

Malaria mixta: prevalencia en Colombia y América Latina

Jaime Carmona-Fonseca¹, Eliana Arango-Flórez¹

RESUMEN

Antecedentes: se conoce poco sobre la infección plasmodial mixta (IPMx) y la malaria mixta (MMx).

Objetivo: revisar y resumir la información sobre la frecuencia de IPMx/MMx en Colombia y América Latina.

Metodología: revisión sistemática sobre IPMx/MMx; se consultó en *Pubmed* y *Lilacs* con las expresiones “malaria mixta” o “mixed malaria”.

Resultados y conclusiones: la información específica recuperada fue escasa, dispersa y difícil de hallar. La IPMx/MMx se subestima con frecuencia relativamente alta al usar microscopía de luz (gota gruesa). Es frecuente la aparición de una especie plasmodial luego del tratamiento exitoso de la infección por otra especie. El comportamiento epidemiológico de la IPMx/MMx es muy variable en función de la intensidad y la estabilidad de la transmisión, la influencia de los ciclos de lluvia, la edad de las personas y la fauna anofelina. En América Latina, con gota gruesa, 0,46% de las infecciones confirmadas fueron IPMx y con reacción en cadena de la polimerasa (PCR) alcanzaron 12,78%. En Colombia, en 2001-2010, la MMx tuvo un aporte promedio de 1,44% sobre el total de casos de paludismo, que representan 1.839 casos/año. Hasta donde conocemos, por primera vez se presentan datos básicos organizados sobre la frecuencia de IPMx/MMx en Colombia y América Latina.

PALABRAS CLAVE

Frecuencia; Malaria; Malaria Mixta; Plasmodium; Prevalencia; Revisión Sistemática

SUMMARY

Mixed malaria: prevalence in Colombia and Latin America

Background: Mixed plasmodial infection (MxPI) and mixed malaria (MxM) are poorly understood.

¹ Grupo Salud y Comunidad-César Uribe Piedrahita, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Correspondencia: Jaime Carmona-Fonseca; jaimecarmonaf@hotmail.com

Recibido: agosto 23 de 2011
Aceptado: abril 16 de 2012

Objective: To review information about MxPI/MxM and to collect and organize Colombian and Latin American data.

Methods: Systematic review on MxIP/MxM; the terms 'mixed malaria' or 'malaria mixta' were used for a search in *PubMed* and *Lilacs*.

Results and conclusions: Information retrieved was scarce, disperse and difficult to find. MxPI/MxM is underestimated by microscopy (thick blood smear). A second plasmodial species is often detected after successful treatment for infection with another. Epidemiological behavior of MxPI/MxM is variable and depends on transmission intensity and stability, rain cycles, age of patients and anopheline fauna. In Latin America, according to the results of thick blood smear, 0.46% of confirmed infections were MxPI, and with PCR, that proportion reached 12.78%. In Colombia, between 2001 and 2010, MxM (1.839 cases per year) represented an average of 1.44% of the total malaria cases. To our knowledge, this is the first report about baseline data on MxPI/MxM in Colombia and Latin America.

KEY WORDS

Frequency; Malaria; Mixed Malaria; Plasmodium; Prevalence; Systematic Review

INTRODUCCIÓN

La infección humana natural por dos o más especies diferentes de *Plasmodium* se denomina infección plasmodial mixta (IPMx). Si, además, existen síntomas como fiebre, escalofrío, cefalea, sudoración, entre otros, corresponde a la enfermedad llamada malaria mixta (MMx).

En muchos sitios de Asia, África y América existen IPMx y MMx (1). Las interacciones entre especies pueden modificar la dinámica intrahospedero de los plasmodios infectantes y las manifestaciones clínicas (2,3) y alterar la transmisión potencial desde los humanos (4). Las interacciones influyen, pues, en la epidemiología de la malaria (5). Se sugiere que las interacciones entre especies y las diferencias en la estacionalidad y la intensidad de transmisión

maláricas son la base de la variación epidemiológica y clínica de la MMx (6).

En el mundo existe poca y dispersa información específica sobre IPMx. En América, incluida Colombia, es casi nulo el conocimiento sobre el tema. El diagnóstico de IPMx se hace identificando en la muestra de sangre la presencia simultánea de formas parasitarias eritrocíticas (asexuales y/o sexuales) de dos o más especies de *Plasmodium*. La morfología de las formas eritrocíticas asexuales (anillos o trofozoítos jóvenes, trofozoítos maduros, esquizontes) y sexuales (gametocitos) de las cinco especies de *Plasmodium* que parasitan al humano es muy diferente en el extendido delgado (ED) pero no en la gota gruesa (GG). Sin embargo, en muchos sitios el diagnóstico rutinario se hace con GG, sin usar ED, porque la GG es 20-30 veces más sensible que el ED, aunque menos específica (7,8). Es pertinente preguntar cuánta será la influencia del método diagnóstico rutinario (GG) en el subregistro de la IPMx. Los documentos de la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud (OPS-OMS) para el diagnóstico de malaria no mencionan el diagnóstico de la IPMx/MMx (8,9).

Por varias razones existen problemas con el dictamen de la IPMx: a) es difícil detectarla cuando la parasitemia por una especie es fuertemente superior a la de otra(s) (situación que es la predominante), sobre todo con la microscopía de luz (ML) (la GG se usa siempre para buscar los parásitos (8) y el ED, para confirmar la especie plasmodial cuando esto no logra hacerse con la GG; solo en situaciones excepcionales se usa el ED para buscar los parásitos) (8); b) no son claros y precisos los criterios para decir cuándo hay IPMx al usar GG, que es la prueba diagnóstica usualmente empleada en América Latina y Colombia (10-12).

El objetivo de esta revisión fue recopilar, analizar y resumir información sobre la frecuencia de IPMx/MMx en Colombia y América Latina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Buscamos en *Descriptores en Ciencias de la Salud* (<http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>) y en *Medical Subject Headings* (MeSH) (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) los términos infección mixta/mixed infection

y coinfección/co-infección (MeSH solo da la opción *Bacterial Infections and Mycoses*); los resultados siempre fueron negativos. En ambas fuentes, los términos infección/infección no dan ninguna opción para buscar infecciones por dos o más agentes.

