



I Simposio
en Banco de Sangre
y Medicina Transfusional

22 de mayo de 2025

08:30 am - 05:30 pm
Sede ANNAR - Bogotá
Av. Américas #39-79
Olimpos y Showroom

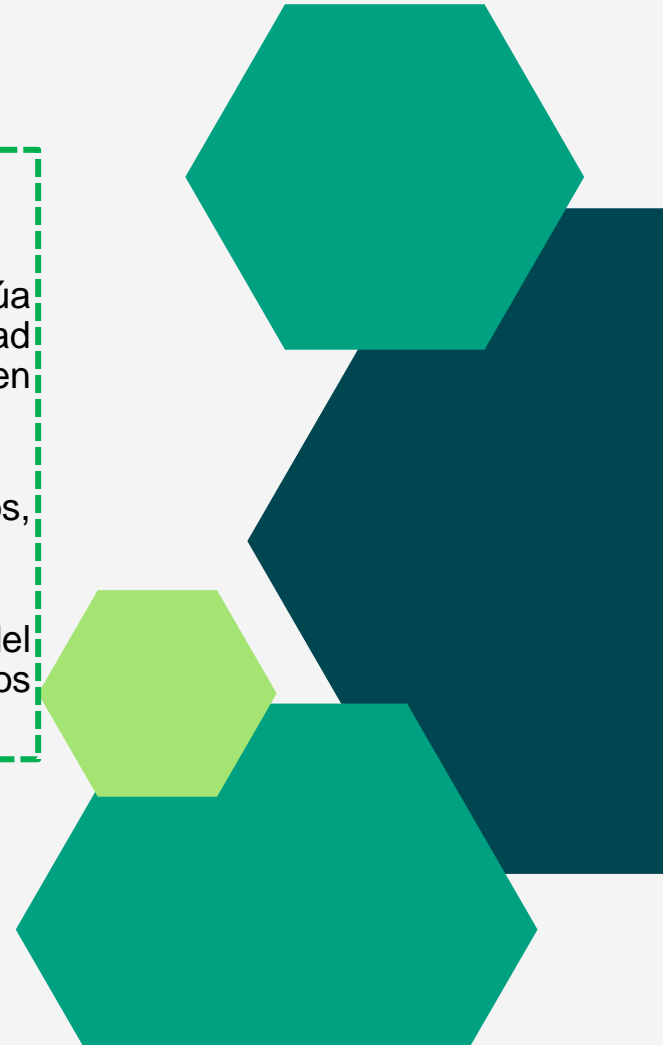
Seguridad en cada gota,
vida en cada transfusión

Malaria transfusional: prevención y seguridad en cada donación

Silvia Maria Di Santi
Núcleo de Estudos em Malária/CPM/Instituto Adolfo Lutz
Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Saúde Global – FMUSP

Conflicto de intereses

- ✓ El Centro de Estudios de la Malaria del Instituto Adolfo Lutz evalúa productos destinados al diagnóstico de la malaria, actividad inherente a su papel de referencia en el diagnóstico de la malaria en el Estado de São Paulo.
- ✓ Declaro que no recibo honorarios por la realización de los estudios, ni por las actividades de consultoría.
- ✓ Declaro que los resultados presentados son el resultado del análisis cuidadoso de los productos evaluados, de acuerdo con los protocolos vigentes en el Centro de Estudios de la Malaria.





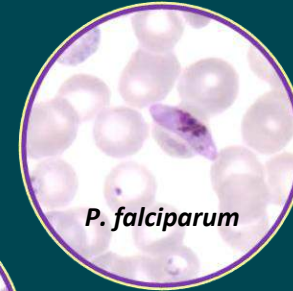
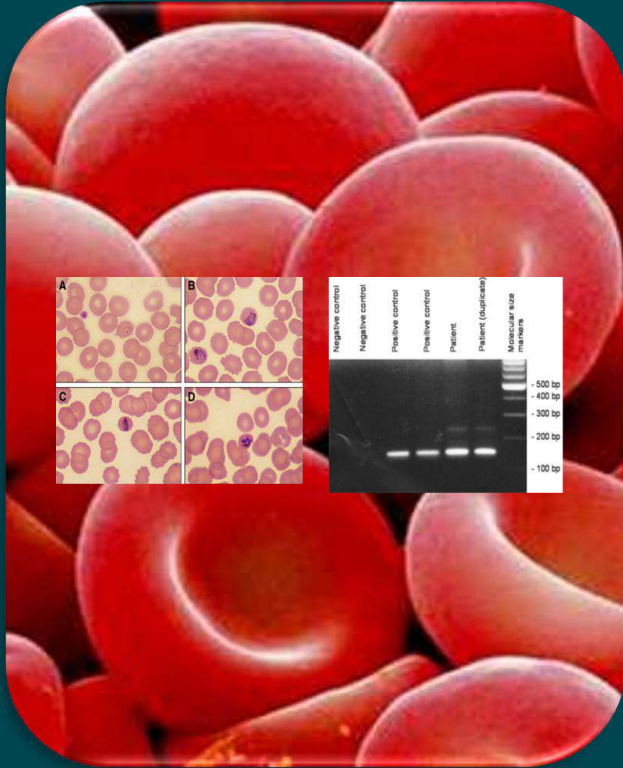
La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium* transmitidos a los humanos por la picadura de hembras de *Anopheles*.



Los niños y las mujeres embarazadas son especialmente vulnerables. En África, el paludismo mata a un niño menor de cinco años cada minuto.



La malaria humana es causada por 5 especies de *Plasmodium*



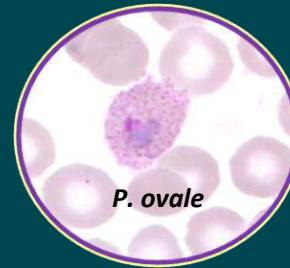
P. falciparum



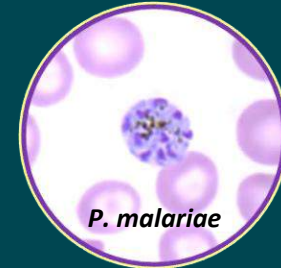
P. vivax



P. knowlesi



P. ovale



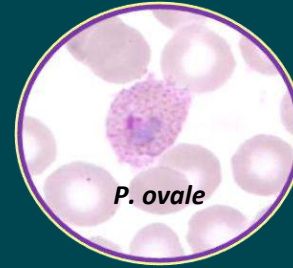
P. malariae

La malaria humana es causada por 5 especies de *Plasmodium*



P. falciparum

P. falciparum es el predominante en África y puede provocar casos graves y muertes



P. ovale

P. ovale es similar a *P. vivax*, pero se encuentra en África y Asia



P. vivax

P. vivax es predominante en las Américas y puede causar recaídas



P. malariae

P. malariae puede permanecer asintomática durante años, siendo un riesgo de malaria por transfusión



P. knowlesi

P. knowlesi solo se encuentra en Asia y causa casos graves y muertes

Sintomatología

- Fiebre
- Escalofríos
- Dolor de cabeza
- Mareos
- Mialgia
- Artralgia
- Postración
- Náuseas/vómitos



<https://www.independentnurse.co.uk/clinical-article/five-questions-on-malaria/174012/>

... Asintomático



Paludismo grave

QUADRO 1 – Manifestações clínicas e laboratoriais indicativas de malária grave e complicada⁶

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

- Dor abdominal intensa (ruptura de baço, mais frequente em *P. vivax*)
- Mucosas amareladas, icterícia (não confundir com mucosas hipocoradas)
- Mucosas muito hipocoradas (avaliada fora do ataque paroxístico febril)
- Redução do volume de urina a menos de 400 mL em 24 horas
- Vômitos persistentes que impeçam a tomada da medicação por via oral
- Qualquer tipo de sangramento
- Falta de ar (avaliado fora do ataque paroxístico febril)
- Extremidades azuladas (cianose)
- Aumento da frequência cardíaca (avaliar fora do acesso malárico)
- Convulsão ou desorientação (não confundir com o ataque paroxístico febril)
- Prostração (em crianças)
- Comorbidades descompensadas

MANIFESTAÇÕES LABORATORIAIS

- Anemia grave
- Hipoglicemia
- Acidose metabólica
- Insuficiência renal
- Hiperlactatemia
- Hiperparasitemia ($> 250.000/\text{mm}^3$ para *P. falciparum*)

<https://www.express.co.uk/life-style/health/885897/malaria-symptoms-who-cases-disease-countries>

