



OPS/DPC/CD/240/03
Original: Español

Guía práctica

para estudios *in vivo*

de eficacia de los medicamentos antimaláricos

en las Américas



(RAVREDA-AMI, octubre de 2003) *

* Documento actualizado con las recomendaciones de la Reunión Técnica: Monitoreo *in vivo* de la eficacia de medicamentos antimaláricos, Iquitos, Perú, del 29 de septiembre al 3 octubre de 2003. *Fecha de la versión anterior:* enero 2003.

Unidad de Enfermedades Transmisibles

Área 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 la Resistencia a las Drogas Antimaláricas/ *Amazon Malaria Initiative* (RAVREDA/AMI), integrado por las siguientes personas en los países indicados:

Trenton Ruebush	Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Estados Unidos
Juan Carlos Ávila Rodolfo Villaroel	Bolivia
César Díaz Efraín Beltrán	Ecuador
Wilmer Marquiño César Cabezas Salomón Durand Jorge Zegarra Carola Salas Javier Cairo Nancy Arróspide	Perú
Stephen Vreden	Suriname

La guía fue preparada bajo los auspicios de la Red Amazónica para la Vigilancia de la Resistencia a 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	1
Adecuación del protocolo estandarizado	2
Número de lugares de estudio	2
Selección de sitios para el estudio.....	3
El equipo de investigación.....	5
Coordinación del inicio del estudio	6
Preparación de insumos y materiales	7
Caja chica	7
Formatos y cuadernos de registro	8
Registro de febriles y de casos de malaria.....	8
Registro de citas para pacientes enrolados.....	8
Cuaderno de registro de laboratorio	9
Registro de gastos.....	10
La instalación del estudio	10
El enrolamiento y seguimiento de los pacientes.....	11
Preparación, manejo de las gotas gruesas	14
Preparación de las láminas y su codificación	14
Toma de muestras	14
Coloración.....	14
Transporte y almacenamiento de láminas	14
Microscopios	15
Contadores de células	15
Supervisión	15
Obtención de muestras para otras evaluaciones de laboratorio.....	15
Muestras para estudios de PCR.....	15
Muestras para estudios de niveles de concentración alcanzado por los antimaláricos o dosaje de metabolitos	15
La supervisión.....	16
Enrolamiento de pacientes	16
Seguimiento de los pacientes	16
Informe económico	17
Cerrando el estudio	17
Costo de estudios <i>in vivo</i>	18
Preparación de la base de datos.....	18
Anexo I: Lista de materiales e insumos de campo necesarios para un estudio <i>in vivo</i> de 60 pacientes.....	19
Anexo II: Formato para resumir resultados de gota gruesa	21

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* con falla terapéutica 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 basales 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 orientar cambios en la política de tratamiento de la malaria, debido a que se correlacionan 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. Debido a la baja transmisión de malaria en los países de las Américas, muchas veces hay dificultades para completar el tamaño muestral requerido 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 algunos 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 eficacia de los medicamentos antimaláricos realizados en Sudamérica en los últimos años. Se espera que las recomendaciones de esta guía, junto con los protocolos genéricos (ver abajo) coadyudará a la realización exitosa de los estudios *in vivo* con base en 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 por el estudio y de 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 han 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 la siguiente dirección: <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/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 se requiere que el investigador local encargado reemplace o complete las frases y los párrafos resaltados, ajustando el texto a la realidad de la epidemiología de la malaria y la farmacorresistencia en el país y a las características de la región y de 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 $\geq 20\text{-}25\%$ de fracasos terapéuticos, se puede limitar el estudio a 14 días de seguimiento para ahorrar tiempo y recursos. Por el contrario, si se va estudiar un medicamento o combinación de medicamentos del cual se esperan pocos fracasos, se debe extender el seguimiento a mínimo 28 días para detectar recrudescencias de parasitemia más tardías y niveles de resistencia más bajos.