Buscamos en *Pubmed* y *Lilacs* con “mixed malaria” y “malaria mixta”. Cualquier otro término usado (“mixed plasmodial infection”, “mixed infection, malaria”, “coinfección, malaria”, “coinfección, plasmodium vivax, plasmodium falciparum”, etc.) siempre captó menos referencias que “mixed malaria” (*Pubmed*) o “malaria mixta” (*Lilacs*), todas las cuales estaban contenidas en “mixed malaria” o “malaria mixta”. Con “mixed malaria” asociado al nombre de cada país de América Latina se buscó información en *Pubmed*. Siempre se hallaron resultados muy diferentes en cuanto a cantidad y especificidad.

Se buscó información de Colombia y sus regiones en el Informe Quincenal Epidemiológico Nacional (IQEN), en el Boletín Epidemiológico Semanal (BES), en el Boletín Epidemiológico de la Malaria en Colombia, en documentos hallados en el portal de OPS Colombia (<http://new.paho.org/col/>) y en la página de la Dirección Seccional de Salud de Antioquia (DSSA) (<http://www.dssa.gov.co>). Se solicitaron datos a las autoridades sanitarias del departamento de Córdoba. En *Pubmed* y *Lilacs*, los datos se buscaron hasta el 15 junio de 2011, sin restricción de idioma ni de otra índole.

En cada artículo se buscó específicamente el dato sobre frecuencia (número absoluto, porcentaje) de IPMx/MMx, así como sobre variables epidemiológicas de persona, tiempo y lugar referidas a ellas.

RESULTADOS

En *Pubmed*, con “mixed malaria”, se recuperaron más de 900 artículos, de los cuales más de 850 se referían al tema únicamente porque en alguna parte mencionaban que cierta cantidad de pacientes tenía “mixed malaria”, o que los pacientes con malaria mixta habían sido excluidos, etc.; 47 de esos artículos fueron revisiones (entre 1980 y septiembre 2010), que se analizaron todas: únicamente ocho trataban específicamente el problema de IPMx/MMx, pues las demás apenas mencionaban la expresión referida.

En *Lilacs* con “malaria” y “mixta” se hallaron nueve referencias, todas las cuales apenas mencionaban la expresión “malaria mixta” en el texto. Se revisaron todas las referencias de países latinoamericanos (halladas en *Pubmed* con “mixed malaria” y el nombre del país) y se incluyeron en este informe todas las pocas que efectivamente aportaban datos sobre IPMx. Los datos de Colombia únicamente se refirieron a la cantidad de casos de IMPx/MMx, sin dar información sobre otros aspectos.

La IPMx es usualmente doble, pero existen infecciones triples y cuádruples (2,13-15). Es común que no sea reconocida o que sea subestimada (16,17). La frecuencia de IPMx es 4-5 veces mayor con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que con microscopía de luz (ML) (16,18-20), como 3,48% con ML y 20,22% con PCR (16). Las infecciones ocultas por *P. falciparum* pueden detectarse en 75% de las veces con pruebas diagnósticas rápidas basadas en la detección de la proteína 2 rica en histidina (HRP2), pero tales pruebas son poco útiles para detectar las infecciones crípticas por *P. vivax*, por su poca sensibilidad (17,21). Se han propuesto métodos matemáticos para estimar las infecciones por múltiples especies parasitarias (22).

Algunos datos sobre la frecuencia de IPMx en países de Asia y África indican lo siguiente: (14,16,17,23-30) a) la prevalencia varía según el tipo de estudio y el lugar; b) en Tailandia, la IPMx afecta a menos de 2% de los pacientes febriles (no casos confirmados de malaria); en Tailandia, con PCR y entre pacientes con malaria, la IPMx tiene frecuencia de 23-24% en el oeste y de 3-5% en el este y el sur; 33% de los casos positivos para *P. falciparum* tienen coinfección con *P. vivax* y 8% de los casos de *P. vivax* tienen coinfección con *P. falciparum* (17); c) en Laos, en casos confirmados de malaria, la IPMx alcanza 6,8% con GG y 20,5% con PCR; d) en Irán, en casos de paludismo, la IPMx *P. falciparum*-*P. vivax* fue 2,9% con GG y 29,3% con PCR; e) en Papua Nueva Guinea, entre casos de malaria, las frecuencias de IPMx fueron: *P. falciparum*-*P. vivax* 7,2%; *P. falciparum*-*P. malariae* 5,6%; *P. vivax*-*P. malariae* 1,4%; f) en Kenia, entre 102 pares madre-neonato evaluados con PCR, las madres con IPMx tuvieron más probabilidad de tener hijos también con IPMx (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*), pero las especies de parásitos identificados no siempre concordaron entre madres e hijos (31).

La frecuencia de IPMx en madres y neonatos fue muy elevada en Kenia: 54% en madres y 45% en neonatos. Las infecciones dobles se vieron en 13% y 11% de madres y neonatos, respectivamente, mientras las triples aparecieron en 11% en cada grupo (31).

Los autores creen posible que los eritrocitos maternos infectados por *Plasmodium* puedan atravesar las pequeñas roturas en la membrana sincitiotrofoblástica para acceder a la circulación fetal durante el embarazo. Las células maternas infectadas pueden persistir hasta el momento del parto o dar lugar a la infección de los eritrocitos fetales (31). Conviene anotar que la aparición de *P. vivax* después del tratamiento del episodio por *P. falciparum* ocurrió en 18,0% de las veces, sin diferencias según el tratamiento para *P. falciparum* (16). La aparición de *P. falciparum* después de tratar un episodio por *P. vivax* sucedió en 9,9% de las veces (16).

Los datos sobre IPMx en América Latina se lograron únicamente para cuatro países (tabla 1) (18,32-54). Con GG, solo 0,46% de las infecciones confirmadas fueron IPMx; los valores oscilaron entre 0 y 18%, con mediana 2,66%. Con PCR, las IPMx/MMx alcanzaron 12,78%, oscilando entre 0 y 71%, con mediana 20% (7,5 veces el valor con GG). Los promedios de prevalencia de IPMx, con GG, en los cuatro países, tienen este orden creciente: Perú (0,28%), Venezuela (1,68%), Brasil (3,30%) y Colombia (3,24%). Dentro de cada país también hay notoria variación en los datos.

La información sobre Colombia y sus regiones indica que en la zona del Pacífico existe transmisión natural de *P. malariae*: el departamento del Valle del Cauca aporta 85% y los departamentos de Chocó y Cauca, 15% (55). En 2007 hubo, en Colombia, 19 casos reportados debidos a *P. malariae* (56) y en 2010 hubo 57 casos (57).