La transmisión natural es por vectores *Anopheles hembras infectadas*



Inducidos

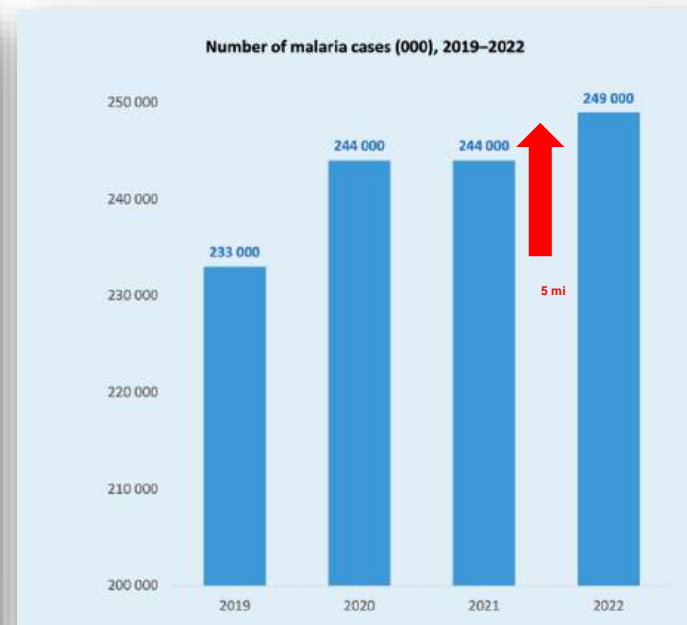
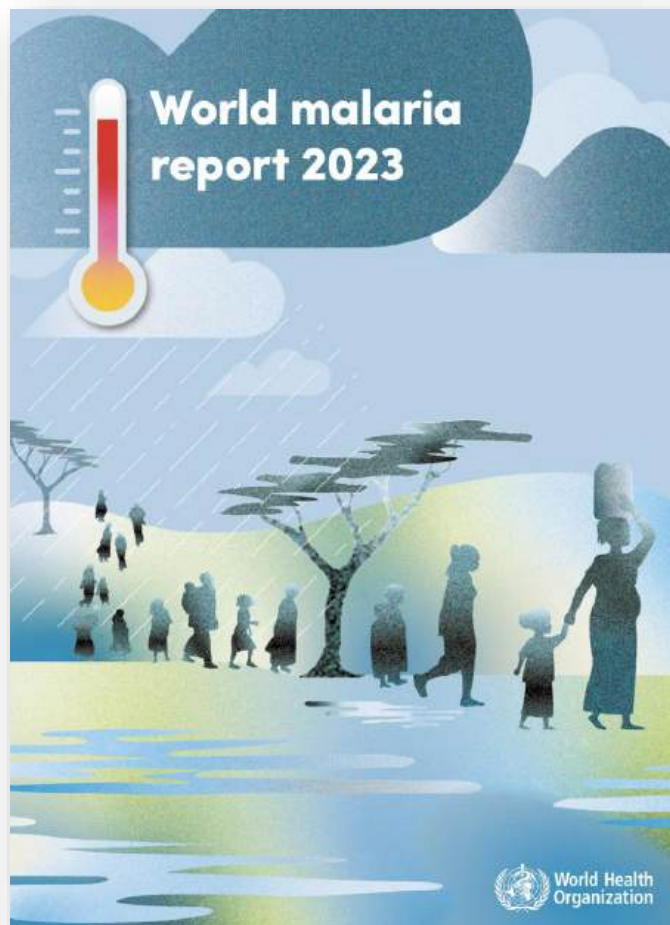


- ✓ Transfusión de sangre
- ✓ Congénito
- ✓ Uso compartido de agujas o jeringas contaminadas
- ✓ Accidentes en laboratorios o hospitales



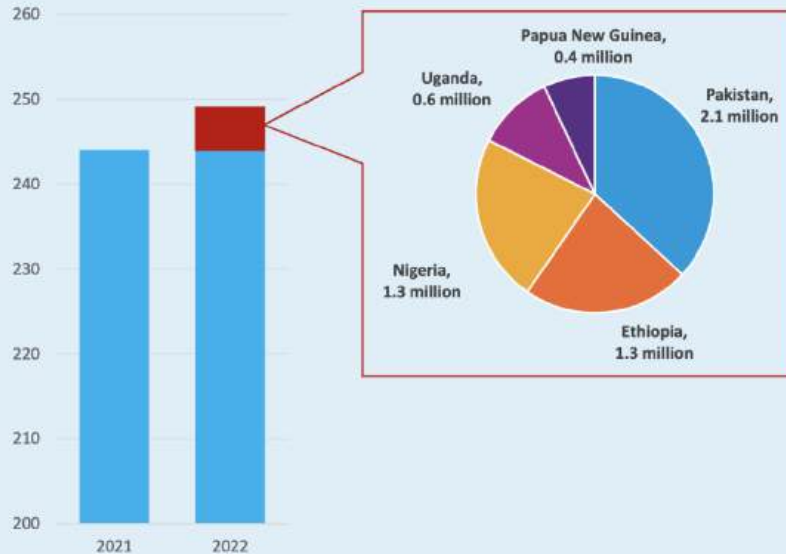
LA CARGA DEL PALUDISMO



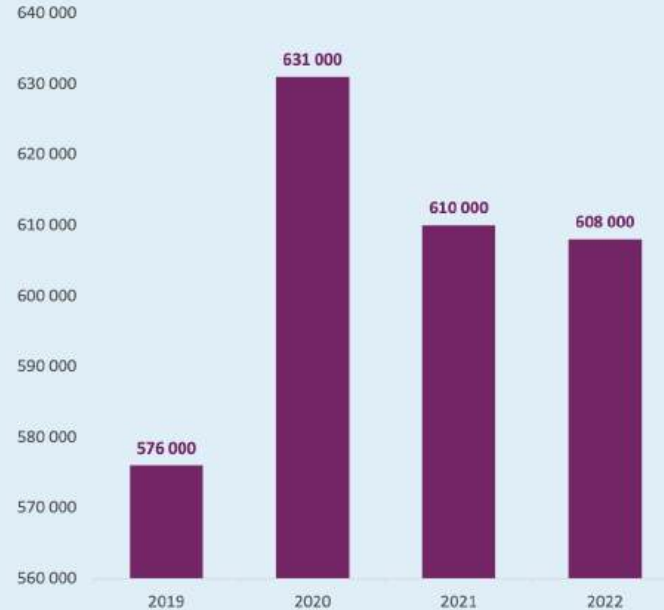


De 2021 a 2022 hubo un aumento de 5 millones de casos de malaria en el mundo

Distribution of the 5 million additional cases in 5 countries, 2021–2022



Number of malaria deaths, 2019–2022



- ✓ Dos millones de casos se debieron a las inundaciones en Pakistán
- ✓ Por lo tanto, es seguro que el cambio climático tendrá impacto en la carga de la malaria



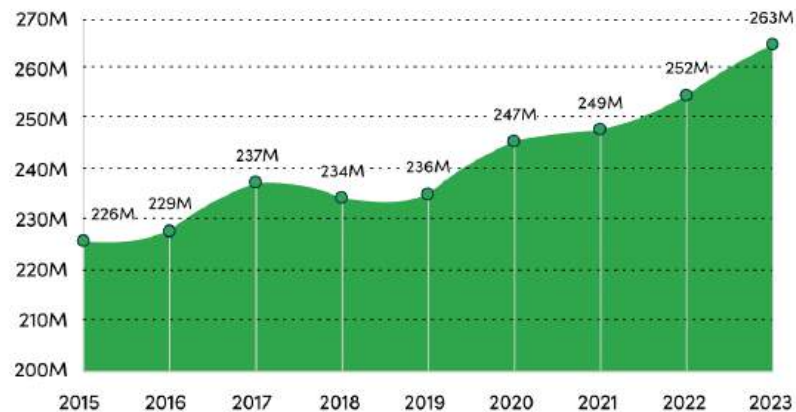


Sin embargo, el gráfico actualizado muestra una carga de malaria aún mayor en el mundo, con 263 (doscientos sesenta y tres millones) casos en 2023

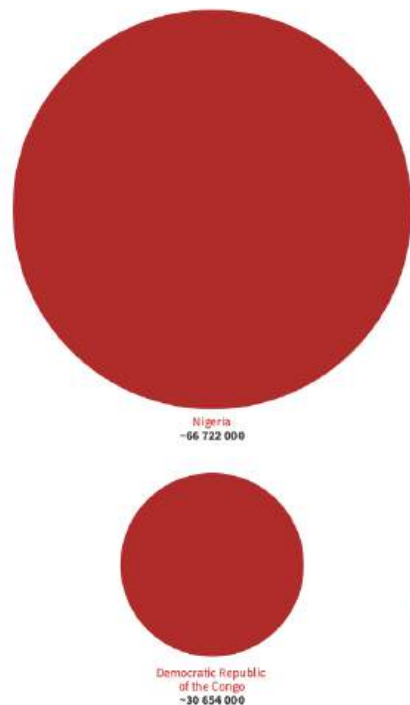
Global malaria deaths (in thousands), 2015–2023



Global malaria cases (in millions), 2015–2023



Cuatro países son responsables del 50% de los casos de malaria en el mundo



Estimated number of malaria cases per country and area in 2022. Source: WHO database.





