



UNIVERSIDAD
DE ALMERÍA

MALARIA IMPORTADA EN LA PROVINCIA DE ALMERÍA

Joaquín Pousibet Puerto

Directores:

Joaquín Salas Coronas

M^a Teresa Cabezas Fernández



Tesis presentada para aspirar al título de Doctor por el licenciado en Medicina y Cirugía
D. Joaquín Pousibet Puerto.

Fdo. Joaquín Pousibet Puerto

Esta tesis ha sido realizada inicialmente en el Departamento de Geografía, Historia y Humanidades de la Universidad de Almería, dentro del programa de Doctorado de Ciencias Humanas y Sociales, en la línea de investigación de Inmigración y Salud. Después ha sido finalizada en el Programa de Doctorado en Ciencias Médicas de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Almería, en la línea de investigación de Salud Pública, Epidemiología y Patología Médica. La tesis se ha llevado a cabo bajo la dirección de los doctores Joaquín Salas Coronas y M^a Teresa Cabezas Fernández.

Joaquín Salas Coronas
Doctor en Medicina y Cirugía
F.E.A. Medicina Interna, Hospital
Universitario Poniente (Almería)
Profesor del Departamento de
Enfermería, Fisioterapia y Medicina,
Universidad de Almería

M^a Teresa Cabezas Fernández
Doctora en Farmacia
F.E.A. Microbiología y Parasitología
Clínica
Hospital Universitario Torrecárdenas
(Almería)

**MALARIA IMPORTADA EN LA
PROVINCIA DE ALMERÍA**

**IMPORTED MALARIA IN THE
PROVINCE OF ALMERÍA**

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por brindarme una infancia feliz, por la educación que me ofrecieron y el apoyo para que sus hijos cumplieran sus sueños.

A mi mujer por enseñarme a vivir intensamente, por el amor que hemos construido y por compartir con ella la alegría de mi vida, mi hija Manuela.

A todo el equipo de la Unidad Medicina Tropical del Hospital Universitario de Poniente, entre ellos al doctor Manuel Soriano Pérez, por enseñarme tantísimo durante mis años de residencia y por momentos inolvidables en los congresos.

A los residentes y tutores que crecieron junto a mi como internista, en especial al doctor José Ángel Cuenca Gómez, que tanto me ha ayudado como residente mayor y con el que comparto una especial amistad.

A Pablo Garrido y M^a Carmen Olvera, del equipo de FIBAO, por su inestimable ayuda con los análisis estadísticos.

A la doctora M^a Teresa Cabezas Fernández y al profesor Pablo Pumares Fernández por dirigir, orientar y aconsejar a lo largo de todos estos años de trabajo.

A la doctora Ana Belén Lozano Serrano, porque no solo ha traducido los artículos, sino que también ha contribuido a llevar a buen puerto esta tesis de forma desinteresada.

Por último, al doctor Joaquín Salas Coronas. Gracias por tu humildad, por tu capacidad de trabajo, por la ilusión que mantienes como internista a pesar del paso de los años, por motivarme cuando este trabajo se alargaba y por la excelente labor docente que tienes con todos los profesionales sanitarios que inician su carrera profesional.

ÍNDICE

	Página
Abreviaturas	VI
Índice de gráficos y tablas	VIII
Índice de imágenes y figuras	XII
Resumen	XIV
1. Introducción:	1
1.1 Inmigración actual en España.	2
1.2 Inmigración en la provincia de Almería.	6
1.3 Retos que supone la inmigración.	12
1.4 Inmigración y salud.	15
1.5 VFR (<i>Visiting Friends and Relatives</i>).	20
1.6 Malaria.	22
1.6.1 Introducción a la malaria.	22
1.6.2 Epidemiología de la malaria.	24
1.6.3 Ciclo vital de <i>Plasmodium</i> spp.	32
1.6.4 Patogenia.	34
1.6.5 Clínica.	36
1.6.5.1 Malaria no grave	37
1.6.5.2 Malaria grave	38
1.6.6 Diagnóstico.	41
1.6.7 Tratamiento.	47
1.6.7.1 Tratamiento de la malaria no grave	49
1.6.7.2 Tratamiento de la malaria grave	50
1.6.8 Resistencias a antimaláricos.	54
1.6.9 Malaria submicroscópica.	58

2. Hipótesis y objetivos.	61
3. Resultados.	64
3.1 Artículo 1: Migration-associated malaria from Africa in southern Spain.	65
3.2 Artículo 2: Submicroscopic malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain.	77
3.3 Artículo 3: Impact of using artemisin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from <i>Plasmodium falciparum</i> in a no-endemic zone.	83
4. Conclusiones.	92
5. Otras aportaciones científicas derivadas directamente de la tesis doctoral.	95
6. Informe del factor de impacto y del cuartil en el Journal Citation Report.	97
7. Bibliografía.	99

ABREVIATURAS

HRP-2	Proteína rica en histidina-2
INE	Instituto Nacional de Estadística
IV	Intravenoso
LAMP	Amplificación isotérmica mediada por bucles
LDH	Lactato deshidrogenasa
MM	Malaria microscópica
MSM	Malaria submicroscópica
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PfEMP	Proteínas de membrana de los eritrocitos <i>P. falciparum</i>
PfK13	Gen PF3D7_1343700 del cromosoma 13 del <i>P. falciparum</i>
REUMT	Red Española de Unidades de Medicina Tropical
SDRA	Síndrome de distrés respiratorio agudo
TBC	Tuberculosis
TCA	Terapia combinada con artemisininas
TDR	Test de diagnóstico rápido
UMT	Unidad de Medicina Tropical
VFR	<i>Visiting friends and relatives</i>
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

Gráfico 1	Evolución de las personas empadronadas en España nacidas en el extranjero por lugar de nacimiento durante el período 1998-2022.	5
Gráfico 2	Evolución de las personas empadronadas en Almería nacidas en el extranjero por lugar de nacimiento durante el período 1998-2022.	7
Gráfico 3	Composición de la población extranjera por continente de nacionalidad en la comarca del Poniente Almeriense. 1 de enero 2022.	9
Gráfico 4	Estructura demográfica de los extranjeros de países africanos en Almería a 1 enero de 2022.	11
Gráfico 5	Principales infecciones diagnosticadas en la UMT del H. Universitario Poniente en pacientes inmigrantes subsaharianos desde octubre de 2004 hasta diciembre de 2021.	19
Gráfico 6	Tendencia mundial de la tasa de incidencia de casos y de mortalidad de la malaria. Ambos durante el periodo de 2000-2021.	23
Gráfico 7	Distribución por meses de los casos de malaria confirmados en Europa durante el periodo 2015-2019 y en el año 2020.	29

Gráfico 8	Casos de malaria no importada notificados en España durante el periodo de 1976- 2018.	31
Gráfico 9	Sensibilidad de las distintas técnicas diagnósticas disponibles para la malaria.	42

Tabla 1	Personas extranjeras residentes en la provincia de Almería procedentes de países africanos. 1 de enero de 2022.	10
Tabla 2	Criterios de gravedad de la malaria según la OMS.	39
Tabla 3	Tratamiento de la malaria por <i>P. falciparum</i> sin criterios de gravedad indicado en España.	52
Tabla 4	Tratamiento de la malaria por <i>P. vivax</i> , <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> o <i>P. knowlesi</i> sin criterios de gravedad indicado en España.	53
Tabla 5	Tratamiento de la malaria con criterios de gravedad indicado en España.	54