La malaria en Colombia, 2001-2010, mostró estos promedios: 127.371 casos/año; 63,0% de ellos por *P. vivax*; 35,5% por *P. falciparum*; 1,4% (IC95% Fleiss 1,38 a 1,51) por ambas especies (MMx) (tabla 2-A) (56-66). En una epidemia (noviembre 1999 a abril 2000), en la Guajira, entre 5.687 casos palúdicos hubo 59,8% (3.401) por *P. falciparum*, 39,7% (2.256) por *P. vivax* y 0,5% (30 casos) de IPMx, o sea un tercio del promedio en condiciones no epidémicas (67). Por otra parte, en 102 muestras de pacientes febriles en Quibdó (Chocó),

se midió con PCR, en 2000, la prevalencia de IPMx y se encontró en 1% (68).

La distribución de la MMx por regiones colombianas, en 2006-2007, enseña que la región formada por los departamentos de Córdoba y Antioquia aportó 60% del total de casos de paludismo, 72% de la malaria *vivax* y 45% de la MMx, que es el mayor aporte porcentual por regiones en cuanto a MMx (tabla 2-B). La región de la costa Pacífica aportó 24% del total de casos, apenas 10% de los casos por *P. vivax* y 20% de la MMx. La región de los Llanos Orientales (Orinoquia) generó únicamente 8% del total de casos y la misma cifra en malaria *vivax*, pero aportó 20% de la MMx. En el Pacífico, Los Llanos Orientales, la costa Atlántica y la región Norandina, la MMx supera el aporte del paludismo por *P. vivax*.

El aporte porcentual de la MMx en cada región de Colombia es así: las regiones con mayor aporte de MMx fueron la Atlántica (4,7%: casi 5 de cada 100 casos fueron por MMx), la Surandina (3,8%) y la Orinoquia (2,9%). El menor aporte estuvo a cargo de las regiones Norandina, Pacífico y Córdoba-Antioquia (0,8-0,9%). El mayor aporte de la MMx al total de casos de cada región sucede en la región Atlántica (razón Total/MMx = 21), mientras que el menor ocurre en la Amazonia (razón Total/MMx = 122). En Colombia la razón es 89, de tal forma que por 1 caso de MMx hay 89 casos totales de paludismo. En 2006-2007, los porcentajes de casos totales de las malarías mixta y *vivax* tuvieron correlación estadísticamente significativa (coeficiente lineal de Pearson = 0,91, coeficiente de determinación $R^2 = 0,82$ (IC95% 0,19 a 0,97), es decir, que cuando aumentan los casos por *P. vivax*, también aumentan los de MMx.

Los datos de MMx en Antioquia, en 1996-2009 (69), informan que el índice parasitario anual (IPA) ajustado para MMx varió entre 0,120 por mil y 0,408 por mil (promedio: 0,2447; mediana: 0,243) (tabla 3-A). La frecuencia de MMx en el departamento de Antioquia, en 1996-2009, fue de 229 casos/año, para un total de 3.302 casos en ese período. En las regiones de Bajo Cauca y Urabá sucede más de 90% de los casos de Antioquia. En las otras zonas de Antioquia el número y porcentaje de IPMx solo tiene magnitud importante en el Nordeste (tabla 3-B).

Tabla 1. Frecuencia de IPMx/MMx *P. falciparum*-*P. vivax* en países de América Latina, entre el total de casos comprobados de paludismo *

GG	País	Plasmodium (+)	IPMx/MMx		Autor	Año	Ref
			n	%			
Venezuela		449	4	0,80	Gómez	2009	32
		202	2	1,20	Zerpa	2008	35
		100	0	0,10	Moreno	2007	34
		375	15	4,00	Magris	2007	33
		57	1	1,75	Rodulfo	2007-a	39
		93	1	1,07	Rodulfo	2007-b	38
		100	0	0,00	Postigo	1998	43
Total país		1.376	23	1,68			
Perú		2.988	31	1,04	Forney	2001	37
		58	0	0,00	Ayala	2006	36
		65	2	3,08	Calderón	2006	40
		54.585	130	0,24	Perú-Minsa	2009	42
Total país		57.696	163	0,28			
Colombia		31	2	6,50	Cucunuba	2008	41
		431	13	3,01	van den Broek	2006	46
Total país		462	15	3,24			
Brasil: región Amazonia		62	2	3,23	Ladeia-Andrade	2009	45
		123	4	3,25	Costa	2008	44
		326	60	18,40	da Silva-Nunes	2.007	48
		131	6	4,60	Di Santi	2.004	18
		1.699	1	0,07	Martínez-Espinosa	2004	54
		43	1	2,32	Alves	2002	47
Brasil: Estado Sta Catarina		259	13	5,00	Machado	2003	
Total país	Total país		2.643	87			
Total GG		62.177	288	0,46			
PCR							
México		17	0	0,00	Kain	1992	49
Venezuela		59	17	29,00	Postigo	1998	43
		7	5	71,00	Kain	1992	49
Perú		58	2	3,40	Ayala	2006	36
		76	6	7,90	Calderón	2006	40
Total Perú		141	13	9,21			
Brasil: región Amazonia		183	12	6,56	Andrade	2010	50
		235	51	21,70	Costa	2008	44
		60	15	25,00	da Silva-Nunes	2008	48
		400	9	2,30	Fugikaha	2.007	52
		175	35	20,00	Alves	2002	47
		96	20	20,83	Cavasini	2000	51
Total Brasil		1.149	142	12,38			
Total PCR		1.583	202	12,78			

* No se hallaron datos para los demás países

Tabla 2. Malaria mixta *P. falciparum*-*P. vivax* en Colombia y sus regiones entre el total de casos comprobados de paludismo

A. Colombia, 2001-2010: casos por año, según especie

Año	Total	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	Mixta	Mixta (%)	Ref
2001	228.324	130.229	96.026	2.069	0,91	62
2002	143.789	91.593	50.054	2.142	1,49	62
2003	124.077	76.217	45.344	2.516	2,03	60
2004	123.177	77.539	43.354	2.284	1,85	63
2005	107.866	70.066	36.190	1.610	1,49	64
2006	108.432	68.431	38.060	1.941	1,79	65
2007	110.389	79.028	30.065	1.277	1,16	56
2008	61.771	38.059	22.802	910	1,47	66
2009	149.999	89.764	58.031	2.204	1,47	83,84
2010	115.884	81.947	32.446	1.434	1,24	57
Media	127.371	80.287	45.237	1.839	1,44†	