- ❑ Venezuela, Brasil y Colombia concentran el 78,8% de los casos en la Región de las Américas de la OMS
- ❑ 72,1% causada por *P. vivax*
- ❑ Argentina, Belice, El Salvador y Paraguay fueron certificados como libres de malaria en 2019, 2023, 2021 y 2018, respectivamente

❑ WMR, 2023



Table 2.3. Estimated malaria cases and deaths in the WHO Region of the Americas, 2000–2023* *Source: WHO estimates.*

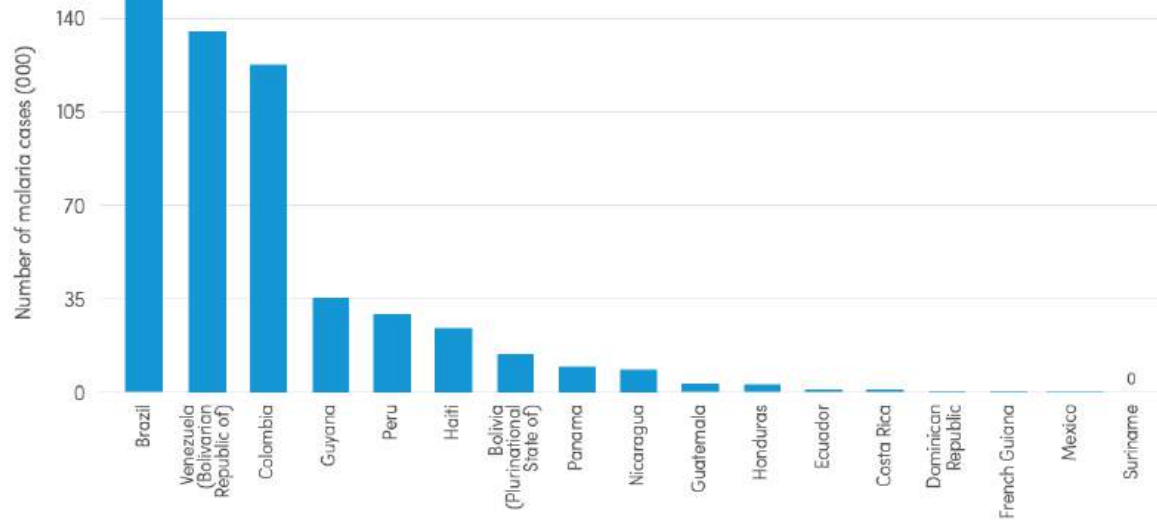
Year	Number of cases (000)				Number of deaths		
	Point	Lower bound	Upper bound	% <i>P. vivax</i>	Point	Lower bound	Upper bound
2000	1 583	1 424	1 752	71.5%	896	739	1 112
2001	1 297	1 169	1 430	67.3%	805	668	1 008
2002	1 183	1 077	1 297	67.9%	732	590	940
2003	1 159	1 066	1 263	68.5%	709	569	922
2004	1 147	1 067	1 236	69.5%	685	543	894
2005	1 273	1 201	1 359	70.3%	659	513	875
2006	1 097	1 031	1 174	68.3%	563	425	772
2007	989	908	1 073	70.2%	496	376	686
2008	696	643	761	71.1%	461	316	693
2009	688	636	752	70.5%	452	311	673
2010	818	745	900	70.9%	492	344	715
2011	615	569	672	68.9%	459	315	670
2012	585	545	635	68.9%	425	305	598
2013	576	531	629	64.1%	467	329	645
2014	475	444	511	69.8%	346	257	448
2015	573	530	620	70.1%	385	282	498
2016	688	637	748	67.3%	523	373	685
2017	946	878	1 029	73.9%	665	447	904
2018	929	861	1 012	78.1%	572	388	770
2019	897	827	984	77.2%	509	337	697
2020	654	604	710	68.2%	415	291	554
2021	580	540	626	71.3%	330	242	433
2022	528	491	569	72.6%	322	239	411
2023	548	506	594	72.1%	342	266	428

P. vivax: *Plasmodium vivax*; WHO: World Health Organization.

* Estimated cases and deaths are shown with 95% upper and lower confidence intervals.



Casos de malaria en los países de las Américas



WHO: World Health Organization.

Note: Suriname is still malaria endemic, with zero indigenous cases reported for the past 2 years.



DIAGNÓSTICO DE LA MALARIA



World Health
Organization



✓ Diagnóstico precoz y preciso, esencial para el manejo y la vigilancia de la enfermedad

✓ Confirmación parasitológica por microscopía o pruebas de diagnóstico rápido (PDR)

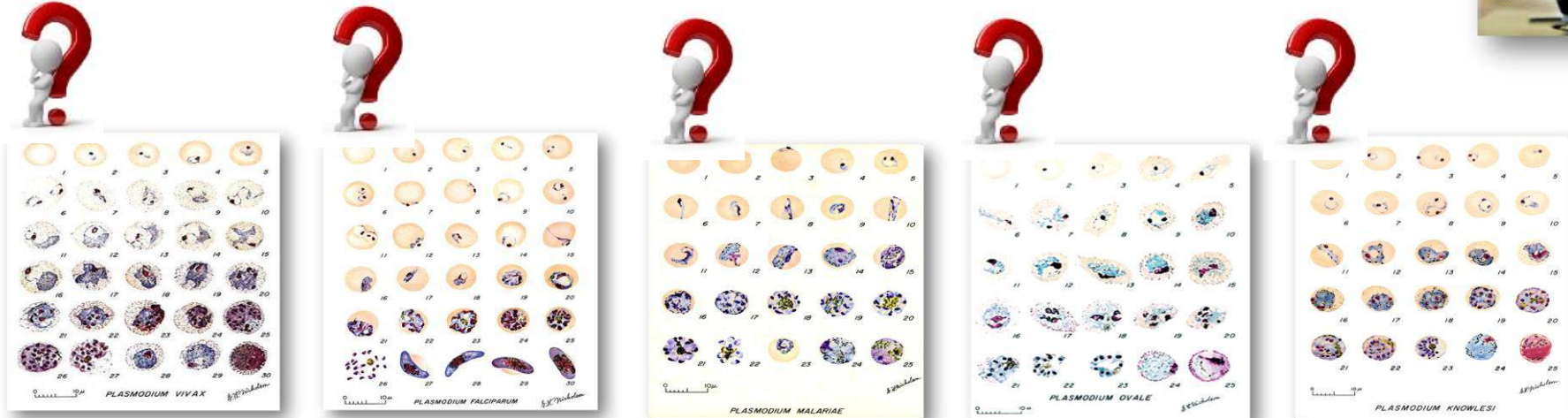
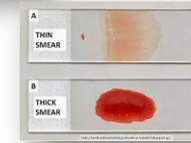


Paludismo – Referencia - Gota gruesa

- ✓ Permite la diferenciación entre especies
- ✓ Es cuantitativo
- ✓ Permite el pronóstico
- ✓ Tiene un bajo costo

Desventajas

- ✓ La sensibilidad y la especificidad dependen de la experiencia del examinador
- ✓ [el límite de detección oscila entre 5 y 100 parásitos/ μ L (Moody, 2002; Milne et al, 1994)]
- ✓ Inadecuado para el diagnóstico de infecciones con baja parasitemia



Pruebas de Diagnóstico Rápido - RDT



P. vivax



P. falciparum



P. vivax + P. falciparum



- ✓ Formación mínima
- ✓ Resultados en 10 – 20 minutos
- ✓ Detección de *P. falciparum*



- ✓ Alto costo
- ✓ Baja sensibilidad (100 - 1.000 parásitos/μL)
- ✓ No cuantitativo
- ✓ No diferencia entre todas las especies
- ✓ Falsos positivos debidos a la persistencia de HRP II
- ✓ Falsos positivos por la presencia de factor reumatoide
- ✓ Falsos negativos por deleciones en el gen *pfhrp 2/3*



Biomarcadores

Lactato deshidrogenasa

Cataliza la conversión de piruvato en lactato para la generación de ATP (vía glucolítica)

Proteína rica en histidina

Polipéptido con 73% de histidina, cuya función principal es unirse con el hemo, en el proceso de desintoxicación del parásito.