ÍNDICE DE IMÁGENES Y FIGURAS

Imagen 1	Imágenes por satélite del Poniente Almeriense en 1974 y en 2004.	8
Figura 1	Países con transmisión de malaria en el año 2020.	25
Figura 2	Distribución del complejo <i>Anopheles maculipennis</i> en Europa y el norte de África.	27
Figura 3	Distribución de los casos de malaria confirmados en 2020 en Europa.	28
Figura 4	Distribución global de las especies de <i>Anopheles</i> predominantes o potencialmente importantes.	32
Figura 5	Ciclo vital de <i>Plasmodium</i> spp.	34
Figura 6	Fenómenos de citoadherencia de <i>P. falciparum</i> .	35
Figura 7	Algoritmo adaptado de diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España.	46
Figura 8	Distribución global de las resistencias a los antimaláricos del <i>Plasmodium</i> spp.	55

RESUMEN

En las últimas dos décadas ha aumentado considerablemente el número de inmigrantes llegados a España. Un caso particular es Almería, y en concreto, el Poniente Almeriense, donde aproximadamente un 21% de la población que reside es de origen extranjero, en gran parte procedente de países africanos. La Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Poniente se constituye en el año 2004 para dar respuesta a una demanda de atención especializada a pacientes con enfermedades importadas, que en muchos casos son poco conocidas por la mayoría del personal sanitario. Entre las enfermedades más frecuentemente atendidas destaca la malaria, que continúa siendo la infección parasitaria con mayor morbimortalidad a nivel mundial. En los últimos años, casi el 50% de los casos totales de malaria atendidos en Andalucía lo han sido en nuestro centro hospitalario. En esta tesis vamos a describir el perfil epidemiológico, las características clínicas y los aspectos relacionados con el tratamiento de la malaria en el Poniente Almeriense.

Se trata de una tesis doctoral realizada por compendio de artículos. Los tres artículos publicados son:

• **Migration-associated malaria from Africa in southern Spain.** Pousibet-Puerto J, Lozano-Serrano AB, Soriano-Pérez MJ, Vázquez-Villegas J, Giménez-López MJ, Cabeza-Barrera MI, Cuenca-Gómez JÁ, Palanca-Giménez M, Luzón-García MP, Castillo-Fernández N, Cabezas-Fernández MT, Salas-Coronas J. *Parasit Vectors*. 2021 May 7;14(1):240.

• **Submicroscopic malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain.** Pousibet-Puerto J, Cabezas-Fernández MT, Lozano-Serrano AB, Vázquez-Villegas J, Soriano-Pérez MJ, Cabeza-Barrera I, Cuenca-Gómez JA, Salas-Coronas J. *Emerg Infect Dis*. 2019 Feb;25(2):349-352

• **Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone.** Pousibet-Puerto J, Salas-Coronas J, Sánchez-Crespo A, Molina-Arrebola MA, Soriano-Pérez MJ, Giménez-López MJ, Vázquez-Villegas J, Cabezas-Fernández MT. *Malar J.* 2016 Jul 2;15(1):339.

El primer artículo es un estudio observacional retrospectivo de los pacientes inmigrantes con malaria importada atendidos en nuestro centro desde 2004 hasta 2019. Se compararon las características entre los pacientes VFR (*Visiting Friends and Relatives*) y no VFR o inmigrantes recién llegados, así como los casos de malaria microscópica (MM) y malaria submicroscópica (MSM).

En el segundo artículo describimos los resultados de un programa de cribado de MSM en pacientes de origen subsahariano atendidos durante el periodo 2004-2016 en la Unidad de Medicina Tropical de nuestro centro.

El tercer artículo es un estudio observacional retrospectivo de pacientes ingresados con malaria por *P. falciparum* sin criterios de gravedad entre los años 2004 y 2015. Comparamos el tiempo de negativización o aclaramiento de la parasitemia y la estancia media hospitalaria de los pacientes tratados con terapia combinada de artemisininas (TCA) frente a los que recibieron otras pautas clásicas de tratamiento.

Palabras clave: Inmigrantes, VFR, malaria, malaria submicroscópica, artemisininas, *Plasmodium falciparum*.

In the last two decades, the number of immigrants arriving to Spain has increased substantially. The province of Almeria is a particular case, and even more the western area, where approximately 21% of the resident population is of foreign origin, many of them coming from African countries. The Tropical Medicine Unit of the Poniente University Hospital was found in 2004 in order to respond to a demand for specialized care for those patients with imported diseases, often little known by most health personnel. Among the most frequently treated diseases, malaria, which continues to be the parasitic infection with the highest morbidity and mortality worldwide, stands out. In recent years, almost 50% of the total cases of malaria diagnosed in Andalusia have been treated at our hospital. In this thesis we are going to describe the epidemiological profile, the clinical characteristics and those aspects related to malaria treatment in western Almeria.

It is a doctoral thesis made by compendium of articles. The three articles are:

• **Migration-associated malaria from Africa in southern Spain.** Pousibet-Puerto J, Lozano-Serrano AB, Soriano-Pérez MJ, Vázquez-Villegas J, Giménez-López MJ, Cabeza-Barrera MI, Cuenca-Gómez JÁ, Palanca-Giménez M, Luzón-García MP, Castillo-Fernández N, Cabezas-Fernández MT, Salas-Coronas J. *Parasit Vectors*. 2021 May 7;14(1):240.

• **Submicroscopic malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain.** Pousibet-Puerto J, Cabezas-Fernández MT, Lozano-Serrano AB, Vázquez-Villegas J, Soriano-Pérez MJ, Cabeza-Barrera I, Cuenca-Gómez JA, Salas-Coronas J. *Emerg Infect Dis*. 2019 Feb;25(2):349-352

• **Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone.** Pousibet-Puerto J, Salas-Coronas J, Sánchez-Crespo A, Molina-

Arrebola MA, Soriano-Pérez MJ, Giménez-López MJ, Vázquez-Villegas J, Cabezas-Fernández MT. *Malar J*. 2016 Jul 2;15(1):339.

The first article is a retrospective observational study of immigrant patients with imported malaria treated at our center from 2004 to 2019. Characteristics were compared between VFR (*Visiting Friends and Relatives*) and non-VFR patients or newly arrived migrants, as well as between microscopic malaria (MM) and submicroscopic malaria (SMM) cases.

In the second article, we describe the results of a SMM screening program in patients of sub-Saharan origin treated during the period 2004-2016 in the Tropical Medicine Unit of our center.

The third article is a retrospective observational study of patients admitted to hospital with *P. falciparum* malaria without severity criteria between 2004 and 2015. We compared the time to negativization or clearance of parasitaemia and the mean hospital stay between patients treated with artemisinin combination therapy (ACT) and those who received other treatment regimens.

Keywords: Immigrants, VFR, malaria, submicroscopic malaria, artemisinins, *Plasmodium falciparum*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Situación actual de la inmigración en España

El mundo actual se caracteriza por un creciente y continuo flujo de migraciones interregionales provocadas por la globalización que han cambiado notoriamente la composición social de los países occidentales¹. Existe una visión universal que reconoce que las migraciones han contribuido frecuentemente al progreso de las sociedades.