Número de lugares de estudio

El número de 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 de 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 a 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 basales en una zona, un máximo de 2 a 3 sitios probablemente sería suficiente para conocer la distribución e intensidad de la resistencia. Muchas veces en estos estudios basales se escogen sitios cerca de las fronteras del país, pero esto no es absolutamente necesario. Para los estudios que forman parte de una red de vigilancia para la farmacorresistencia, asumiendo que existen datos basales, 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 con una frecuencia mayor de 2 a 3 años. Idealmente, en las áreas fronterizas, los países vecinos deben coordinar el monitoreo de la farmacorresistencia en forma intercalada entre los establecimientos de cada país, teniendo en cuenta los aspectos éticos y administrativos a cada lado de la frontera.

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 por *P. falciparum* o *P. 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 para los miembros del equipo; y,
4. la seguridad del equipo y disponibilidad de hospedaje y comida.

No se debe escoger un sitio para un estudio *in vivo* solamente porque es más accesible o más conveniente para el equipo de estudio. Es importante reconocer, también, que no se debe modificar o suspender las medidas de control de la malaria del Ministerio de Salud solamente para hacer el estudio.

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 hacer una visita de cortesía a las autoridades de salud regional y revisar los registros de malaria de los establecimientos 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 atender a los pacientes y hacer el diagnóstico microscópico, la existencia de luz (con el número de horas por día), teléfono o radio para comunicarse con su sede, y los medios de transporte disponibles. Vale la pena

también entrevistarse con el personal de los establecimientos 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 (½+ a +++) para indicar el nivel de parasitemia, en vez de hacer cálculos de la densidad parasitaria. Como regla general, se puede estimar que “½+” equivale a una densidad parasitaria de 250 parásitos/μL y “+” equivale a 500-1,000/μL. 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 30% 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 acudan 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 semi-privada 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.

Es recomendable también visitar algunas tiendas en la comunidad para ver si tienen fotocopiadoras y si venden cosas como dulces, papel higiénico, cuadernos, etc., que se puede comprar en la comunidad en vez de tener que traer todo al sitio cuando el estudio empieza.

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. Sin embargo, vale la pena incluir en el equipo uno de los encargados del establecimiento de salud local para ayudar con la supervisión y aprender los métodos, con la intención que esa persona pueda participar en estudios en el futuro en el mismo sitio.

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. En esta forma se puede institucionalizar la vigilancia de la farmacorresistencia en un país.

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 del médico nuevo se realizará antes de él 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.

En circunstancias excepcionales, como en una región muy aislada, es posible que un médico no pueda estar presente en todas las etapas del seguimiento de los pacientes, pero es necesario que si esté al momento del enrolamiento. Cuando el médico no esta presente durante el seguimiento, el equipo que queda a cargo debe conocer muy bien los signos de peligro de malaria grave y saber como atender al paciente hasta que pueda ser derivado a un hospital.

La enfermera o técnica de enfermería que tenga 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, especialmente a los niños menores, quienes pueden rechazarlos por su sabor amargo. Es recomendable que un miembro del equipo calcule la dosis de los medicamentos y que otro verifique el cálculo.

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 otro 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 o bacterias, precipitación del colorante, o la falta de deshemoglobinización 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 experimentado.

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 se comunique periódicamente con el personal del establecimiento para averiguar si el número de casos de malaria esta aumentando y será suficiente para el estudio. Si no es posible iniciar el estudio inmediatamente antes de la época de mayor transmisión, se deben 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. Teniendo en cuenta que debe preverse un tiempo para la compra y preparación de los insumos y materiales necesarios, el equipo debe hacer sus pedidos con unos 4-6 meses de anticipación y tener todo listo por lo menos 3-4 semanas antes de la fecha programada para comenzar el estudio. Es particularmente importante asegurar que los medicamentos antimaláricos que se van a estudiar vengan de una fuente confiable y sean de buena calidad. El encargado del estudio debe registrar la fuente y el número de lote de cada medicamento antimalárico usado. Si existe alguna duda acerca de la calidad del medicamento, es recomendable guardar una muestra para un análisis farmacéutico más tarde. 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 de 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. No se debe depender del establecimiento de salud para proporcionar los medicamentos. 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 por el estudio en el sitio centinela, esto, para el reembolso de costos de pasajes a los pacientes y para 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 a \$100- \$150.