*Incluye 19 casos de *P. malariae*. † Incluye 57 casos de *P. malariae*. $\#1.839/127.317 = 1,44$ con IC95% 1,38 a 1,51, según procedimiento de Fleiss

B. Colombia, 2006-2007: casos y porcentajes* por región

Región †	Malaria	Total	Mixta		<i>P. vivax</i>		<i>P. falciparum</i>	
Córdoba-Antioquia	61.458	60,2	531	45,7	50.467	72,1	10.460	34,4
Pacífico	23.806	23,9	220	20,0	6.756	9,8	16.830	55,3
Oriental	8.052	8,1	231	20,4	5.503	8,1	2.318	7,6
Amazonia	4.378	4,2	36	3,2	3.822	5,4	520	1,7
Atlántica	1.598	1,5	75	6,4	1.330	1,8	193	0,6
Norandina	1.086	1,0	9	0,8	1.048	1,4	29	0,1
Surandina	969	0,9	37	3,2	861	1,2	71	0,2
Colombia	101.467	100,0	1.140	100,0	69.887	100,0	30.440	100,0

* En cada clase de malaria, los porcentajes expresan cuánto aportó cada región.

† Las regiones tienen esta conformación por departamentos: Antioquia-Córdoba; *Pacífica*: Chocó, Valle, Cauca, Nariño; *Orinoquia/Oriental/Llanos Orientales*: Arauca, Casanare, Meta, Vichada, Guaviare; *Amazonia*: Amazonas, Guainía, Vaupés, Putumayo, Caquetá; *Atlántica*: Guajira, Cesar, Magdalena, Atlántico, Bolívar, Sucre, San Andrés; *Surandina*: Huila, Tolima, Quindío, Risaralda, Caldas; *Norandina*: Cundinamarca, Boyacá, Santander, Norte Santander

Fuente: cálculos nuestros a partir de los datos de las referencias 57,64-66

Los casos de MMx en Bajo Cauca y Urabá, 1998-2009, representaron en promedio 35% del total de Antioquia, el IPA de MMx en tales zonas fue en promedio 0,270 por mil (el de Antioquia fue 0,254 por mil (datos no mostrados). En Antioquia, pero no en Bajo Cauca ni Urabá, hay correlación significativa

entre los IPA de la malaria *vivax* y la MMx y es positiva. En 291 pacientes hospitalizados por malaria, en centros de Medellín (Colombia), entre 1992 y 1996, se halló que 8% tenían diagnóstico de malaria mixta por *P. falciparum* y *P. vivax* pero no se avanzó en la descripción de esos casos (70).

Tabla 3. Malaria mixta *P. falciparum*-*P. vivax* en Antioquia y sus regiones, 1996-2009 entre el total de casos comprobados de paludismo

A. Malaria mixta: Antioquia, 1996-2009: casos e IPA ajustado por 1.000 expuestos

Antioquia	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Casos	136	183	241	92	192	307	351
IPA aj x 1.000 exp*	0,156	0,210	0,270	0,102	0,216	0,336	0,378
Antioquia	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Casos	252	351	388	203	269	116	121
IPA aj x 1000 exp*	0,270	0,354	0,408	0,210	0,276	0,120	0,120

* Cálculos nuestros con datos de la DSSA; IPA ajustado según Carmona-Fonseca 2003 69
Promedios período 1996-2009: casos 226, IPA ajustado 0,245. Cursiva: valores mayores que el promedio

B. Malaria mixta en zonas de Antioquia, 1996-2009: casos y porcentajes del total de Antioquia

Zona	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	media*
<i>Antioquia</i>	136	183	241	92	192	307	351	252	351	388	203	269	116	121	229
Bajo Cauca	47	63	56	16	68	110	185	102	120	133	69	92	40	41	86
Urabá	46	61	63	25	107	131	99	53	118	130	68	90	39	41	80
Nordeste	19	26	51	24	5	17	27	53	49	54	28	38	16	17	32
Magdalena Medio	6	8	3	1	7	15	18	25	15	17	9	12	5	5	11
Occidente	5	7	19	6	0	16	11	4	14	16	8	11	5	5	10
Norte	2	3	3	2	1	5	3	6	5	6	3	4	2	2	4
Oriente	1	2	10	0	2	2	2	0	4	4	2	3	1	1	3
Suroeste	3	4	18	1	0	7	4	2	7	8	4	6	2	3	5
Valle de Aburrá	7	10	18	17	2	4	2	7	19	20	11	14	6	6	11
Promedio*	15	20	27	10	21	34	39	28	39	43	22	30	13	13	27

* Promedio anual en 1996-2009: 226 casos en Antioquia y 27 casos por región.

Fuente: cálculos nuestros a partir de datos extraídos, en diferentes fechas, del portal internet de la DSSA que publica información sobre malaria. Parte de esa información ya no está disponible allí. El portal tiene esta dirección: <http://www.dssa.gov.co/>. Estando allí, en marzo de 2011, en la barra de menú principal se toma la opción "Estadísticas" y en esta la opción Eventos de salud pública; dentro de esta se toma "Enfermedades Transmitidas por Vectores a 2009" y en esta "Malaria". Los datos actuales (25 marzo 2011) se refieren a la frecuencia (casos y tasa) de malaria desde 2000 hasta 2009, según el total departamental, por región y municipio. Los datos ahora disponibles no entregan la frecuencia por especie.

Los datos obtenidos en la Secretaría de Desarrollo de la Salud del departamento de Córdoba señalan la frecuencia de IPMx, en 2001-2009, entre 0,78% y 1,90%, con promedio de 1,08% (mediana 1,05%). En ese período, el promedio fue de 31.554 casos/año: *P. vivax* causó 74%, *P. falciparum* 25%, IPMx 1% en una población expuesta de 1.433.461 habitantes (promedio del período).

Entre gestantes, examinadas con PCR, la frecuencia de IPMx *P. vivax*-*P. falciparum* fue nula en Colombia (71) y 2,7% en Malawi (*P. falciparum*-*P. malariae*) (72). En gestantes, examinadas con microscopía de luz, la frecuencia de IPMx *P. vivax*-*P. falciparum* fue de 0,07% en Brasil (54), 2% en Colombia (73), 0,8% en Venezuela (32), 8,3% en Papua, Indonesia (74), 9,3% en India (75).