En el ámbito europeo, la inmigración es uno de los fenómenos en curso que más ha determinado la configuración reciente del continente, afectado por los conflictos del siglo pasado. La Primera Guerra Mundial provocó el reasentamiento obligado de más de seis millones de personas. Poco después, la revolución soviética y el ascenso al poder del nazismo en Alemania dieron continuidad a este proceso migratorio. Por otro lado, la miseria y la falta de trabajo de aquella época hicieron que muchos europeos emigraran a América. El país receptor por excelencia fue EE.UU., seguido de Canadá, Argentina, Brasil, Venezuela y Sudáfrica, entre otros.

A mediados del siglo XX, la recuperación económica experimentada en Europa occidental tras el fin de la Segunda Guerra Mundial incrementó notablemente la capacidad productiva del continente europeo, todo ello marcado por la expansión del capitalismo. En consecuencia, también aumentó la necesidad de mano de obra de las industrias en auge. Los países del centro y norte de Europa fueron los primeros en industrializarse. De esta forma, países como Alemania, Francia o el Reino Unido utilizaron diferentes mecanismos, como la firma de pactos bilaterales de trabajadores migrantes o los programas de trabajadores temporales, que facilitaron la llegada de una gran cantidad de trabajadores no cualificados del sur de Europa y norte de África. Frente a la elevada demanda de mano de obra se llevó a cabo una política de inmigración con

múltiples facilidades para la regulación una vez que habían encontrado un puesto de trabajo y, asimismo, se facilitaron reunificaciones familiares para su asentamiento².

Superada la recesión económica de la crisis del petróleo de 1973, surge otro periodo a partir de la segunda mitad de la década de 1980, marcado por una importante transformación en los flujos migratorios en Europa, con un auge del saldo migratorio positivo incluso en países del sur del continente. Países como Italia, España y Grecia se incorporaron a la dinámica económica y demográfica del resto de la Unión Europea. En este momento, el flujo migratorio se invirtió en España y a lo largo de esta década llegaron a nuestro país unos 150.000 inmigrantes extranjeros³. Un año antes de su ingreso en la Unión Europea, en 1985, se promulga la primera Ley Orgánica de Extranjería^{2,3}.

A partir de la década de 1990, la tasa de población inmigrante en España se fue incrementando con personas procedentes principalmente del Magreb y Latinoamérica, y en la década de 2000 a 2010 tiene lugar en nuestro país un aumento exponencial de la inmigración. El 50% de los nuevos puestos de trabajo creados entre 2000 y 2007 fueron ocupados por trabajadores extranjeros³. Por otro lado, hay que destacar los procesos de regularización que se desarrollaron desde el año 2000, que han permitido que los trabajadores inmigrantes puedan tener contratos de trabajo, puedan contribuir a la Seguridad Social, incidan en las tasas de actividad y de empleo y, a partir de todo ello, que ganen en legitimidad. Todo esto supuso una influencia decisiva en la mejora acelerada de la estructura por regímenes y grupos de cotización de la Seguridad Social, de la que los españoles han sido los principales beneficiados³. Igualmente, se observa que se produce una movilidad laboral ascendente entre los extranjeros (hasta la llegada de la crisis financiera), si bien limitada a los trabajos de carácter manual^{2,3}.

Durante esta década de 2000-2010, la población en España, en términos de tasa anual, se incrementó a un ritmo del 1,5% gracias principalmente a la inmigración. Este crecimiento se produjo de forma exponencial en la población extranjera: el 23,5%, frente al 0,4% de la población española. De este modo, pasamos de 637.085 extranjeros en el año 1998 a más de 5 millones en 2008. Sin embargo, a partir de ese momento y como consecuencia de la crisis económica, se produjo un descenso notable en el número de extranjeros que llegaban a España. Este descenso se mantuvo de forma paulatina hasta el año 2015, cuando se observó nuevamente saldo positivo. A principios de 2022 residían en España, según datos del padrón municipal del Instituto Nacional de Estadística (INE), algo más de 5,5 millones de personas que no disponían de la nacionalidad española. Esta cifra supone algo más del 11% del total de la población del país.

Hay que destacar en las últimas dos décadas a los extranjeros de origen africano (Gráfico 1), los cuales constituyen algo más de una quinta parte del total de residentes foráneos. Marruecos es el país de donde proviene el mayor número de inmigrantes, y en el padrón, a fecha de enero de 2022, se registraron 883.243 extranjeros de dicha nacionalidad⁴. Otros países africanos con colonias de cierta entidad en nuestro país son Argelia, Senegal, Nigeria y Guinea Ecuatorial.

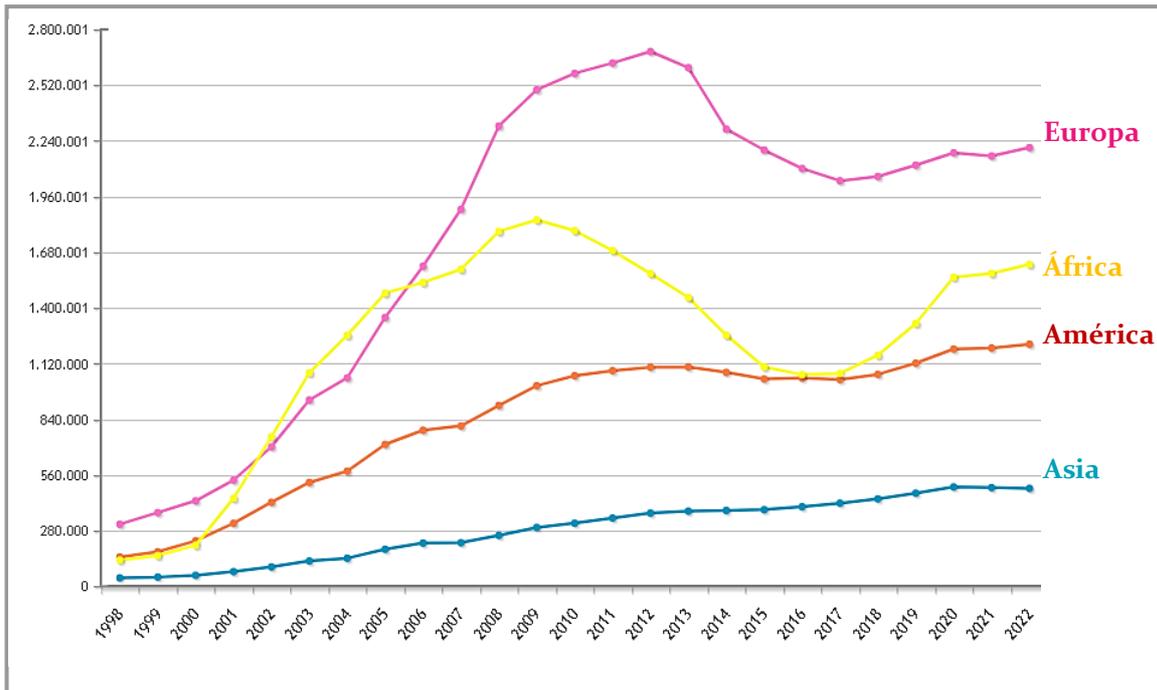


Gráfico 1: Evolución de las personas empadronadas en España nacidas en el extranjero por lugar de nacimiento durante el período 1998-2022. Fuente: padrón municipal (INE).

