oliveira A, Hristov AD, Inoue J, et al. Still searching for a suitable molecular test to detect hidden Plasmodium infection: A proposal for blood donor screening in Brazil. PLoS ONE. 2016; 11(3):e0150391.
39. Wampfler R, Mwingira F, Javati S, Robinson L, Betuela I, Siba P, et al. Strategies for Detection of Plasmodium species Gametocytes. PLoS ONE. 2013; 8(9):e76316.
40. Kemleu SGZT, Ngando L, Nguenkeng E, Fogang B, Kapen MM, Fopa SI, et al. Diagnostic performance of a rapid whole blood-based RT-LAMP method for malaria diagnosis among apparently healthy blood donors and febrile neonates in Cameroon. PLoS ONE. 2021; 16(1):e0246205.
41. Yang SL, di Santi SM, Amato Neto V, Moreira AAB, Pinto PLS, Boulos M, et al. "In vitro" activity of gentian violet against asexual Plasmodium falciparum

parasites. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 1988; 30(1):17–20.

42. Grellier P, Benach J, Labaied M, Charneau S, Gil H, Monsalve G, et al. Photochemical inactivation with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light of Plasmodium and Babesia in platelet and plasma components. *Transfusion*. 2008;48(8):1676-1684.

43. Allain JP, Owusu-Ofori AK, Assennato SM, Marschner S, Goodrich RP, Owusu-Ofori S. Effect of Plasmodium inactivation in whole blood on the incidence of blood transfusion-transmitted malaria in endemic regions: The African Investigation of the Miasol System (AIMS) randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016; 387(10029):1753-1761.

44. Phiri K, Esan M, van Hensbroek MB, Khairallah C, Faragher B, ter Kuile FO. Intermittent preventive therapy for malaria with monthly artemether-lumefantrine for the post-discharge management of severe anaemia in children aged 4-59 months in southern Malawi: A multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2012; 12(3):191-200.

45. Kwambai TK, Dhabangi A, Idro R, Opoka R, Kariuki S, Samuels AM, et al. Malaria chemoprevention with monthly dihydroartemisinin-piperaquine for the post-discharge management of severe anaemia in children aged less than 5 years in Uganda and Kenya: Study protocol for a multi-centre, two-arm, randomised, placebo-controlled, superiority trial. *Trials*. 2018; 19(1):610.

46. Churcher TS, Sinden RE, Edwards NJ, Poulton ID, Rampling TW, Brock PM, et al. Probability of Transmission of Malaria from Mosquito to Human Is Regulated by Mosquito Parasite Density in Naïve and Vaccinated Hosts. *PLoS Pathogens*. 2017; 13(1):e1006108.