Inicia la formación de hemozoína (tipo 2-Pf)

Aldolasa

Cataliza la escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato en gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona

¿Cómo identificar la parasitemia submicroscópica y las infecciones asintomáticas?

- ✓ Na África 59,6% pela microscopia (Singh et al, 2014)
- ✓ Nas Américas, 16,5% por PCR na Colômbia (Cucunubá et al, 2013)
- ✓ Na Oceania 60% nas Ilhas Salomão (Waltmann et al, 2015)
- ✓ Amazonas, 25% por GE ou PCR (Ladeia-Andrade 2005)

En zonas de baja transmisión (prevalencia de gota gruesa $\leq 10\%$),
El porcentaje de personas asintomáticas puede alcanzar el 70 - 80%
(BOUSEMA et al, 2014)



Las personas asintomáticas pueden infectar mosquitos y
transmitir la malaria

Riesgo en transfusiones y trasplantes de órganos y tejidos

Diagnóstico molecular

Nested-PCR targeting *ssrRNA*
1^o PCR primers for genus, nested with primers for species

Nested-PCR targeting *ssrRNA*
1^o PCR primers for genus, nested with primers for species

- Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, Thaithong S, Brown KN. 1993. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* 61(2):315-20.
- Kimura M, Kaneko O, Qing L, Mian Z, Kawamoto F, Wataya Y, et. al. 1997. Identification of the four species of human malaria parasites by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. *Parasitol Int* 46(2): 91-95.
- Rubio JM, Benito A, Roche J, Berzosa PJ, Garcia ML, Mico M, Edu M, Alvar J. 1999. Semi-nested, multiplex polymerase chain reaction for detection of human malaria parasites and evidence of *Plasmodium vivax* infection in Equatorial Guinea. *Am J Trop Med Hyg* 60(2):183-7.

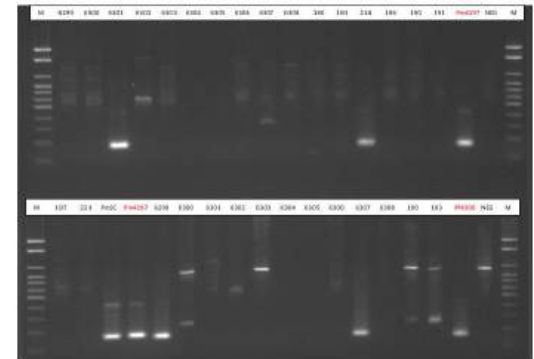
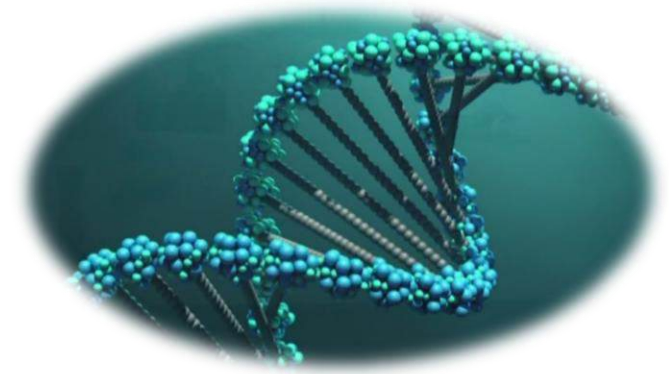
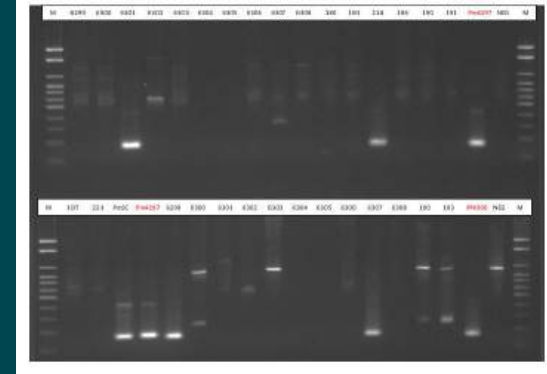


Table S1. Primer sequences and PCR condition for detection of *Plasmodium* spp. that infect human.

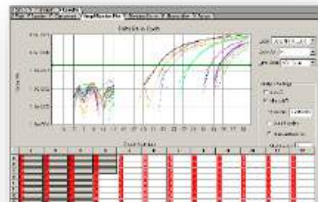
Primer	Species	Sequence (5' to 3')	Annealing (°C)	Mg2+ (mM)	No of Cycles	Product (bp)
Pla-DHFR-F	<i>Plasmodium</i> spp.	ATGGARSAMSTYTSMGABGTWTTYGA	50	3	30 ^a	1000
Pla-TS-R		AAATATTGRTAYTCTGGRTG				
Pla-DHFR-NF	<i>Plasmodium</i> spp.	AAATGYTTYATYATWGGDGG	55	3	35	509-587
Pla-TS-R		AAATATTGRTAYTCTGGRTG				
PF-Lin-F	<i>P. falciparum</i>	AAAAGGAGAAGAAAAAATAA	50	2	35	160
PF-Lin-R		AAAATAAACAAAATCATC				
PM-Lin-F	<i>P. malariae</i>	GACCCAAGAATCCCTCCC	50	3	35	177
PM-Lin-R		CCCATGAAGTTATATTCC				
PV-Lin-F	<i>P. vivax</i>	CGGGAGCACTGCGGACAGCG	55	2	35	144
PV-Lin-R		CACGGGCACGCGCGGGGC				
PO-Lin-F	<i>P. ovale</i>	GACACAAAAATGATGGGGA	55	3	35	231, 237 or 243 ^b
PO-Lin-R		ATTGTCCTTCCTTGACTCG				
PK-Lin-F	<i>P. knowlesi</i>	CGATGGATATGGATAGTGG	58	2	35	134
PK-Lin-R		CGCGGGAGAGCATTTCTC				

^a Primary reaction (all others are secondary reactions).

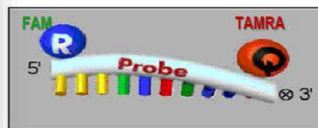
^b From the sequences currently available for the *Podliff*-is linker region (11): the classic type, *P. ovale curtisi* (n=6) is expected to yield a fragment of 231 bp; while the variant type, *P. ovale wallikeri* (n=14) is expected to yield fragments of 237 bp or 243 bp.



Real time PCR (qPCR)



Primers/Sonda	Sequência 5' → 3'
Primer M60	ACA TGG CTA TGA CGG GTA ACG
Primer M61	TGC CTT CCT TAG ATG TGG TAG CTA
Sonda M62	FAM™ - TCA GGC TCC CTC TCC GGA ATC GA - TAMRA™

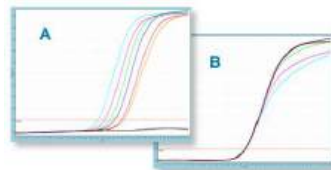


RealStar® Malaria Screen & Type PCR

Lid Color	Component	Number of Vials	Volume [μl/Vial]
Blue	Master A Pk/Pm/Po ¹⁾	4	50
Purple	Master B Pk/Pm/Po ¹⁾	4	180
Lightblue	Master A Pf/Pv ²⁾	4	50
Lightpurple	Master B Pf/Pv ²⁾	4	180
Green	Internal Control	1	1000
Red	Positive Control Pk/Pm/Po ¹⁾	1	250
Orange	Positive Control Pf/Pv ²⁾	1	250
White	Water (PCR grade)	1	500

¹⁾ Pk - *Plasmodium knowlesi*; Pm - *Plasmodium malariae*; Po - *Plasmodium ovale*

²⁾ Pf - *Plasmodium falciparum*; Pv - *Plasmodium vivax*



Plasmodium spp. specific DNA detected in the FAM detection channel [A]. Pink: *P. falciparum*; Blue: *P. knowlesi*; Turquoise: *P. vivax*; Orange: *P. ovale*; Green: *P. malariae*; Black: Negative Control; Red: Positive Control. The Internal Control (IC) is detected in the JOE detection channel [B]. channel [B].