Este crecimiento de la población inmigrante ha supuesto importantes cambios demográficos, sociales y culturales. También en nuestro Sistema Sanitario Público, que hace frente a una sociedad multicultural con posibles dificultades o barreras para su uso a pesar de la “universalidad” del mismo, y que en numerosas ocasiones van a padecer enfermedades importadas que ya fueron erradicadas o controladas en nuestro país. Este hecho es especialmente relevante en personas procedentes de África subsahariana, donde la cobertura sanitaria es escasa.

1.2 Inmigración en la provincia de Almería.

En el caso de la provincia de Almería, el saldo migratorio fue negativo durante gran parte del siglo XX. Es a partir de 1980 cuando comienzan los primeros saldos positivos. En ese momento, la población extranjera apenas suponía el 0,5%. En el año 2000, Almería presentó la tasa de extranjería más alta de España, con 66,6/100.000 habitantes, tres veces más que la tasa media española y cuatro veces más que la andaluza⁵.

En el año 2022, los extranjeros empadronados en Andalucía eran 741.378 personas (8,7 % de la población), destacando Almería, donde alcanzó el 21,8%. Almería es actualmente la segunda provincia andaluza con mayor número de extranjeros empadronados tras la provincia de Málaga, y entre dichos extranjeros, hay que destacar a la población africana, que representa aproximadamente el 51% de los inmigrantes (Gráfico 2).

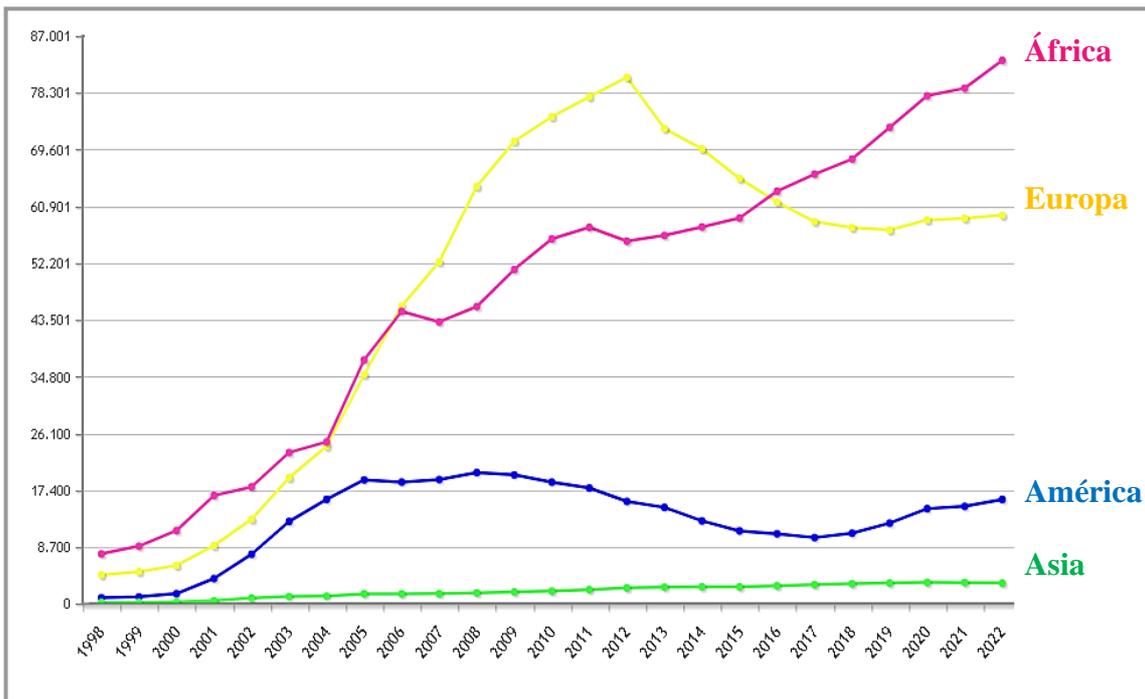


Gráfico 2: Evolución de las personas empadronadas en Almería nacidas en el extranjero por lugar de nacimiento durante el período 1998-2022. Fuente: padrón municipal (INE).

Almería es una provincia española cuyo desarrollo se ha caracterizado por su relación con las migraciones económicas⁵. En un primer momento fue emisora de mano de obra a lugares tan diferentes y distantes como América (principalmente Argentina y Brasil), Argelia (Orán), Europa Central (Francia, Alemania, Bélgica y Suiza) o Cataluña y Madrid. En la actualidad es una provincia receptora de inmigrantes, con población procedente tanto del resto de España como de numerosos países que llegan para emplearse principalmente en la agricultura intensiva, su industria auxiliar, la construcción y el sector servicios. Son también numerosos los turistas que vienen temporal o definitivamente en busca del sol y la playa.



Imagen 1: Imágenes por satélite del Poniente Almeriense en 1974 y en 2004. Fuente: United Nations Environment Program.

Las aproximadamente 28.000 hectáreas de invernaderos de la provincia representan el 90% de las existentes en la comunidad andaluza, y la mayor parte de los invernaderos se concentra en algunos municipios del litoral almeriense, entre ellos los del Poniente (El Ejido, Roquetas de Mar, Adra, La Mojonera y Vícar)⁵. En las últimas cinco décadas esta transformación de la agricultura ha implicado un profundo cambio territorial, económico y social⁶.

El trabajo agrícola intensivo supuso desde sus inicios una fuerte demanda de empleo eventual. En los años noventa las migraciones experimentaron un punto de inflexión, al igual que sucedió en el resto del territorio nacional. La salida de mano de obra española hacia el extranjero se estabilizó e incluso se paralizó, mientras que se incrementó considerablemente la inmigración exterior, más concretamente desde el norte de Marruecos⁷. A partir del año 2000 hasta la actualidad aumentó el número de países de procedencia de los inmigrantes, quienes ya no provenían solo de Marruecos, sino también de países de Europa del Este, África subsahariana y Latinoamérica. De

esta forma, poblaciones como El Ejido experimentaron un crecimiento de un 1.720% el siglo pasado⁸.

Los procesos de regularización de inmigrantes de los años 2000, 2001 y 2005 tuvieron consecuencias importantes. En este sentido, permitieron que la población extranjera en situación regularizada en Almería se duplicara y posibilitaron su contratación de forma legal. Aunque parte de esta transformación la protagonizaron sudamericanos (ecuatorianos y colombianos) y europeos del este (rumanos y lituanos), la población africana, en especial la marroquí, ha seguido siendo la dominante (Gráfico 3; tabla 1).