DISCUSIÓN

Existen pruebas suficientes de que la frecuencia de IPMx es fuertemente subestimada con la microscopía de luz y que su verdadera magnitud solo puede captarse con procedimientos moleculares. Por otra parte, la gota gruesa no es adecuada para establecer la presencia de IPMx, sino que lo adecuado es el extendido delgado, pero este solo se usa excepcionalmente en los puestos de diagnóstico de malaria en las zonas endémicas, como sucede en Colombia, lo cual agrava el subregistro.

La IPMx ocurre en Colombia en 1,44% de los casos de malaria confirmados con gota gruesa, que con PCR se elevarían a 5%, según lo hallado en Urabá (60). Esto plantea retos para el tratamiento y riesgos para la madre y el hijo.

Los datos de la mayoría de los estudios de prevalencia de infecciones plasmodiales revelan menos IPMx/MMx de lo que cabe esperar en función del producto de las frecuencias individuales de cada especie (es decir, bajo el supuesto de que las infecciones por especie sean independientes entre sí). Según este trabajo, en Colombia, 2001-2010, la frecuencia promedio de malaria por *P. vivax* fue de 0,62, la de *P. falciparum* fue 0,36 y la IPMx/MMx fue 0,0144, cuando cabría esperar una frecuencia de IPM/MMxx de $0,2232$ ($0,630 \times 0,355 = 0,2239$).

La menor frecuencia observada con respecto a la esperada sugiere que un parásito ha excluido al otro o ha suprimido la parasitemia a niveles indetectables (6,24,76-77). Sin embargo, una explicación alternativa es la subestimación del número de IPMx mediante la microscopía de luz (6,78).

Parece que *P. falciparum* tiende a suprimir a *P. vivax* y que este atenúa la gravedad de la infección por aquel; hay evidencia de alguna inmunidad cruzada entre especies (16). No obstante, hay informes individuales (en vez de las revisiones de estudios antes citadas) que señalan que las IPMx son comunes y que las especies de Plasmodium parecen establecer la infección independientemente entre sí (13). En síntesis, nuestro reconocimiento cada vez mayor de la creciente prevalencia de IPMx en regiones endémicas de paludismo ha originado controversia respecto a mecanismo(s) probable(s) de regulación de la carga

parasitaria de cada *Plasmodium* en un hospedero humano individual (79).

Si la interacción directa entre las especies de *Plasmodium* en una persona infectada sucede en grado significativo, es de esperar que estas interacciones influyan en la distribución de las especies dentro de la población endémica (80).

Para el par de *P. vivax*-*P. falciparum* la mayor prevalencia de las especies se asocia con menos IPMx de lo esperado sobre la base del producto de la prevalencia de especies individuales (81), pero tal relación inversa no se encontró para *P. malariae*-*P. falciparum* (82). Los mismos autores, en otra revisión, afirmaron que la más notable diferencia entre el trío *P. falciparum*-*P. malariae*-*P. ovale* y el trío *P. falciparum*-*P. malariae*-*P. vivax* era que el primero mostraba típicamente un superávit estadístico de las IPMx y el segundo, un déficit (25).

En una región de Papua Nueva Guinea con alta prevalencia de malaria se hallaron estas frecuencias de especie: *P. falciparum* 39,6%; *P. vivax* 18,3%; *P. malariae* 13,8%. Las coinfecciones *P. vivax*-*P. falciparum* y *P. malariae*-*P. falciparum* se detectaron casi exactamente con las frecuencias predichas si las infecciones por diferentes especies ocurriesen en forma independiente, pero la coinfección *P. vivax*-*P. malariae* ocurrió solo en la mitad de lo esperado bajo tal supuesto. Un análisis transversal de los datos halló que la infección por *P. falciparum* era independiente de las otras especies a pesar de la heterogeneidad de la transmisión. Las infecciones por *P. vivax* y *P. malariae* se correlacionaron negativamente (si la una aumentaba, la otra se reducía). La infección por *P. malariae* se asoció positivamente con infección por esa misma especie en los cuatro meses anteriores y con infección previa por *P. falciparum*, pero no por *P. vivax*; no hubo indicación de que otra especie protegiera contra infecciones heterólogas. Los datos apoyaron la idea de que las infecciones por *P. malariae* protegen contra enfermedad, pero indicaron mayor protección contra fiebres no maláricas que contra fiebres asociadas a *P. falciparum*. La infección por *P. vivax* pareció proteger contra enfermedad por *P. falciparum*, pero no contra otras formas de morbilidad (como portador asintomático del parásito, por ejemplo). La patencia (infección manifiesta) por

P. falciparum se asoció negativamente con subsiguientes episodios clínicos sin parasitemia, pero positivamente con episodios con parásitos homólogos (29).

El metaanálisis ya citado (1) encontró que entre *P. falciparum* y *P. vivax* hubo, en general, una interacción negativa, pero se observó una considerable heterogeneidad. Los autores concluyeron que aunque el tipo de relaciones halladas entre *P. falciparum* y *P. vivax* puede ser debido en parte a las IPMx que se perdieron al leer las placas de sangre, la asociación negativa y la prevalencia (a más prevalencia, menos IPMx) apoya la existencia de interacciones biológicas tales como la supresión o la inmunidad cruzada entre las especies (1).

La edad de las personas y el nivel y estabilidad de la transmisión influyen en la frecuencia de la IPMx, como se demostró en Malawi, donde se hizo un estudio sobre la distribución de las IPMx en menores de 15 años y en adultos de tres regiones de transmisión (*transmisión perenne*: la intensidad de transmisión varía mucho durante el año según las lluvias; *transmisión estacional de alta intensidad*: tierras por debajo de 500 msnm; estación húmeda; *transmisión estacional de baja intensidad*: tierras por sobre 1.000 msnm; estación húmeda). Los datos indicaron que en niños hubo exceso de IPMx por tres especies en las regiones de transmisión estacional ($p = 0,0001$) y hubo distribución al azar en la región de transmisión perenne ($p = 0,14$); en los adultos, hubo exceso de IPMx tanto en las zonas de transmisión estacional ($p = 0,0009$) como perenne ($p = 0,13$) (5).