Original research

Ultrasensitive molecular tests for *Plasmodium* detection: applicability in control and elimination programs and reference laboratories

Mariana Aschar,¹ Maria Carmen A. Sanchez,² Maria de Jesus Costa-Nascimento,² Maria de Lourdes R. N. Farinas,¹ Angélica D. Hristov,¹ Giselle F. M. C. Lima,¹ Juliana Inoue,¹ José E. Levi² and Silvia M. Di Sant³

Suggested citation: Aschar M, Sanchez MCA, Costa-Nascimento MJ, Farinas MLRN, Hristov AD, Lima GPMC, et al. Ultrasensitive molecular tests for *Plasmodium* detection: applicability in control and elimination programs and reference laboratories. Rev Panam Salud Publica. 2022;46:e11. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.11>

LAMP Alethia® Malaria

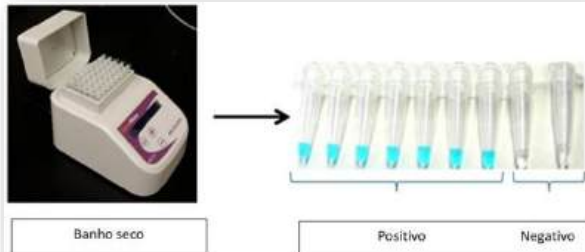
(Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, OH, USA)

Ensayos de amplificación isotérmica (LAMP), desarrollados para la detección de ADN de *Plasmodium*, dirigidos a una región del genoma de *Plasmodium* (ADNm) conservada entre todas las especies

- Point of care PCR
- Sensible y fácil de hacer
- Capacitación e infraestructura mínimas
- Sin extracción de AND
- Resultados en 45 minutos (Tambo et al., 2018)
- Buena estabilidad de los reactivos para uso en campo
- Basado en el cambio de turbidez en la reacción debido a la acumulación de pirofosfato de magnesio, medido cualitativamente por el equipo de lectura
- La evaluación de esta plataforma mostró una LoD de 2 parásitos/μL para *P. falciparum* y de 0,125 parásitos/μL para *P. vivax* (Lucchi et al, 2016)



<https://www.meridianbioscience.com/human-condition/other/malaria/alethia-malaria-plus-research-use-only/>



Malachite Green

LoD:

4 parásitos/μL para *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. ovale*
8 parásitos/μL para *P. malariae*



Protocolos convencionales: PCR anidada y semianidada

- Buena sensibilidad y especificidad
- Protocolo laborioso y lento
- Alto riesgo de contaminación

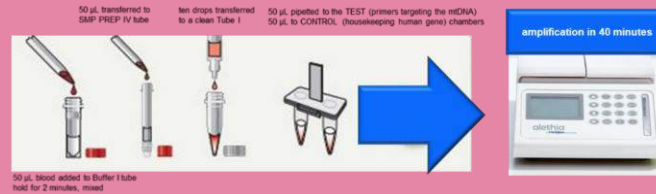
qPCR

- Alta sensibilidad y especificidad
- Rápido
- Bajo riesgo de contaminación
- Equipos e infraestructuras sofisticados



LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*)

- *Point-of-care*
- Buena sensibilidad
- Buena aplicabilidad y fácil ejecución
- Buena estabilidad de los reactivos en el campo





INFECCIONES ASINTOMÁTICAS Y MALARIA TRANSFUSIONAL

❖ 44 años para *P. malariae* (Mungai et al, 2001)



❖ 8 años para *P. falciparum* (Kitchen et al, 2005)



❖ 5 años para *P. vivax* (Mungai et al, 2001)



Infecções Assintomáticas

53 anos - *P. malariae*



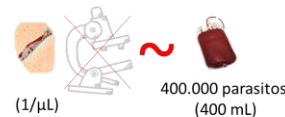
27 anos - *P. vivax*



13 anos - *P. falciparum*



1 ↔ 10



LETHAL MALARIA CAUSED BY *Plasmodium malariae* IN AN ASPLENIC PATIENT IN BRAZIL.

Kirchgatter K, Nogueira SL, Padilha A, Curado I, Boulos M, Di Santi SM.
British Medical Journal 331: 576b, 2005

TRANSFUSIONAL MALARIA CAUSED BY *Plasmodium malariae* TRANSMITED BY ASYMPTOMATIC BLOOD DONOR INFECTED IN ATLANTIC FOREST, SÃO PAULO.

Silvia Di Santi, Maria Esther de Carvalho, Maria de Jesus Costa, Karin Kirchgatter, Bianca F. Pereira, Christina Toniolo, Dante Langhi Jr, Ana Cinira Marret.
Rev Soc Bras Med Trop, resumos, 2005

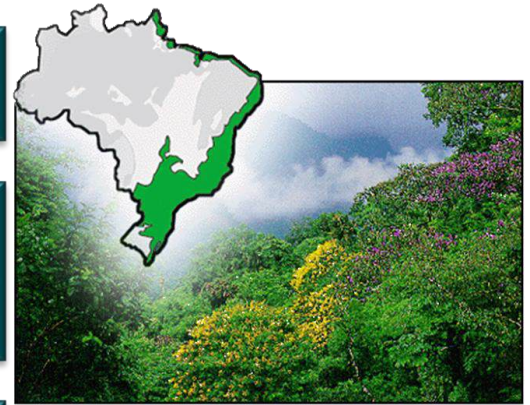
INFECÇÃO PLASMODIAL ASSINTOMÁTICA EM CANDIDATOS A DOAÇÃO DE SANGUE: DETECÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR.

Giselle FMC Lima, Juliana Inoue, Maria E Carvalho, Luis GG Nascimento, Maria CA Sanchez, Christina RC Toniolo, Maria JC Nascimento, Silvia M Di Santi.
Rev Soc Bras Med Trop 2009. v. 42. p. 206-206.

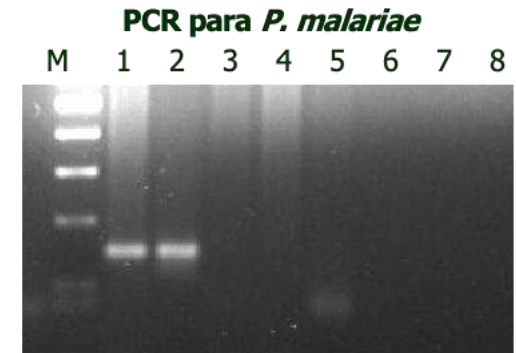
TRANSFUSION-TRANSMITTED MALARIA: CASE REPORT OF ASYMPTOMATIC DONOR HARBORING *Plasmodium malariae*.

Scuracchio P, Vieira SD, Dourado DA, Bueno LM, Colella R, Ramos-Sanchez EM, Lima GF, Inoue J, Sanchez MC, Di Santi SM.
Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2011 Jan-Feb;53(1):55-9.

**Todas ellas transmitidas por donantes asintomáticos
procedentes de zonas de baja transmisión -
zoonóticas**



200 bp

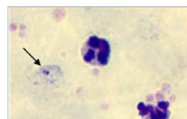


Asymptomatic infections in blood donors harbouring *Plasmodium*: an invisible risk detected by molecular and serological tools

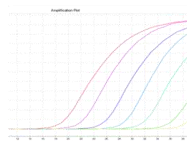
Giselle F.M.C. Lima¹, Maria C. Arroyo Sanchez², José E. Levi³, Mahyumi Fujimori², Luiza da Cruz Caramelo², Arianni Rondelli Sanchez², Eduardo M. Ramos-Sanchez², Juliana Inoue¹, Maria de Jesus Costa-Nascimento⁴, Alfredo Mendrone Junior³, Silvia M. Di Santi^{1,4}

¹Faculty of Medicine, University of São Paulo; ²Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo;

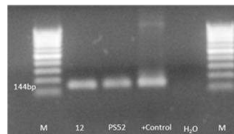
³"Pró-Sangue" Blood Centre Foundation; ⁴Epidemic Disease Control Unit, São Paulo, Brazil



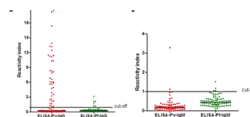
Plasmodium (24 parasitos/mm³) em duas amostras (2.2%; 95% CI 0.6-7.6)



Amplificação em 3 amostras (3.3% ; 95% CI 1.1-9.2)