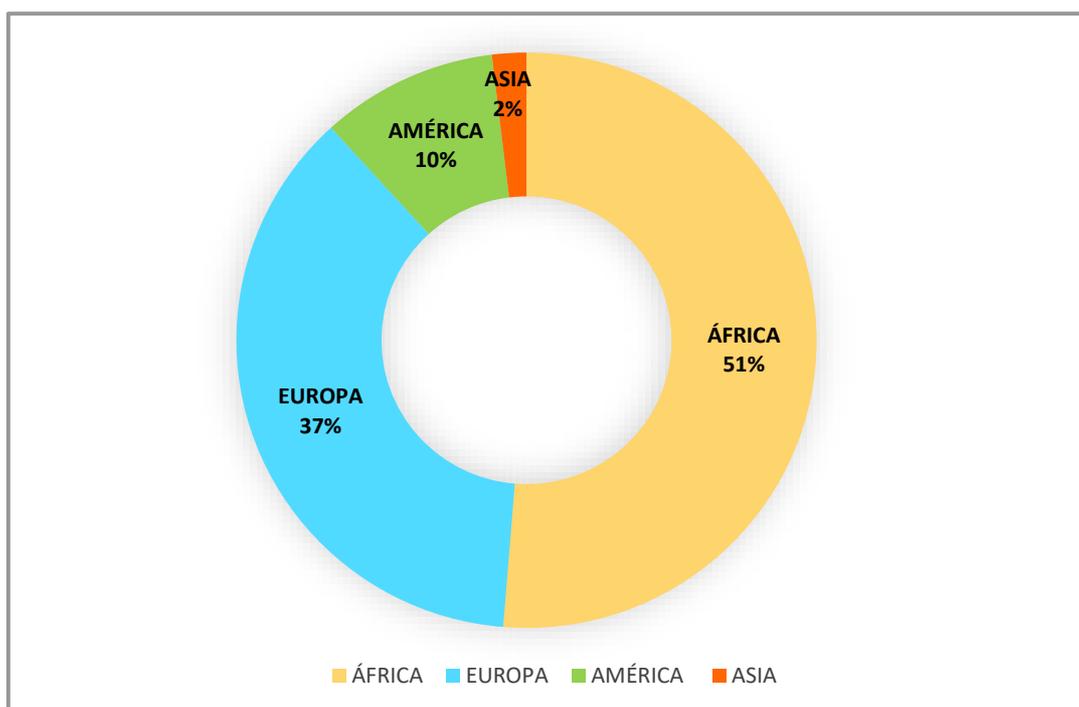


Gráfico 3: Composición de la población extranjera por continente de nacionalidad en la comarca del Poniente Almeriense. 1 de enero 2022. Fuente: padrón municipal (INE).

País de origen	Nº de residentes
Marruecos	64.147
Senegal	7.280
Malí	3.885
Guinea-Bissau	1.524
Ghana	1.447
Gambia	1.244
Mauritania	862
Argelia	808
Nigeria	676
Guinea Conakry	416
Costa de Marfil	251
Guinea Ecuatorial	228
Burkina Faso	228
Túnez	59
Camerún	59
Egipto	37
Benín	18
Sierra Leona	15
Cabo de Verde	15
Togo	14
Sudáfrica	12
Etiopía	7
Kenia	6
Congo	6
Angola	3
Resto de países africanos	27

Tabla 1: Personas extranjeras residentes en la provincia de Almería procedentes de países africanos. 1 de enero de 2022. Fuente: padrón municipal (INE).

La estructura demográfica actual de la población africana en la provincia de Almería está marcada por la fuerte presencia de adultos en edad activa, aunque ya no tan jóvenes, de 30 a 44 años, con predominio de varones, que en estas edades duplican a las mujeres (Gráfico 4). Se trata, por tanto, de una corriente migratoria que responde al desempeño del empleo ofertado. No obstante, estas características de los inmigrantes están empezando a modificarse ante la aparición de algunas ofertas laborales en el sector servicios y en las actividades de manipulación de productos hortícolas, que abren la posibilidad a la incorporación de mujeres a los movimientos migratorios⁹. A pesar de ello, el mercado de trabajo agrícola se sigue caracterizando por ofrecer empleos de escasa cualificación, reducida remuneración, fuerte discontinuidad temporal y elevada incertidumbre. Todo ello comporta un alto grado de movilidad laboral en el mercado de trabajo de la agricultura intensiva.

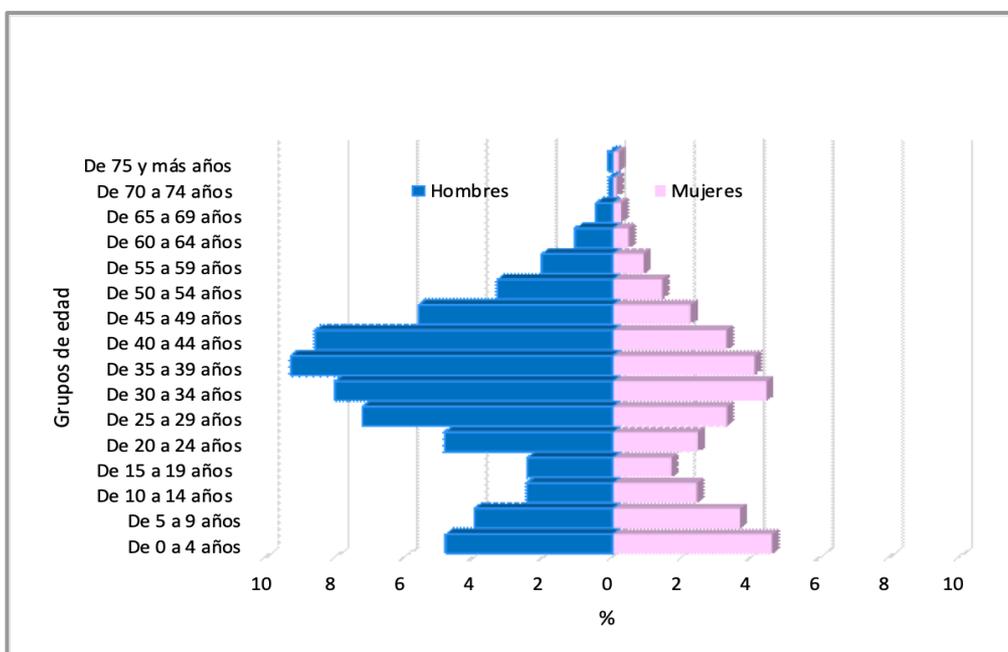


Gráfico 4: Estructura demográfica de los extranjeros de países africanos en Almería a 1 enero de 2022. Fuente: padrón municipal (INE).

Estos rasgos de la oferta laboral dificultan el acceso a una vivienda digna, lo que se suple bien alquilándola entre varios inmigrantes, o residiendo en una suministrada por el empleador. Es por ello que las condiciones de habitabilidad de estas viviendas suelen ser precarias y el hacinamiento es habitual^{7,9}.

1.3 Retos que supone la inmigración.

Las personas inmigrantes, en su condición de recién llegadas, y con las dificultades preliminares asociadas al propio hecho migratorio, presentan unas circunstancias estructuralmente distintas a las del resto de la población. Entre ellas podríamos señalar un menor conocimiento del entorno social, las dificultades con el idioma, la inexistencia de vínculos sociales fuertes, y un menor conocimiento de los códigos comportamentales y legales.

Por tanto, el proceso de acogida y acomodación de los inmigrantes supone en España, y es especial en Almería, un reto político, económico, social, cultural y sanitario.

Desde el punto de vista político, la llegada masiva de esta población inmigrante no se podía prever con exactitud. Por este motivo, las medidas políticas con respecto a este escenario siempre han ido por detrás de la situación real, han sido escasas y no han previsto problemas futuros. Algunos de los errores más frecuentemente cometidos han sido⁸:

- Se ha consentido una situación prolongada de trabajadores en situación de irregularidad, al margen del derecho.