CONCLUSIONES

- La IPMx/MMx con frecuencia variable pero relativamente alta se subestima al usar microscopía de luz.
- Es frecuente la aparición de una especie plasmodial luego del tratamiento exitoso de la infección por otra especie y eso indica infección oculta por la segunda en aparecer (*P. vivax* después de *P. falciparum* es menos frecuente que lo contrario, con relación 1:2).
- El comportamiento epidemiológico de la IPMx/MMx parece ser muy variable en función de la

intensidad y la estabilidad de la transmisión, la influencia de los ciclos de lluvia, la edad de las personas, la fauna anofelina, entre otros condicionantes.

- La MMx representa 0,46% de los casos de paludismo confirmados con gota gruesa en América Latina y 12,78% de aquellos diagnosticados con PCR.
- La MMx en Colombia, en 2001-2010, tuvo un aporte promedio de 1,44% (1.890 casos/año) sobre el total de casos de paludismo.
- El promedio de MMx en Antioquia, 1996-2009, fue 229/año, con IPA ajustado promedio de 0,2447 por cada 1.000 expuestos.

Conflicto de intereses

Ninguno para declarar.

Financiación

Colciencias (proyecto 111540820495, contrato RC 238-2007; proyecto 111549326134, contrato 611-2009); Universidad de Antioquia; Codi-Universidad de Antioquia proyecto 8764-2521.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Haghdoost AA, Alexander N. Systematic review and meta-analysis of the interaction between *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in humans. *J Vector Borne Dis.* 2007 Mar;44(1):33-43.
2. Bruce MC, Day KP. Cross-species regulation of *Plasmodium* parasitemia in semi-immune children from Papua New Guinea. *Trends Parasitol.* 2003 Jun;19(6):271-7.
3. Bruce MC, Donnelly CA, Alpers MP, Galinski MR, Barnwell JW, Walliker D, et al. Cross-species interactions between malaria parasites in humans. *Science.* 2000 Feb 4;287(5454):845-8.
4. McKenzie FE, Jeffery GM, Collins WE. *Plasmodium malariae* infection boosts *Plasmodium falciparum* gametocyte production. *Am J Trop Med Hyg.* 2002 Oct;67(4):411-4.
5. Bruce MC, Macheso A, Kelly-Hope LA, Nkhoma S, McConnachie A, Molyneux ME. Effect of transmission setting and mixed species infections on clinical measures of malaria in Malawi. *PLoS one.* 2008 Jan;3(7):e2775.

6. Richie TL. Interactions between malaria parasites infecting the same vertebrate host. *Parasitology*. 1988 Jun;96 (Pt 3):607–39.
7. Alger J. Diagnóstico microscópico de la malaria gota gruesa y extendido fino. *Rev Med Hond*. 1999;(67):216–8.
8. World Health Organization. Basic malaria microscopy. Geneva: World Health Organization; 2010. p. 53.
9. López-Antuñano F. Diagnóstico microscópico de los parásitos de la malaria en la sangre. In: López-Antuñano F, Schmunis G, editors. Diagnóstico de malaria. Washington D.C.; 1988. p. 39–50.
10. Colombia Ministerio de la Protección Social. Guía de atención de la malaria. Guías de promoción de la salud Y prevención de enfermedades en la salud pública. Bogotá D.C.: Ministerio de la Protección Social; 2007. p. 79–131.
11. Gobernación de Antioquia Dirección Seccional de Salud y Protección Social. Protocolo de Vigilancia Epidemiológica para Malaria. Medellín: Dirección Seccional de Salud y Protección Social; 2009. p. 10.
12. Gobernación de Antioquia Dirección Seccional de Salud y Protección Social. Manual para lectura de gota gruesa para malaria. 2nd ed. Medellín: Dirección Seccional de Salud y Protección Social; 2010.
13. Mehlotra RK, Lorry K, Kastens W, Miller SM, Alpers MP, Bockarie M, et al. Random distribution of mixed species malaria infections in Papua New Guinea. *Am J Trop Med Hyg*. 2000 Feb;62(2):225–31.
14. Mueller I, Widmer S, Michel D, Maraga S, McNamara DT, Kiniboro B, et al. High sensitivity detection of Plasmodium species reveals positive correlations between infections of different species, shifts in age distribution and reduced local variation in Papua New Guinea. *Malar J*. 2009 Jan;8:41.
15. William T, Menon J, Rajahram G, Chan L, Ma G, Donaldson S, et al. Severe Plasmodium knowlesi malaria in a tertiary care hospital, Sabah, Malaysia. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jul;17(7):1248–55.
16. Mayxay M, Pukrittayakamee S, Newton PN, White NJ. Mixed-species malaria infections in humans. *Trends Parasitol*. 2004 May;20(5):233–40.
17. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2010. p. 194.
18. Di Santi SM, Kirchgatter K, Brunialti KCS, Oliveira AM, Ferreira SRS, Boulos M. PCR -- based diagnosis to evaluate the performance of malaria reference centers. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2004;46(4):183–7.
19. Kawamoto F, Liu Q, Ferreira MU, Tantular IS. How prevalent are Plasmodium ovale and P. malariae in East Asia? *Parasitol Today*. 1999 Oct;15(10):422–6.
20. Zhou M, Liu Q, Wongsrichanalai C, Suwonkerd W, Panart K, Prajakwong S, et al. High prevalence of Plasmodium malariae and Plasmodium ovale in malaria patients along the Thai-Myanmar border, as revealed by acridine orange staining and PCR-based diagnoses. *Trop Med Int Health*. 1998 Apr;3(4):304–12.
21. Carmona Fonseca J, Franco Gallego A, Arango E, Agudelo OM, Maestre A. Now ICT malaria Pf/Pv® frente a microscopía (gota gruesa-extendido) para diagnóstico de malaria en Urabá (Colombia). *Iatreia*. 2010;23(2):137–45.
22. Howard SC, Donnell CA, Chan MS. Methods for estimation of associations between multiple species parasite infections. *Parasitology*. 2001 Feb;122 (Pt 2):233–51.
23. Mayxay M, Pukritrayakamee S, Chotivanich K, Imwong M, Looareesuwan S, White NJ. Identification of cryptic coinfection with Plasmodium falciparum in patients presenting with vivax malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 2001 Nov;65(5):588–92.
24. Looareesuwan S, White NJ, Chittamas S, Bunnag D, Harinasuta T. High rate of Plasmodium vivax relapse following treatment of falciparum malaria in Thailand. *Lancet*. 1987 Nov 7;2(8567):1052–5.
25. McKenzie FE, Bossert WH. Multispecies Plasmodium infections of humans. *J Parasitol*. 1999 Feb;85(1):12–8.
26. Putaporntip C, Hongsrimuang T, Seethamchai S, Kobasa T, Limkittikul K, Cui L, et al. Differential prevalence of Plasmodium infections and cryptic Plasmodium knowlesi malaria in humans in Thailand. *J Infect Dis*. 2009 Apr 15;199(8):1143–50.
27. Beg MA, Ali SS, Haqqee R, Khan MA, Qasim Z, Husain R, et al. Rapid immunochromatography-based detection of mixed-species malaria infection in Pakistan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005 May;36(3):562–4.
28. Mayxay M, Pukrittayakamee S, Newton PN, White NJ. Mixed-species malaria infections in humans. *Trends Parasitol*. 2004 May;20(5):233–40.