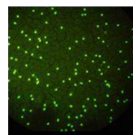


Amplificação em duas amostras (2.2%; 95% CI 0.6-7.6) = *P. malariae*



ELISA-IgG reagente 42.9% (95% CI 33.2- 53.1) para *P. vivax* (Pv-MSP1₁₉)
6.6% (95% CI 3.1-13.6) for *P. falciparum* (Pf-Zw)

ELISA-IgM reagente em 2.2% (95% CI 0.6-7.6) para *P. vivax*
4.4% (95% CI 1.7-10.8) para *P. falciparum*



IFA-Pm foi reagente para *P. malariae* in 15.4% (95% CI 9.4-24.2)

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, São Paulo, São Paulo, Brazil

²Universidade de São Paulo, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Laboratório de Virologia, São Paulo, São Paulo, Brazil

³Secretaria da Saúde de São Paulo, Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴Secretaria da Saúde de São Paulo, Superintendência de Controle de Endemias, Núcleo de Estudos em Malária, São Paulo, São Paulo, Brazil

The hidden *Plasmodium malariae* in blood donors: a risk coming from areas of low transmission of malaria

Mariana Aschar¹, José Eduardo Levi^{1,2}, Maria L. R. N. Farinas¹, Sandra C. Montebello³, Alfredo Mendrone-Junior³, Sílvia Maria Di Santi^{1,4,5}

ABSTRACT

Malaria is an infectious vector-borne disease with other important routes of transmission, such as blood transfusion and organ/tissue transplantation, due to asymptomatic reservoirs of *Plasmodium* presenting with low parasitemia. Reports of transfusion-transmitted malaria have shown that in immunosuppressed recipients, infections can be fatal if they are not diagnosed and timely treated. All *Plasmodium* species can survive on blood components at temperatures from 2 to 6 °C for some days or even weeks. This report describes two candidates for blood donation harboring *Plasmodium*, infected in an area considered non-endemic. Blood samples were collected from donors who attended a blood bank in São Paulo and tested by microscopy, qPCR for *Plasmodium* genus-specific amplification, targeting the parasite 18S ribosomal subunit gene and a multiplex qPCR based on mtDNA of the five species. Under microscopy, only structures resembling *Plasmodium* were observed. The qPCR whose standard curve tested parasites varying from 2 to 0.1 parasites/ µL, showed the presence of *Plasmodium* DNA in the two blood donors, as did the multiplex qPCR that revealed the presence of *P. malariae*. The prevalence of positive donors varies according to the level of transmission, ranging from 0.7 to 55% in endemic areas. In non-endemic regions, prevalences are lower, however, transfusion malaria can evolve to severe cases, due to the lack of suspicion of this transmission route. Asymptomatic donors from low transmission regions pose a risk to blood banks, with particular emphasis on those located in areas with malaria elimination goals.

KEYWORDS: Malaria. Molecular diagnosis. Transfusion-transmitted malaria. *Plasmodium malariae*. Blood banks.



Malaria Disease Recommendations for Solid Organ Transplant Recipients and Donors

Ligia Camera Pierrotti, MD, PhD,¹ Marilyn Eckstein Levi, MD,² Sílvia Maria Di Santi, MD, PhD,³ Aluisio Cotrim Segurado, MD, PhD,⁴ and Eskild Petersen, MD, PhD⁵

Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo
52(5):281-284, September-October, 2010
doi: 10.1590/S0036-46652010000500012

CASE REPORT

THE MONITORING OF HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANT DONORS AND RECIPIENTS FROM ENDEMIC AREAS FOR MALARIA

Juliana INOUE(1), Clarisse Martins MACHADO(2), Giselle Fernandes Maciel de Castro LIMA(1), Maria de Jesus Costa NASCIMENTO(1), Vergílio Rensi COLTURATO(2) & Sílvia Maria DI SANTI(1)

SUMMARY

Malaria is an unusual complication after hematopoietic stem cell transplantation in non-endemic countries. However, transplant candidates, recipients and donors living in endemic regions frequently report previous episodes of malaria. This fact could represent an important risk for immunosuppressed recipients that could develop severe malaria cases. We report a case of hematopoietic stem cell transplant (HSCT) in which the donor had a history of previous malaria, and close monitoring was performed before and after procedure by parasitological and molecular tests. The donor presented *Plasmodium vivax* in thick blood smears one month after transplant and was treated according to Brazilian Health Ministry guidelines. The polymerase chain reaction (PCR) was able to detect malaria infection in the donor one week earlier than thick blood film. Even without positive results, the recipient was pre-emptively treated with chloroquine in order to prevent the disease. We highlight the importance of monitoring recipients and donors in transplant procedures with the aim of reducing the risk of malaria transmission.

KEYWORDS: Hematopoietic stem cell transplantation; Malaria; Molecular diagnostic; Microscopy.

✓ **France** (Besson et al, 1976)



Lebanon (Haydoura et al, 2011)



Malaysia (Anthony et al, 2013)



Netherlands (Brouwer et al, 2013)



Estados Unidos 1972 - 1988,
45 cases e three deaths
(Nahlen et al, 1991)



P. malariae 38% casos, una muerte

P. falciparum 29% casos, dos muertes

P. vivax 24% casos

P. ovale 9% casos



Prevalencia del 2% en Ghana (Owusu-Ofori et al, 2013)
Al 51,5% en Nigeria (Epidi et al, 2008)

Las directrices varían según el país

France	Testing if born in or lived in an endemic country during first 5 years of life.
England	Accepting donors if they returned from travel more than 12 months ago. (In France and Australia these donors would be tested if travel was within the last 3 years.)
Australia	The 3-year deferral for donors with travel to Papua New Guinea. (Eligible for plasma for fractionation donation.)
Canada	Permanent deferral of donors with a history of malaria.
United States of America	The 3-year deferral for donors with a history of malaria.



Directrices Brasileñas Portaria do Nº 158, 4/2/2016, Ministério da Saúde

Zonas endémicas:

Los donantes candidatos que hayan tenido malaria en los 12 meses anteriores a la donación, así como aquellos que presenten fiebre, aquellos que se sospeche que hayan tenido malaria en los 30 días anteriores o aquellos que provengan de un área de alto riesgo de malaria (IPA \geq 50) se aplazan.

Independientemente del IPA, la prueba de detección de *Plasmodium* o antígenos es obligatoria.

Zonas no endémicas:

Los donantes candidatos que hayan venido de áreas endémicas en los 30 días anteriores a la donación son diferidos. De uno a 12 meses después del desplazamiento, los candidatos serán elegibles para la donación si presentan una prueba negativa para la detección de *Plasmodium* o sus antígenos. Después de 12 meses, no es necesario analizar la presencia de *Plasmodium* en los donantes candidatos. También serán elegibles después de 12 meses si han tenido malaria y han recibido el tratamiento adecuado.

Independientemente de la endemidad de la zona, se excluirá definitivamente al candidato que haya tenido infección por *P. malariae*.

PROCESAMIENTO EM POOL DE MUESTRAS DE SANGRE



A point of care molecular test for screening of blood donor candidates harboring *Plasmodium* with low parasitemias

Farinas ML¹, Costa-Nascimento MJ², Lima GFM², Inoue J², Di Santi SM^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil; ² Superintendência de Controle de Endemias, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo/Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

50 μ L transferred to
SMP PREP IV tube

ten drops
transferred
to a clean Tube I

50 μ L pipetted to the TEST (primers targeting the mtDNA)
50 μ L to CONTROL (housekeeping human gene)
chambers



50 μ L blood added to Buffer I
tube
hold for 2 minutes, mixed

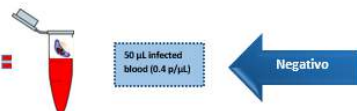
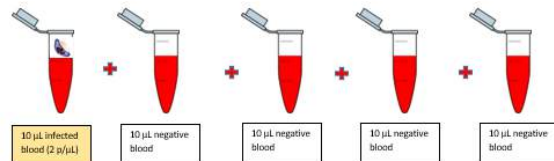
amplification in 40 minutes



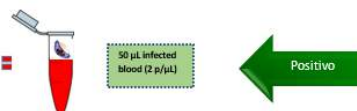
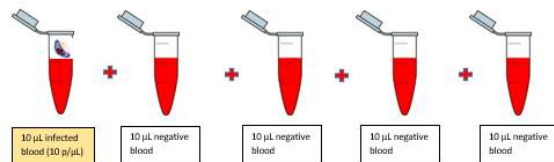
Dos muestras de referencia de la OMS (un *P. falciparum* y un *P. vivax*) se dispusieron en grupos de cinco muestras cada uno