- No se han realizado estudios fiables que pudieran estimar las necesidades reales de la mano de obra en orden a establecer contingentes que aproximarán oferta y demanda.
- No se han tomado iniciativas que den respuesta a la gravedad del hacinamiento y la dificultad de acceso a una vivienda digna por parte de la población inmigrante.
- No se han afrontado con suficiente firmeza y agilidad las discriminaciones y abusos, ni otro tipo de comportamientos antisociales, ya fueran cometidos por españoles o inmigrantes.

Desde el punto de vista económico, gracias al desarrollo de la agricultura intensiva bajo plástico y al despoblamiento de las zonas rurales de estas comarcas, ha sido necesario emplear nueva mano de obra, y aquí es donde tienen un peso relevante los inmigrantes. Estos trabajadores inmigrantes van a tener unas características especiales¹⁰:

- Van a trabajar fundamentalmente en la agricultura.
- Una parte de ellos no van a estar afincados definitivamente en el lugar de residencia, sino que son temporeros que se mueven por todo el territorio español en busca de las oportunidades de trabajo agrícolas, por ejemplo: de octubre a marzo en el Poniente Almeriense, de abril a mayo en Huelva en la recogida de la fresa, de mayo a junio en Murcia en las campañas de albaricoques y tomates, posteriormente hasta octubre en la recogida de la manzana en Lérida, Zaragoza o Huesca, y otros recogen la uva y las patatas en la Rioja o los cítricos del Levante. Para finalizar, de finales de diciembre a febrero está la campaña de la aceituna de Jaén.

- Por otro lado, la población inmigrante ya regularizada suele volver temporalmente a sus países de origen, lo que aumenta la movilidad de esta población. En el caso de la población subsahariana, estas estancias suelen durar varios meses.
- Suele ser una población de escasa cualificación profesional: jornaleros, agricultores, estudiantes con estudios primarios, pescadores o vendedores, aunque tampoco faltan los estudiantes universitarios y titulados medios y superiores. Las mujeres no han tenido habitualmente una profesión previa.
- Gran parte del salario que ganan en España es enviado directamente a sus países de origen para ayudar a su núcleo familiar.

Pero posiblemente, uno de los mayores retos que ha planteado la inmigración masiva a la provincia de Almería, ha sido y es en el ámbito socio-cultural. Todo inmigrante, al iniciar su proceso migratorio deja atrás una cultura, una lengua, una sociedad y una religión para llegar a un lugar con una nueva cultura, una sociedad con características y lengua diferentes y en múltiples ocasiones con una religión distinta. Con el paso del tiempo, puede perder incluso su identificación con su lugar de origen, aunque tampoco se identifica con el lugar al que ha emigrado. Esto va a suceder sobre todo en las segundas y terceras generaciones de inmigrantes. En definitiva, este proceso migratorio puede dar lugar a trastornos en la adaptación a la nueva situación e incluso a situaciones de enfermedad^{11,12}.

En relación con la integración cultural, hay que destacar el acceso de los inmigrantes o de sus hijos a la educación en el país de acogida. En este sentido surgen también varios factores que pueden fomentar la exclusión social de estos alumnos. En

primer lugar, desde las circunstancias particulares de este alumnado, tales como el desconocimiento de la lengua de instrucción, haberse incorporado de forma tardía al sistema educativo del país receptor, proceder de sistemas y dinámicas escolares significativamente diferentes a las del país de acogida, o no disponer del estatus jurídico de ciudadanos. En segundo lugar, a las variables que describen las características propias del centro escolar: estructuras de comprensión del sistema educativo, prácticas pedagógicas de atención a la diversidad, políticas específicas de acogida y escolarización del alumnado extranjero, composición social del centro escolar, etc¹³.

1.4 Inmigración y salud

Los inmigrantes procedentes de países de baja renta establecidos en nuestro país tienen unas características comunes que, en conjunto, suponen un reto para nuestro sistema sanitario^{14,15}:

- Si bien, como ya se comentó anteriormente, suelen ser jóvenes con un buen estado de salud a su llegada, algunos colectivos podrían tener más probabilidades de estar infectados o de haber adquirido alguna infección antes de llegar a España
- La salud no es una de sus prioridades, excepto cuando les impide trabajar.
- Tienen peores indicadores socioeconómicos y viven en peores condiciones (ingresos inferiores, mayores tasas de paro, discriminación racial y social, malas condiciones de la vivienda, precariedad laboral, etc.) que la población autóctona.

- Presentan dificultades de acceso al sistema sanitario por el desconocimiento del mismo y de su funcionamiento, problemas lingüísticos, culturales, situación irregular de residencia, restricciones administrativas o inadecuación del sistema a sus condicionantes sociales (horarios laborales y ausencia de redes de apoyo).
- Existe a priori una barrera cultural, que puede generar desconfianza del paciente inmigrante hacia la medicina occidental.
- Hay problemas de salud, como algunas enfermedades parasitarias, que para algunos inmigrantes pueden ser “normales”. Por ejemplo, en las zonas donde existe alta endemicidad para del *Schistosoma haematobium*, la presencia de hematuria no suele ser considerada como un signo de enfermedad.
- Otro problema añadido es la dificultad para obtener el consentimiento de una persona subsahariana para las extracciones de sangre.
- Un grupo de inmigrantes de especial interés puede englobarse bajo el término de VFR (*Visiting Friends and Relatives*). Debido a su importancia y características particulares, a ellos se dedica el siguiente apartado.

Por otro lado, uno de los principales objetivos de toda política sanitaria ha de ser garantizar la equidad, lo que implica intentar reducir las desigualdades en salud entre las personas inmigradas y autóctonas. Para abordar dicha equidad se debe intervenir en aspectos tanto sanitarios (promoción de la salud, prevención de riesgos, cribado e intervenciones clínicas en grupos vulnerables) como sociales (regeneración económica,

formación y promoción laboral), que son los que más repercusión van a tener en la salud de los inmigrantes.

Teniendo en cuenta las características descritas, la relación profesional-paciente inmigrante debería focalizarse más en el paciente que en su enfermedad. Sin embargo, dicha relación se ve dificultada por diversos factores:

- Por parte de los inmigrantes estarían el idioma, la manera de expresarse (lenguaje no verbal), el concepto de enfermedad y salud, la religión, las diferentes expectativas ante una consulta médica, y el elevado número de consultas por somatizaciones y signos o síntomas mal definidos como resultado de trastornos adaptativos debidos al fenómeno migratorio.
- Por parte de los profesionales serían la presencia de estereotipos o incluso situaciones de xenofobia, la escasa formación en medicina transcultural y la poca capacidad de sospechar enfermedades no comunes en nuestro medio (tropicales o importadas).

El sistema sanitario español y diversas sociedades científicas han identificado estos problemas¹⁶⁻¹⁹. Para intentar darles una solución, se han creado programas y unidades especializadas en la atención de este tipo de población. Un ejemplo de ello serían las Unidades de Medicina Tropical a nivel hospitalario o la instauración de programas de atención al paciente inmigrante en Atención Primaria, en las que se estudian y atienden principalmente enfermedades importadas.