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 de los pacientes febriles y con diagnóstico de malaria que se atienden diariamente en el establecimiento. En este registro se debe anotar si el diagnóstico de malaria fue positivo o negativo, si el paciente fue enrolado o no, y en dicho caso, 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. Además permitirá caracterizar a los pacientes atendidos por malaria en el sitio centinela, en cuanto a variables como signos de peligro, malaria grave, etc. 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 prever y controlar la carga de trabajo diario. Debido a la importancia de citar a los pacientes para sus controles en los días que corresponden, es crítico que las fechas en este cuaderno sean correctas, evitando saltar días del calendario o agregar días extras.

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	

*Día de seguimiento

**Código del paciente

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 las tablas 3 y 4:

Tabla 3: Registro de lecturas de gota gruesa

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		

También en este cuaderno se registra las densidades de las primeras y segundas lecturas efectuadas por los microscopistas. Esta información permitirá ver el grado de concordancia o discordancia de las lecturas y tomar la conducta adecuada según los criterios sobre control de calidad de la microscopia establecidos en el protocolo del estudio.

Tabla 4: Registro de primeras y segundas lecturas

ID #	Día	Fecha	Primera lectura asexuados	Segunda lectura asexuados	Tercera lectura	Promedio	Primera lectura gametocitos	Segunda lectura gametocitos	Tercera lectura gametocitos	Promedio	Observaciones
J001	D0	25-04-01	2163	1934	-	2049	-	-	-	-	
J002	D0	14-05-01	1693	510	594	552	-	-	-	-	
J003	D3	15-06-01	2569	2800	-	2685	5	4		5	
J004	D14	23-06-01	-	-	-	-	125	23	150	138	

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.

En los protocolos genéricos se incluye un ejemplar de la ficha clínica del paciente que contiene los datos mínimos que deben ser recolectados para hacer comparables los estudios en cada uno de los países de la región, pero los grupos de investigación podrían incluir en dicha ficha otros datos que consideren pertinentes, cuidando que contribuyan a los objetivos del estudio.

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 toman 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 pero si de tener mucho cuidado en determinar un área completamente limpia con uso de desinfectantes.

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 desechables para la administración de los medicamentos. Para evitar que los

pacientes tomen medicamentos con el estómago vacío, se deben tener 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. En el anexo 3 se muestra un ejemplo de flujograma.

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. Es recomendable leer la segunda lámina de gota gruesa dentro de las 24 horas de tomada.

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/ μ 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 esta densidad como límite 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/ μ 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 son por el trabajo, por residir en un lugar muy distante del establecimiento, por problemas familiares, o por viajes. Con la alta movilidad de las personas en 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. Debido al tiempo que el equipo tiene que invertir en buscar pacientes en sus casas, generalmente es preferible no enrolar estos pacientes en el inicio, 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, muchas veces es mejor no hacerlo, ya que al sentir mejoría de sus síntomas, pueden regresar a sus lugares de origen y abandonar el seguimiento.

No existe un límite mayor para el número de pacientes que se puede enrolar en un solo día, aunque la experiencia demuestra que, generalmente, es difícil incluir y seguir más de 5 pacientes por día cuando este ritmo de inclusión de pacientes se mantiene día tras día. Para un equipo no muy experimentado, es mejor empezar con unos 2-3 pacientes por día y mientras van ganando experiencia, aumentar el número de enrolados en cada jornada. Es útil elaborar una lista de chequeo para asegurar que el equipo cumpla adecuadamente con los requisitos del enrolamiento.

Para facilitar la comprensión del formato de consentimiento por los pacientes, particularmente para estudios comparando varios medicamentos antimaláricos, se puede elaborar un rotafolio que explique el estudio y sus procedimientos con figuras y gráficos de sencilla comprensión.