29. Smith T, Genton B, Baea K, Gibson N, Narara A, Alpers MP. Prospective risk of morbidity in relation to malaria infection in an area of high endemicity of multiple species of *Plasmodium*. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;64(5-6):262-7.
30. Ebrahimzadeh A, Fouladi B, Fazaeli A. High rate of detection of mixed infections of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* in South-East of Iran, using nested PCR. *Parasitol Int*. 2007 Mar;56(1):61-4.
31. Tobian AA, Mehlotra RK, Malhotra I, Wamachi A, Mungai P, Koech D, et al. Frequent umbilical cord-blood and maternal-blood infections with *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, and *P. ovale* in Kenya. *J Infect Dis*. 2000 Aug;182(2):558-63.
32. Gómez E, López E, Ache A. [Malaria and pregnancy. San Isidro parish, municipality Sifontes, state of Bolívar, Venezuela, 2005-2006]. *Invest Clin*. 2009 Dec;50(4):455-64.
33. Magris M, Rubio-Palis Y, Menares C, Villegas L. Vector bionomics and malaria transmission in the Upper Orinoco River, Southern Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Jun;102(3):303-11.
34. Moreno JE, Rubio-Palis Y, Páez E, Pérez E, Sánchez V. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. *Med Vet Entomol*. 2007 Dec;21(4):339-49.
35. Zerpa N, Pabón R, Wide A, Gavidia M, Medina M, Cáceres JL, et al. Evaluation of the OptiMAL test for diagnosis of malaria in Venezuela. *Invest Clin*. 2008 Mar;49(1):93-101.
36. Ayala E, Lescano AG, Gilman RH, Calderón M, Pinedo VV, Terry H, et al. Polymerase chain reaction and molecular genotyping to monitor parasitological response to anti-malarial chemotherapy in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2006 Apr;74(4):546-53.
37. Forney JR, Magill AJ, Wongsrichanalai C, Sirichai-sinthop J, Bautista CT, Heppner DG, et al. Malaria rapid diagnostic devices: performance characteristics of the ParaSight F device determined in a multisite field study. *J Clin Microbiol*. 2001 Aug;39(8):2884-90.
38. Rodulfo H, Donato MD, Mora R, González L, Contre-ras CE. Comparison of the diagnosis of malaria by microscopy, immunochromatography and PCR in endemic areas of Venezuela. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(4):535-43.
39. Rodulfo H, de Donato M, Quijada I, Peña A. High prevalence of malaria infection in Amazonas State, Venezuela. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007;49(2):79-85.
40. Calderón Sánchez J del C, Ayala E, Cabrera L, Terry H, Gilman R, Achón G. Comparación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y microscopía en la detección de malaria después del tratamiento para infecciones con *P. vivax* y *P. falciparum*. *Mosai-co Cient*. 2006;3(1):43-8.
41. Cucunubá ZM, Guerra AP, Rahirant SJ, Rivera JA, Cortés LJ, Nicholls RS. Asymptomatic *Plasmodium* spp. infection in Tierralta, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008 Nov;103(7):668-73.
42. Perú Ministerio de Salud. Situación de la malaria en Perú [Internet]. Ministerio de Salud. Lima: Ministerio de Salud; 2009. Available from: <http://www.orascon-hu.org/documentos/2 Iquitos junio - Situacion de la malaria 2009.pdf>
43. Postigo M, Mendoza-León A, Pérez HA. Malaria diagnosis by the polymerase chain reaction: a field study in south-eastern Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998;92(5):509-11.
44. Costa MRF, Vieira PPR, Ferreira C de O, Lacerda MVG de, Alecrim WD, Alecrim M das GC. [Molecular diagnosing of malaria in a tertiary care center in the Brazilian Amazon region]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(4):381-5.
45. Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, de Carvalho ME, Curado I, Coura JR. Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2009 Mar;80(3):452-9.
46. van den Broek I, Hill O, Gordillo F, Angarita B, Hamade P, Counihan H, et al. Evaluation of three rapid tests for diagnosis of *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2006 Dec;75(6):1209-15.
47. Alves FP, Durlacher RR, Menezes MJ, Krieger H, Silva LHP, Camargo EP. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native Amazonian populations. *Am J Trop Med Hyg*. 2002 Jun;66(6):641-8.
48. da Silva-Nunes M, Ferreira MU. Clinical spectrum of uncomplicated malaria in semi-immune Amazonians: beyond the "symptomatic" vs