Las enfermedades importadas se definen como aquellas adquiridas en lugares donde son más o menos frecuentes, pero que son diagnosticadas en zonas donde no existen o son muy infrecuentes^{20,21}. Estas enfermedades suponen un amplio grupo de

entidades que en muchas ocasiones representan un reto para el personal sanitario. En la Unidad de Medicina Tropical (UMT) del Hospital Universitario Poniente, donde se atienden principalmente pacientes inmigrantes subsaharianos, las infecciones más frecuentes en este grupo de pacientes son las helmintiasis, los protozoos intestinales, la tuberculosis, las hepatitis virales y la sífilis²². Pero si hay una enfermedad que destaca notablemente por su elevado número de casos atendidos y la morbimortalidad que ocasiona es la malaria o paludismo (Gráfico 5)²³.

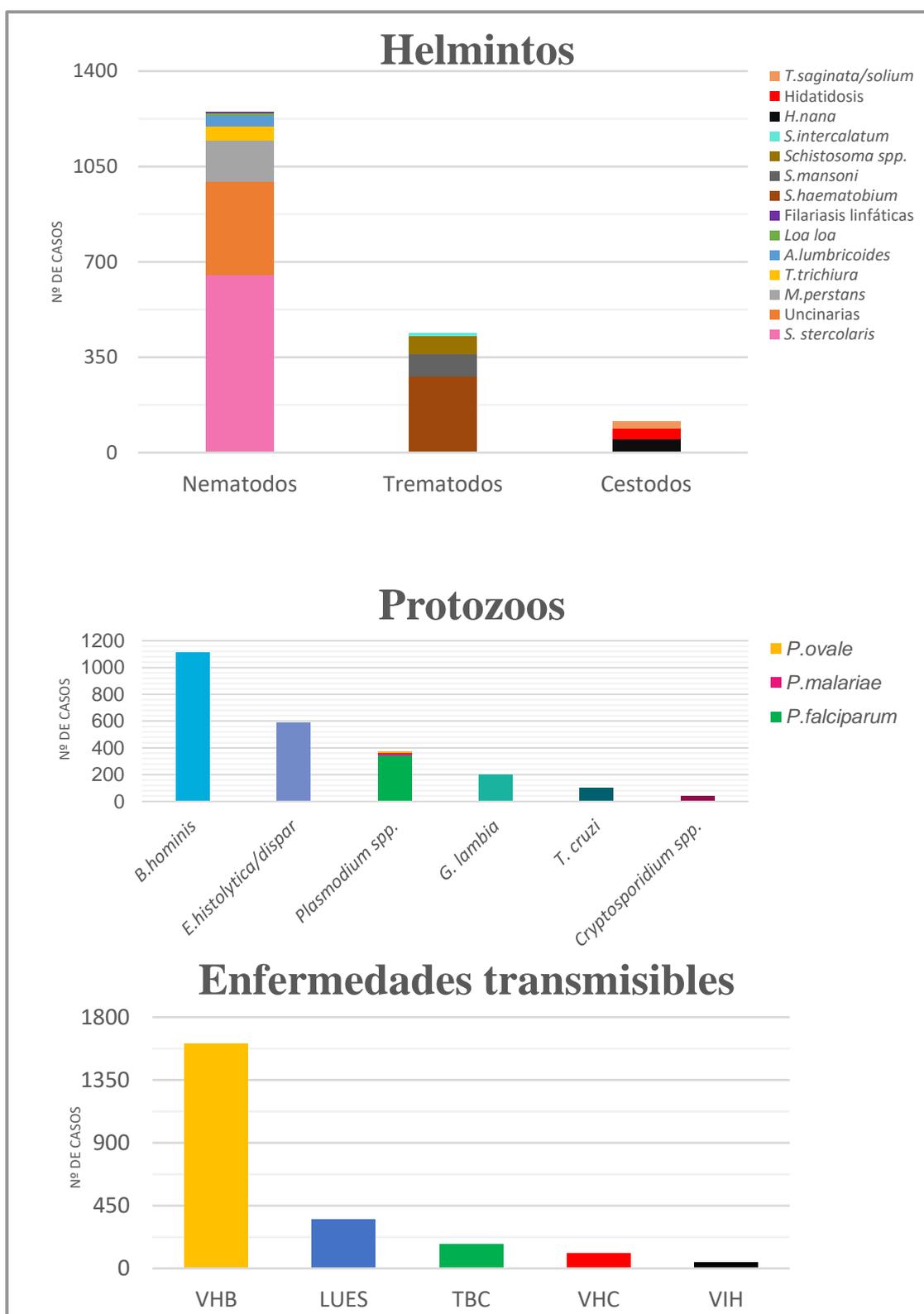


Gráfico 5: Principales infecciones diagnósticas en la UMT del H. Universitario Poniente en pacientes inmigrantes subsaharianos desde octubre de 2004 hasta diciembre de 2021. VHB: Virus de la hepatitis B. TBC: Tuberculosis. VHC: Virus de la hepatitis C. VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

1.5 VFR (*Visiting Friends and Relatives*)

El término VFR hace referencia a los inmigrantes viajeros (y a sus hijos y cónyuges) que, una vez establecidos en los países de acogida, viajan a sus países de origen, generalmente para visitar a familiares o amigos. Los patrones de estos viajeros suelen ser diferentes a los de los turistas nacionales y van a tener unas características especiales respecto a su atención sanitaria²³:

- En comparación con otros viajeros, son pacientes más jóvenes.
- Realizan viajes largos a zonas de predominio rural con exposición a ambientes con pobre saneamiento ambiental.
- La higiene del agua y de los alimentos de estas zonas, por lo general, no alcanza los estándares de calidad recomendados.
- Suelen estar en contacto estrecho con la población local y, además, sufren una elevada exposición a picaduras de vectores y mordeduras de animales. Presentan un mayor riesgo de enfermar que la población local por una pérdida de la semi-inmunidad antiparasitaria debido al largo periodo de tiempo sin exposición a estos parásitos durante su residencia en los países de acogida.
- Los viajeros VFR rara vez buscan servicios sanitarios o asesoramiento médico previo al viaje. Suelen tener dificultades para acceder a estos servicios debido a cuestiones económicas, culturales, lingüísticas o legales.
- Las pautas vacunales suelen ser deficientes, y como norma general, no realizan profilaxis antipalúdica o la realizan de forma incorrecta.

- Para estos pacientes la percepción del riesgo de adquirir enfermedades y sus posibles consecuencias es baja.

Todos estos determinantes hacen que este nuevo tipo de población inmigrante presente algunos retos para la medicina actual por su mayor riesgo de adquirir enfermedades transmisibles y potencialmente transmisibles. Está descrito ampliamente en la literatura científica que estos viajeros, en comparación con otros como por ejemplo turistas, tienen mayor riesgo de contraer malaria, hepatitis A y B, infecciones de transmisión sexual, fiebre tifoidea, enfermedades prevenibles por vacunas sistemáticas infantiles (como el sarampión y la varicela), parasitosis intestinales y tuberculosis²⁴. Incluso durante la pandemia de la COVID-19, distintos estudios describen que los viajeros VFR realizaron mayor número de viajes no esenciales y presentaron bajas tasas de aceptación de vacunación y cumplimiento de las medidas profilácticas²⁵.