Las fichas clínicas deben ser llenadas cuidadosamente por el médico encargado del estudio, con buena letra. Si se cometen errores en el llenado de la ficha, estos deben tacharse con una línea sencilla, y sobrescribir la información correcta, registrando también la fecha y las iniciales del médico. El médico encargado tiene la responsabilidad de mantener las fichas de los pacientes al día, con todos los datos clínicos y de laboratorio y de guardarlas en un lugar seguro hasta que termine el estudio.

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 controles de los pacientes se hagan en los días de seguimiento indicados, es recomendable citar a los pacientes para sus controles para las primeras 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. Debido al problema de buscar en las horas de la noche a los pacientes que no acuden a sus citas, 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 enrolarlo 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 las personas. Si hay un vehículo y un chofer disponible, puede arreglarse la llevada del paciente a su casa después de la primera visita para asegurar que alguien del establecimiento de salud conozca la ubicación de la casa.

Para facilitar que el paciente recuerde la fecha de su cita se le debe entregar una tarjeta donde se anotará la fecha de sus próximas citas. Esta tarjeta también es útil como identificación del paciente para facilitar su ingreso al establecimiento de salud.

**Ministerio de Salud
Centro de Salud San Juan**

Paciente: **Juan Peres Ramos**

Control 1:	Jueves 3/07	acudir a las	8 AM	✓
Control 2:	Viernes 4/07	acudir a las	8 AM	✓
Control 3:	Sábado 5/07	acudir a las	8 AM	✓
Control 4:	Miércoles 9/07	acudir a las	8 AM	
Control 5:	Miércoles 16/07	acudir a las	8 AM	
Control 6:	Miércoles 23/07	acudir a las	8 AM	
Control 7:	Miércoles 30/07	acudir a las	8 AM	

Dr. Pedro Paredes R.

Considerando 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 rembolsar 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 pequeñas retribuciones (por ejemplo, bolsas de kilo de arroz, azúcar, o leche en polvo, enseres plásticos, etc.) el Día 14 y el Día 28. No se debe mencionar estas retribuciones al paciente el día de su enrolamiento en el estudio para no influir en su decisión de participar. 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. Debido a estas dificultades con el seguimiento, es aceptable tener una variación de más o menos un día para los controles de los días 7, 14, 21 y 28.

Debido a 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

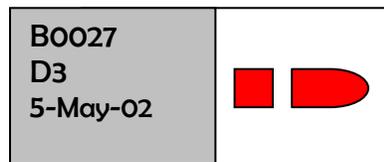
personas que no tienen fiebre, la parasitemia probablemente será baja y por lo tanto no vale la pena tomar gotas gruesas de personas afebriles.

Preparación, manejo de las gotas gruesas

Preparación de las láminas y su codificación

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 1



Donde “B,” es una clave asignada para la localidad del estudio, “0027” corresponde al número de paciente, “D3” al día de control 3, y finalmente la fecha. Todas las láminas aun nuevas deben ser adecuadamente lavadas antes de usarlas.

Toma de muestras

Realizar una buena punción digital para evitar doble punción. Prever el uso de lancetas pediátricas automáticas en caso de tener que ingresar niños muy pequeños al estudio. Usar una lámina por paciente, y ejecutar el frotis o extendido al lado de la gota gruesa. Esto permite discernir adecuadamente la tipificación de especie en caso de infecciones mixtas u otras dificultades ya que se puede observar el parásito dentro y fuera del los hematíes. Una vez ejecutada la gota gruesa es necesario fijar el frotis con metanol pero al mismo tiempo se debe cuidar de no fijar la gota. Mantener las gotas gruesas recién tomadas en posición horizontal hasta que la sangre seque y protegerlas de inmediato para evitar que la sangre sea consumida por insectos.

Coloración

Preparar la solución trabajo de Giemsa (1/10) al momento de efectuar la coloración y colorear las láminas tan pronto sequen para evitar que las láminas se fijen por efecto del calor del medio ambiente. Filtrar el colorante periódicamente. Usar soluciones buffer si la calidad de agua no es buena. Almacenar adecuadamente la solución stock de Giemsa.