- uno positivo con parasitemia que representa el LoD y cuatro negativos
- un positivo con 5 veces el LoD y cuatro negativos

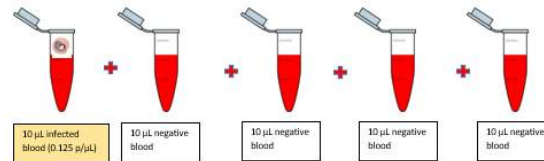
Pool Pf A (4300)



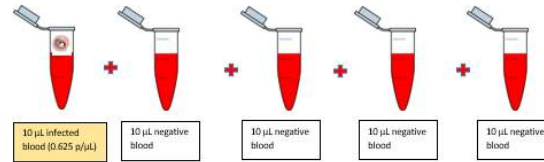
Pool Pf B (4300)



Pool Pv A (4299)



Pool Pv B (4299)





CONCLUSIONES

1. Aunque existen varios protocolos moleculares para el diagnóstico de la malaria, es necesario tener en cuenta algunas características para su uso en el cribado de sangre: buena sensibilidad, especificidad, aplicabilidad en un gran número de muestras y facilidad de realización
 2. El ensayo LAMP Alethia® Malaria fue capaz de detectar parasitemias bajas por *Plasmodium* y es una buena alternativa para el cribado sanguíneo en los servicios de hemoterapia:
- ☐ Es un protocolo molecular *point of care*, que requiere menos tiempo que la qPCR o la PCR convencional
 - ☐ Se realiza sin extracción de ADN
 - ☐ Funcionamiento en una máquina fácil de usar
 - ☐ Eficaz para la selección de candidatos a la donación de sangre, de acuerdo con los criterios establecidos en las Directrices Brasileñas

ACKNOWLEDGMENTS


#2018/07890-5
São Paulo Research Foundation







LIM 49 - HCFMUSP



RESEARCH NOTE

Open Access

Detection of malaria parasites in samples from returning US travelers using the Alethia[®] Malaria Plus LAMP assay



Dragan Ljolje*, Rispah Abdallah and Naomi W. Lucchi

Abstract

Objective: In this study, the performance of a commercially available malaria LAMP assay (Alethia[®] Malaria Plus LAMP) was evaluated using retrospective clinical samples obtained from travelers returning to the United States of America (USA). Recently, several laboratories in non-malaria endemic countries evaluated the use of the loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays for the diagnosis of imported malaria cases. These tests are simpler than polymerase-chain reaction (PCR)-based assays and were shown to have high sensitivity. Much of malaria diagnoses in the USA, is undertaken at the state level using mainly microscopy and rapid diagnostic tests (RDTs). However, molecular tools offer greater sensitivity over microscopy and RDTs. A reliable, easy to perform molecular assay can provide a test of choice for the accurate detection of malaria parasites in places where expert microscopy is lacking and/or for the detection of low-parasite density infections.

Results: The Alethia[®] Malaria Plus LAMP assay was easy to use, had similar test performances as the real-time PCR reference test and results were obtained faster (within 1 h) than the reference test. The sensitivity of the assay was 100% with a kappa score of 1 when compared to the reference PET-PCR assay.

Keywords: Malaria, Plasmodium, LAMP, Molecular diagnostics, Imported malaria





Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio



Parasitology

Clinical accuracy of malaria loop-mediated isothermal amplification assay as a stand-alone screening tool at a non-endemic Northern California regional health system

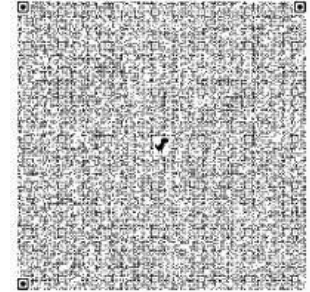
Cristina Costales^a, Mora Jana Broadhurst^b, Indre Budvytiene^c, Niaz Banaei^{a,c,d,*}

^a Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA

^b University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE, USA

^c Clinical Microbiology Laboratory, Stanford Health Care, Palo Alto, CA, USA

^d Department of Medicine, Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine, Stanford, CA, USA



ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 November 2021

Revised in revised form 18 February 2022

Accepted 4 March 2022

Available online 11 March 2022

Keywords:

Malaria diagnosis

Loop-mediated isothermal amplification

Plasmodium

Nucleic acid amplification testing

ABSTRACT

Malaria is critical to rule out in febrile returned travelers. We evaluated the performance of the Alere Malaria loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid one-time malaria screening using nucleic acid amplification testing. Retrospective analysis of 51 archival blood specimens collected from 32 patients with malaria and 25 uninfected controls showed Malaria LAMP assay to have sensitivity of 100% (95% CI 93.0–100) and specificity of 100% (95% CI 86.7–100) using blood smear microscopy as the reference standard. Prospective evaluation of Malaria LAMP as a single screening test in 205 patients identified 4 (1.95%) positives which were all confirmed as *Plasmodium falciparum* by PCR, with parasitemia quantified as <0.1% (n = 2), 1.0% (n = 1), and 4.6% (n = 1). Alternative diagnoses were found in 129 of 201 (64.2%) of LAMP-negative patients, and no patient was subsequently diagnosed with malaria. The Malaria LAMP offers a sensitive and rapid stand-alone screening alternative in non-endemic settings.

© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.

- En Colombia, la donación de sangre es un acto voluntario y gratuito.
- Los principales requisitos incluyen tener entre 18 y 65 años, pesar más de 50 kilos, estar en buen estado de salud y no haber tenido procedimientos quirúrgicos o tatuajes en los últimos 12 meses. La donación de sangre es anónima y confidencial.

➤ Test de seguridad:

Cada unidad de sangre donada se somete a pruebas para detectar enfermedades como hepatitis B, hepatitis C, VIH, sífilis, Chagas y HTLV.

Riesgo:

- El riesgo es mayor en áreas endémicas de malaria, donde la prevalencia de donantes infectados podría ser más alta. Los donantes asintomáticos, que pueden no mostrar síntomas de malaria, pueden transmitir la enfermedad si no se identifican y excluyen.

Mitigación:

- Las medidas de mitigación incluyen la tamización de donantes de sangre en áreas endémicas, la exclusión de donantes con antecedentes de viaje a áreas de malaria y el uso de pruebas de detección para detectar *Plasmodium* en la sangre.



Se utiliza desde
2022 em 13
serviços
públicos de
transfusão de
sangue em
Brasil

Pool de 6
muestras de
plasma

En 200,277
muestras:
1 Pv
1 Pm

Detection of *Plasmodium* spp. in asymptomatic blood donors by the new Brazilian NAT PLUS HIV/HBV/HCV/ Malaria Bio-Manguinhos kit

Elaine Costa¹ | Daniele Rocha¹ | Josiane Iole França Lopes² |
Elisabete Andrade¹ | Pedro Cardoso¹ | Marisa Ribeiro¹ |
Marcela Fontana-Maurell^{1,3} | Amanda Roberta Revoredo Vicentino⁴ |
Alexandre Rodrigues Calazans¹ | Monica Barcellos Arruda¹ |
Camila de Amorim Mesquita² | Antonio Gomes Pinto Ferreira¹ |
Luiz Amorim Filho² | Patricia Alvarez¹✉

¹Laboratório de Tecnologia Diagnóstica (LATED), Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil

²HEMORIO, Instituto Estadual de Hematologia, Rio de Janeiro, Brasil

³Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

⁴Laboratório de Imunologia Molecular e Celular, Instituto de Biônica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

Correspondence

Patricia Alvarez, Laboratório de Tecnologia Diagnóstica (LATED), Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
Email: p.alvarez@bio.fiocruz.br

Funding information

Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados, Departamento de Aterção Especializada e Temática, Secretaria de Aterção Especializada à Saúde - Ministério da Saúde (CGSH/DAET/SAES/MS); Bio-Manguinhos—FIOCRUZ

Abstract

Background: Transfusion-transmitted malaria (TTM) is a public health problem in endemic and nonendemic areas. The Brazilian Ministry of Health (MH) requested the development of a nucleic acid amplification test (NAT) for the detection of *Plasmodium* spp. in public blood centers to increase blood safety.