- "asymptomatic" dichotomy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Jun;102(3):341-7.
49. Kain KC, Wirtz RA, Fernandez I, Franke ED, Rodriguez MH, Lanar DE. Serologic and genetic characterization of *Plasmodium vivax* from whole blood-impregnated filter paper discs. *Am J Trop Med Hyg*. 1992 Apr;46(4):473-9.
 50. Andrade BB, Reis-Filho A, Barros AM, Souza-Neto SM, Nogueira LL, Fukutani KF, et al. Towards a precise test for malaria diagnosis in the Brazilian Amazon: comparison among field microscopy, a rapid diagnostic test, nested PCR, and a computational expert system based on artificial neural networks. *Malar J*. 2010 Jan;9:117.
 51. Cavasini MT, Ribeiro WL, Kawamoto F, Ferreira MU. How prevalent is *Plasmodium malariae* in Rondônia, western Brazilian Amazon? *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000;33(5):489-92.
 52. Fugikaha E, Fornazari PA, Penhalbel R de SR, Lorenzetti A, Maroso RD, Amoras JT, et al. Molecular screening of *Plasmodium* sp. asymptomatic carriers among transfusion centers from Brazilian Amazon region. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007;49(1):1-4.
 53. Machado RLD, D' Almeida Couto AAR, Cavasini CE, Calvosa VSP [Malaria outside the Brazilian Amazonian region: the situation in Santa Catarina State]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(5):581-6.
 54. Martínez-Espinosa FE, Daniel-Ribeiro CT, Alecrim WD. Malaria during pregnancy in a reference centre from the Brazilian Amazon: unexpected increase in the frequency of *Plasmodium falciparum* infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004 Feb;99(1):19-21.
 55. Vergara J, Hurtado S, Alvarez V, Arévalo M, Herrera S. Caracterización de la transmisión de *Plasmodium malariae* en cuatro regiones colombianas endémicas de malaria. *Biomédica* 2001. 2001;21(1):53-61.
 56. Colombia Instituto Nacional de Salud. Informe final sobre malaria, semanas 1 - 52, Colombia, 2007. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2008;13(5):65-80.
 57. Colombia Instituto Nacional de Salud. Semana epidemiológica número 52 de 2010 (26 de diciembre al 1 enero de 2011). *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2011;1-12.
 58. Colombia Instituto Nacional de Salud. Comparación de la información de malaria enviada al Programa de ETV y al Sivigila. Semana epidemiológica 36 del año 2002. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2002;(44).
 59. Colombia Instituto Nacional de Salud. Situación de la malaria en Colombia, semana epidemiológica 44 del año 2003. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2003;(43).
 60. Colombia Instituto Nacional de Salud. Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por vectores 2003-2004. Situación de malaria en Colombia 2003. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2004;(8).
 61. Colombia Instituto Nacional de Salud. Semana epidemiológica número 42 octubre 15 al 21 de 2006. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2006;(43).
 62. Colombia Instituto Nacional de Salud. SIVIGILA: semanas epidemiológicas 37 y 38 (9 al 20 del septiembre de 2002). *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2002;7(19):355-62.
 63. Colombia Instituto Nacional de Salud. Informe de enfermedades transmitidas por vectores. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2005;10(3):33-44.
 64. Colombia Instituto Nacional de Salud. Informe final de malaria, semanas 1 a 52 Colombia, 2005. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2006;11(4):49-53.
 65. Organización Panamericana de la Salud. Situación de salud en Colombia: indicadores básicos. Bogotá D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2007. p. 24.
 66. Organización Panamericana de la Salud. Situación de salud en Colombia: indicadores básicos. Bogotá D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2008. p. 26.
 67. Mendoza N, Montoya R, García M, Padilla J, Bruzón L, Mendoza E. Evaluación de campo de una prueba rápida para el diagnóstico de malaria. *Biomedica*. 2001;21(4):313-9.
 68. Mendoza N, Jaramillo C, Guhl F, Padilla J, Rentería M. Diagnóstico de malaria por el método de la PCR anidada. *Biomedica*. 2001;21(4):320-327.
 69. Cardona Fonseca J. La malaria en Colombia, Antioquia y las zonas de Urabá y Bajo Cauca: panorama para interpretar la falla terapéutica antimalárica. Parte 1. *Iatreia*. 2003;16(4):299-318.
 70. Gonzalez LM, Guzman M, Carmona J, Lopera T, Blair S. Características clinico-epidemiológicas de 291 pacientes hospitalizados por malaria en Medellín (Colombia). *Acta méd. colomb*. 2000;25(4):163-70.
 71. Campos IM, Uribe ML, Cuesta C, Franco-Gallego A, Carmona-Fonseca J, Maestre A. Diagnosis of

- gestational, congenital, and placental malaria in Colombia: comparison of the efficacy of microscopy, nested polymerase chain reaction, and histopathology. *Am J Trop Med Hyg.* 2011 Jun;84(6):929–35.
72. Rantala A-M, Taylor SM, Trotman PA, Luntamo M, Mbewe B, Maleta K, et al. Comparison of real-time PCR and microscopy for malaria parasite detection in Malawian pregnant women. *Malar J.* 2010 Jan;9:269.
 73. Carmona-Fonseca J, Maestre-B A. Incidencia de las malaria gestacional, congénita y placentaria en Urabá (Antioquia, Colombia), 2005-2007. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2009;60(1):19–33.
 74. Poespoprodjo JR, Fobia W, Kenangalem E, Lam-pah DA, Warikar N, Seal A, et al. Adverse pregnancy outcomes in an area where multidrug-resistant *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections are endemic. *Clin Infect Dis.* 2008 May 1;46(9):1374–81.
 75. Hamer DH, Singh MP, Wylie BJ, Yeboah-Antwi K, Tuchman J, Desai M, et al. Burden of malaria in pregnancy in Jharkhand State, India. *Malar J.* 2009 Jan;8:210.
 76. Boyd M, Kitchen S, Matthews C. Consecutive inoculations with *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med.* 1938;18:141–150.
 77. Maitland K, Williams TN, Bennett S, Newbold CI, Peto TE, Viji J, et al. The interaction between *Plasmodium falciparum* and *P vivax* in children on Espiritu Santo island, Vanuatu. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996;90(6):614–20.
 78. World Health Organization. The Garki project: research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan savanna of West Africa. Geneva: World Health Organization; 1980. p. 311.
 79. Gurarie D, Zimmerman PA, King CH. Dynamic regulation of single- and mixed-species malaria infection: insights to specific and non-specific mechanisms of control. *J Theor Biol.* 2006 May 21;240(2):185–99.
 80. Zimmerman PA, Mehlotra RK, Kasehagen LJ, Kazura JW. Why do we need to know more about mixed *Plasmodium* species infections in humans? *Trends Parasitol.* 2004 Sep;20(9):440–7.
 81. McKenzie FE, Bossert WH. Mixed-species *Plasmodium* infections of humans. *J Parasitol.* 1997 Aug;83(4):593–600.
 82. McKenzie FE, Bossert WH. Mixed-species *Plasmodium* infections of humans. *J Parasitol.* 1997 Aug;83(4):593–600.
 83. Colombia Instituto Nacional de Salud. Sivigila: semanas epidemiológicas 45 y 46 (8 al 21 de noviembre de 2009). *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2009;14(23):364–8.
 84. Colombia Instituto Nacional de Salud. Sivigila: semanas epidemiológicas 47 a 52 (22 de noviembre de 2009 al 2 de enero de 2010). *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2009;14(24):381–4.