Transporte y almacenamiento de láminas

Para transportar las láminas adecuadamente se puede usar “portaláminas de cartón tipo carpeta” que resultan prácticas porque permiten el secado de la muestra en posición

horizontal y evitan que las láminas se quiebren. Gotas gruesas todavía no teñidas deben ser protegidas de los insectos. En áreas con alta humedad, como en la Amazonía, las láminas deben ser almacenadas en cajas portaláminas de preferencia de plástico con cierre hermético para evitar que se contaminen con hongos. En el campo el orden para almacenar las láminas es por fechas, aunque al terminar la primera y segunda lectura y de resolver las discordancias, estas deberán ser finalmente agrupadas por paciente.

Microscopios

En lo posible, tratar de contar con microscopios con luz incorporada y tener focos de iluminación de repuesto para su recambio en caso necesario. Si no hay electricidad usar microscopios con espejos y utilizar soluciones filtro. Evaluar previo al estudio el buen funcionamiento del microscopio, sistema de iluminación y sistema mecánico.

Contadores de células

Prever dos contadores manuales por microscopista o en su defecto un contador tipo piano por microscopista y chequear el buen funcionamiento de los mismos durante el estudio.

Supervisión

La supervisión del estudio debe incluir una revisión de una muestra de las gotas gruesas tomadas para confirmar el diagnóstico y el cálculo de la densidad parasitaria. La frecuencia de la supervisión depende de la experiencia del equipo que esta en el campo enrolando pacientes. Si el equipo es experimentado una supervisión al inicio, mitad y cierre del estudio es suficiente.

Obtención de muestras para otras evaluaciones de laboratorio

Muestras para estudios de PCR

El laboratorista debe conocer el protocolo de PCR a ser utilizado en el estudio, para tomar las muestras de sangre de acuerdo a este. En caso de que el protocolo utilice muestras de sangre total, estas deben tomarse en tubos de *microtainer* y mantener una cadena de frío hasta que las muestras lleguen al laboratorio donde serán procesadas. En caso de trabajar con sangre impregnada en papel filtro definir previo al estudio en que tipo de papel filtro se va a impregnar la muestra de sangre parasitada, ya que los protocolos de extracción de ADN son específicos para el tipo de papel de filtro que se usa. Las muestras son almacenadas en bolsas plásticas con uso de desecante para protegerlas del efecto de la humedad.

Muestras para estudios de niveles de concentración alcanzado por los antimaláricos o dosaje de metabolitos

La toma de muestras para dosaje de metabolitos puede ser a partir de papel filtro o de sangre total, dependiendo del fármaco que se va a evaluar. Se toma las mismas precauciones con estas muestras que las indicadas para las muestras para PCR.

La supervisión

La supervisión periódica del estudio es fundamental para asegurar que todo vaya bien y para corregir cualquier error. La frecuencia de supervisión depende de la experiencia del equipo. 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.

Es recomendable empezar la visita de supervisión con una reunión con todo el equipo del estudio para explicar los procedimientos de la visita y platicar de los métodos que están usando para la identificación, enrolamiento, tratamiento, y seguimiento de los pacientes y los problemas que han encontrado. El supervisor debe revisar cuidadosamente cada ficha clínica. Si se encuentra errores, debe revisarlos con el médico encargado y, si es necesario, hacer correcciones tachando el error y sobrescribiendo la información correcta con la fecha e iniciales del médico. Una lista de chequeo hace más fácil la supervisión y asegura que no se olvide 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?
- ¿Se están cumpliendo adecuadamente los preceptos éticos exigidos en el protocolo del estudio? ¿Se están diligenciando y explicando adecuadamente los formatos de consentimiento informado?

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. Es necesario asegurarse que se esta recolectando todos los archivos y la otra información necesaria para elaborar el informe final y un artículo científico. También, se debe recoger el equipo y los materiales del estudio, aunque en algunos casos se puede regalar los insumos que sobran al establecimiento de salud para agradecerles por su colaboración. Antes de dejar la comunidad, el encargado del estudio debe despedirse y agradecerle al personal del establecimiento de salud y proporcionarles los resultados preliminares del estudio. Una reunión social al final del estudio es una buena forma de reconocer la colaboración y ayuda del personal local.