Study Design and Methods: The new Brazilian NAT kit named NAT PLUS HIV/HBV/HCV/Malaria Bio-Manguinhos was first implemented in HEMORIO, a public blood center in the city of Rio de Janeiro. Since October 1, 2022, this blood center has been testing all its blood donations for malaria in a pool of six plasma samples to detect *Plasmodium* spp. by real-time polymerase chain reaction (PCR).

Results: Since the implementation of the NAT PLUS platform until February 2023, HEMORIO has successfully received and tested 200,277 donations. The platform detected two asymptomatic donors in the city of Rio de Janeiro, which is a nonendemic region for malaria. Our analyses suggested a malaria from the Amazon region caused by *Plasmodium vivax*, in the first case, while an autochthonous transmission case by *Plasmodium malariae* was identified in the rural area of Rio de Janeiro state.

Discussion: The NAT PLUS platform detects *Plasmodium* spp. in plasma samples with sensitivity capable of detecting subpatent infections. This is the first time worldwide that a group developed and implemented molecular diagnosis for *Plasmodium* spp. to be used by public blood centers to avoid TTM.

Abbreviations: IC, internal control; LoD, limit of detection; MPM, maximum parsimony method; NAT, nucleic acid amplification test; pLDH, *Plasmodium* lactate dehydrogenase; RTs, rapid tests; TBS, thick blood smear; TTM, transfusion-transmitted malaria.



- Este es un donante de sangre de um hospital de São Paulo
- Donación en el día 24/04/2025, con Nat positivo para malaria (prueba en 25/04/2025) realizada por la Fundación Pro-Sangre Hemocentro de São Paulo (FPS-HSP), en un pool de 6 y e muestra individual
- Se realizó una convocatoria con nueva colección el día 02/05/2025, también positivo en el Nat para malaria, realizado por FPS-HSP

Pruebas realizadas por el Laboratorio de Referencia de Malaria IAL/HCFMUSP:



NÚCLEO DE ESTUDOS EM MALÁRIA
Laboratório de Referência em Malária IAL/HCFMUSP

Muestra del 24/04/2025:

Gota gruesa: negativa

Prueba rápida Pf/Pf/Pv Bioline: negativa

PCR LAMP Alethia en *pool* de 6: positivo para *Plasmodium*

PCR LAMP Alethia muestra individual: positiva para *Plasmodium*

PCR para especies de *Plasmodium* con muestra individual: positiva para *Plasmodium vivax*

Muestra del 02/05/2025:

Gota gruesa: negativa

Prueba rápida Pf/Pf/Pv Bioline: negativa

PCR LAMP Alethia en *pool* de 6: positivo para *Plasmodium*

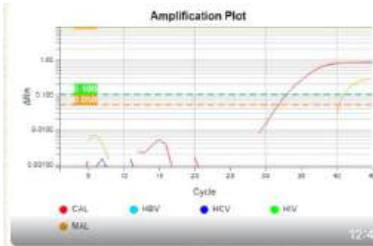
PCR LAMP Alethia muestra individual: positiva para *Plasmodium*

PCR para especies de *Plasmodium* con muestra individual: positiva para *Plasmodium vivax*

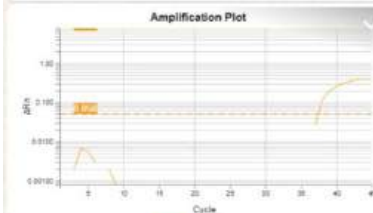
Primer caso positivo de Nat Malaria em São Paulo, Brasil



NÚCLEO DE ESTUDOS EM MALÁRIA
Laboratório de Referência em Malária IAL/HCFMUSP



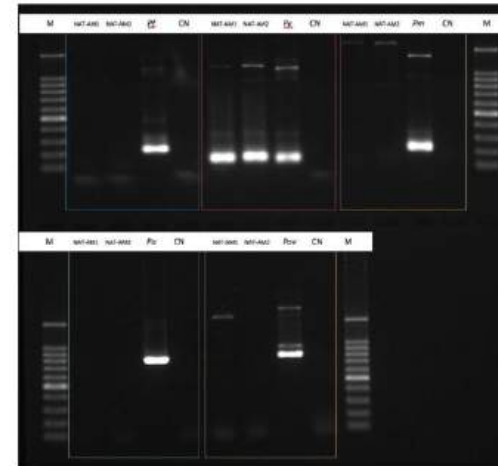
Em pool de seis amostras coletas do dia 24/4/25.



Plasmodium sp

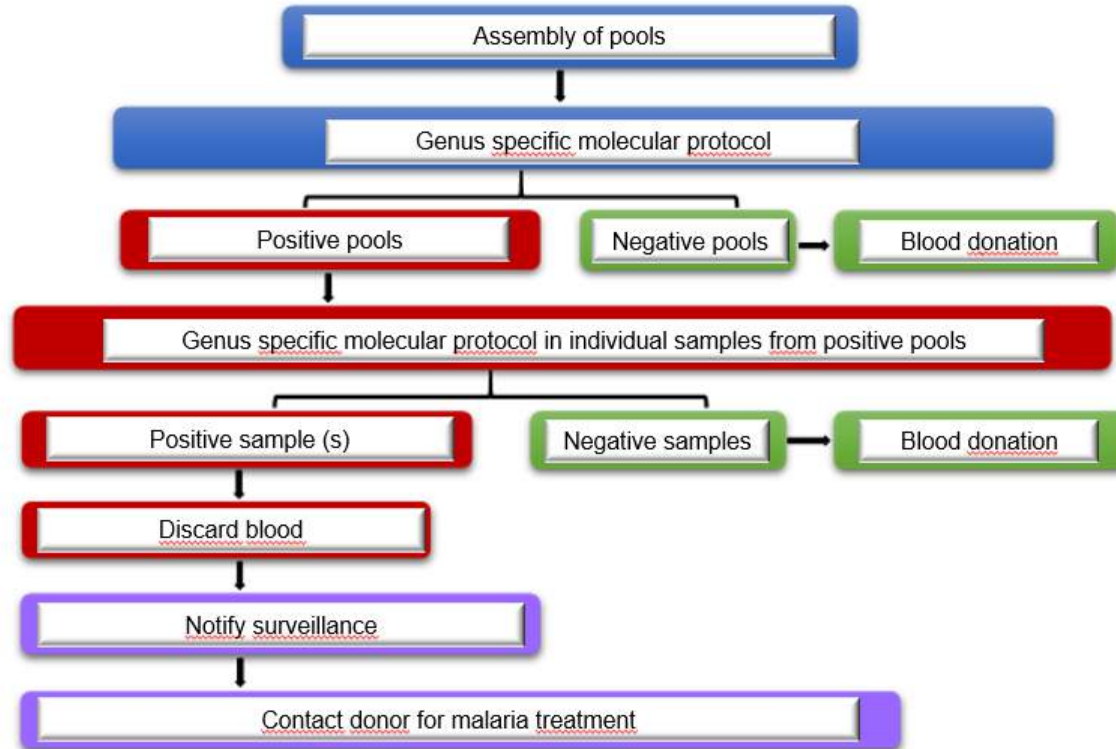


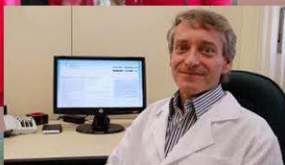
Plasmodium sp



Nested PCR para detecção de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovalecurtisi* e *P. ovalewallikeri* (Snounou et al., 1993; 2024).

Proposed algorithm for screening donors in blood banks





AGRADECIMENTOS



Christina Rita de Camillo Toniolo
Maria de Jesus Costa-Nascimento
Maria de Lourdes R. N. Farinas
Maria Silvia Araújo Pereira de Paula



Dra. Carmen Arroyo Sanchez
Dr. José Eduardo Levi
Ruth Tamara Valencia-Portillo
Programa de Pós-Graduação Doenças Infecciosas e Parasitárias (FMUSP)



Dr. Venkatachalam Udhayakumar



Dra. Carola J. Salas



Dr. Alfredo Mendrone Júnior
Dra. Sandra Camargo Montebello



Dr. Denys Eiti Fujimoto
Dra. Thereza Picado
Larissa Campos



O COMBATE À MALÁRIA

CIDADÃOS,
COMUNIDADE
E GOVERNO.

ACONTECE COM A PARTICIPAÇÃO DE TODOS:



Saiba mais em
gov.br/malaria



MINISTÉRIO DA
SAÚDE





Gracias

santi@usp.br
 silvia.santi@fm.usp.br
 silvia.santi@hc.fm.usp.br
 silvia.santi@ial.sp.gov.br