Al terminar el estudio, uno de los investigadores principales debe también visitar a las autoridades de salud distrital/regional para informarles de los resultados de la investigación y avisarles cuando pueden esperar un informe final escrito.

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 brindan vía el sitio Web de la OMS en inglés 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 *Epi-Info* 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, tipo A (botella de 100ml)	1	
2	Agua destilada (frasco de 1 L)	1	Para las coloraciones
3	Agujas para tubo <i>vacutainer</i> (caja de 100) 21 x 1 ½ y 20 x ½	2	
4	Alcohol – etanol (frasco de 1 L)	2	
5	Algodón (paquete de 500 g)	1	
6	Baja lenguas de madera (caja de 500)	1	
7	Bolsas para desecho descartables (paquete de 100 (bioseguridad))	1	
8	Caja porta láminas de acrílico ó madera	10	
9	Campos descartables x unidad		
10	Capuchón para tubos vacutainer	1	
11	Contador manual	2	
12	Contenedor de bioseguridad	1	
13	Fólder de cartón para transporte de laminas 3x1"	2	
14	Frascos pequeños con tapa para medicamentos	3	
15	Cronómetro de triple entrada	1	
16	Giemsa colorante (frasco de 100 mL)	1	
17	Guantes de látex descartable (caja de 100 unidades) tallas S y M	4	
18	Hojas papel lente (una caja)	60	
19	Láminas portaobjetos con borde pavonado (caja de 50)	35	
20	Lancetas descartables (caja de 100)	5	
21	Lápiz carbón	2	
22	Libretas de apunte	1	
23	Marcador de tinta indeleble	2	
24	Metanol (frasco de 50 mL)	1	Para fijar el frotis
25	<i>Microslide mailer</i>	5	
26	Papel toalla (rollos) Papel higiénico (rollos)	5 10	Para absorber aceite de inmersión de las laminas
27	<i>Kit</i> para pruebas de embarazo	40	Si se tomará prueba de embarazo
28	Pipetas de plástico no estériles	120	
29	<i>Rack</i> para secado de láminas	1	
30	Termómetro digital (electrónico)	2	
31	Tubos al vacío con EDTA de 2mL, <i>microtainers</i>	70	Para dosaje de metabolitos de MQ se usa sangre total, papel filtro Whatman 3 para CQ y SP
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	

	Descripción	Cantidad	Observaciones
35	Carpeta con tres anillos tamaño A4 o carta	2	
36	Fólder tipo acordeón	1	
37	Cuaderno tamaño carta cuadriculado de 100 hojas	3	
38	Calculadora simple	1	
39	Lapiceros color negro y rojo	6	
40	Estetoscopio	1	
41	Tensiómetro	1	
42	Plumón indeleble de punta fina	3	
43	Tarjador para lápices	2	
44	Engrapador	1	
45	Caja de grapas	1	
46	Cinta adhesiva transparente	1	
47	Tijeras	1	
48	Reloj de mesa con alarma	1	
49	Linternas y pilas	2	
50	Tablero de madera con sujetador A4	3	
51	Regla de madera con borde metálico	1	
52	Protector plástico de documentos	12	
53	Hemocue y 100 cubetas para Hemocue	1	Opcional si se piensa dosar hemoglobina
54	Tampón con tinta para huellas digitales	1	
55	Balanza de baño	1	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 <i>Microtainer</i> para las muestras para PCR
59	<i>Microtainer</i> (paquete de 50 unidades)	1	Si no se usara papel filtro para muestras para PCR
60	Sobres de manila 9x12"	300	Para PCR
62	Fraccionador de tabletas	1	

Anexo II: Formato para resumir resultados de gota gruesa

Código del paciente	Día de seguimiento	Primera lectura			Segunda lectura			Tercera lectura			Promedio
		Especie	Asexual	Parásitos/ μ L	Especie	Asexual	Parásitos/ μ L	Especie	Asexual	Parásitos/ μ L	Parásitos/ μ L