En las últimas dos décadas, se ha observado un cambio en el perfil de la malaria importada en los países desarrollados, con una proporción creciente de casos que involucran a los pacientes VFR²⁶. Los datos procedentes de GeoSentinel, la principal red de vigilancia internacional de enfermedades relacionadas con los viajes internacionales, sitúan al área de África subsahariana como la principal zona de adquisición de malaria (83% casos) y al subgrupo de los VFR como el colectivo de viajeros con mayor riesgo (53% de los casos)²⁷. Del total de casos descritos en GeoSentinel, un 7,8% fueron malarías graves, que se presentaron predominantemente en el subgrupo de VFR (42% de todas las malarías graves). En España, la malaria importada presenta un perfil similar. Según los datos procedentes de +REDIVI, una red cooperativa para el estudio de infecciones importadas por viajeros e inmigrantes, los

VFR suponen el 58% de los casos y más del 95% de ellos se adquieren en la zona del África subsahariana²⁸.

En nuestro caso, veremos como en el primer artículo de esta tesis, el grupo de viajeros VFR supone aproximadamente el 78% de los casos de malaria importada procedentes del África subsahariana.

1.6 La malaria

1.6.1 Introducción a la malaria

La malaria es una infección producida por parásitos del género *Plasmodium* spp. La enfermedad puede ser causada por una o por varias de las diferentes especies de *Plasmodium* que son transmitidos al ser humano por medio de la picadura de la hembra del mosquito *Anopheles* spp. La importancia de la enfermedad radica en que es el parásito que genera mayor morbilidad y mortalidad en el ser humano. A pesar de ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó en 2019 de una mejoría tanto de la incidencia de los casos de malaria como de la tasa de mortalidad a nivel mundial entre los años 2000 y 2019²⁹. En 2020, no obstante, se notificaron 241 millones de casos y 625.000 de fallecimientos, lo que supone un 10% más respecto al año anterior (Gráfico 6). Ese año se estima que 47.000 (68%) de las 69.000 muertes adicionales se debieron a problemas en la atención sanitaria derivados de la pandemia de COVID-19. En 2021 se observó un ligero descenso de la incidencia y mortalidad³⁰.

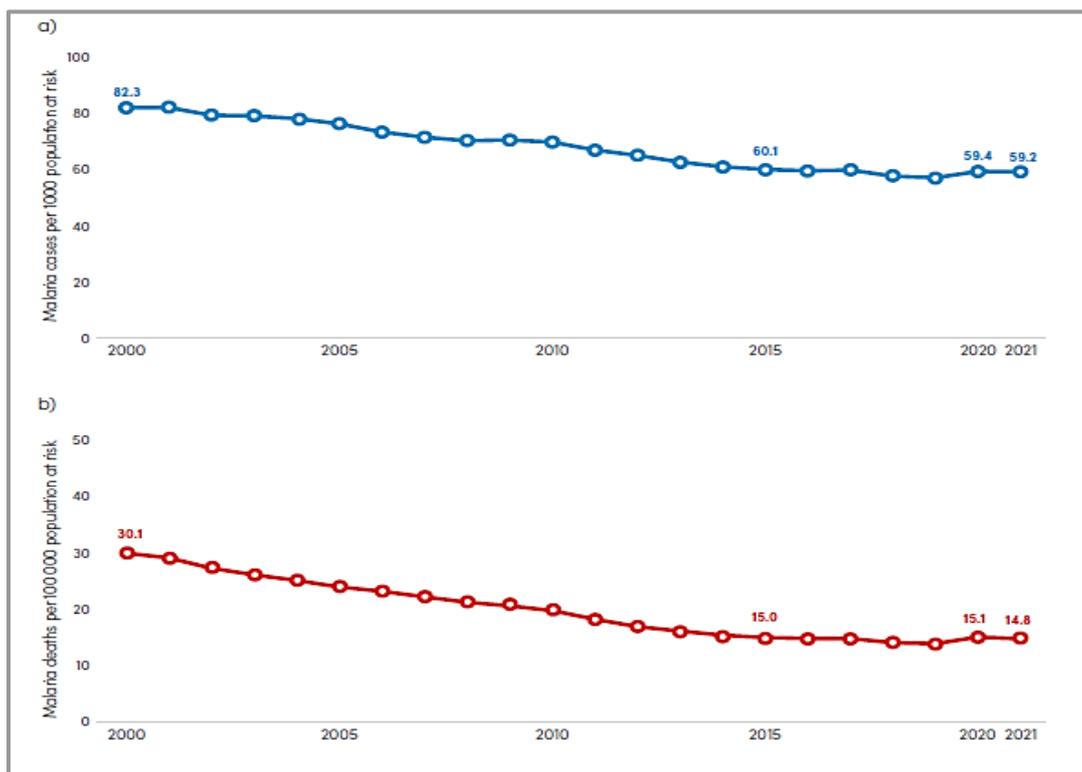


Gráfico 6: A) Tendencia mundial de la tasa de incidencia de casos de malaria (casos por cada 1000 habitantes en riesgo). B) Tasa de incidencia de mortalidad (fallecimientos por cada 100.000 habitantes en riesgo). Ambos durante el periodo de 2000-2021 (Ref. 30).

Los importantes avances en las últimas dos décadas en tratamientos y métodos diagnósticos, así como en las estrategias de prevención, han contribuido sin duda a mejorar la situación de esta enfermedad a nivel global. Sin embargo, una serie de desafíos biológicos, que incluyen la aparición de resistencias por parte del parásito a los antimaláricos, así como por parte de los vectores a los insecticidas, ponen en peligro los avances observados. Por otro lado, en los últimos años se ha ralentizado este avance en la lucha contra la enfermedad en gran medida por la insuficiencia de fondos internacionales y nacionales. A esto se suma en el año 2020 la pandemia de COVID-

19, que como ya hemos visto en los datos de ese año, ha surgido como una nueva complicación para la lucha contra la malaria en todo el mundo. El confinamiento, entre otras restricciones surgidas durante la pandemia, ha complicado el acceso a los programas de prevención, detección y tratamiento de la enfermedad³⁰.

De esta manera, el progreso alcanzado en los indicadores de la enfermedad parece haberse estancado los últimos 5 años, e incluso la situación en muchos países en los que la prevalencia de la malaria es elevada ha empeorado. De hecho, en los 10 países con mayor carga de la enfermedad en África, en 2017 se registraron 3,5 millones de casos más que en el año anterior. Más del 93 % de los casos de malaria ocurren en el continente africano, y siguen afectando especialmente a mujeres embarazadas y niños, de modo que en el grupo de menores de 5 años representan el 67% de las muertes globales^{29,30}.

1.6.2 Epidemiología de la malaria

Casi la mitad de la población mundial está en riesgo de ser infectada por *Plasmodium* spp. La enfermedad es endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales, abarcando todo el África subsahariana, así como grandes regiones del sudeste de Asia, el Mediterráneo oriental, el Pacífico occidental, Centroamérica y Sudamérica (Figura 1). Ochenta y siete países presentan una transmisión continua autóctona, con un progresivo descenso casi generalizado desde el año 2000. En la última década, diez países han sido declarados oficialmente libres de malaria por la OMS, entre los que hay destacar China y El Salvador, este último como primer país de Centroamérica en conseguirlo³⁰.

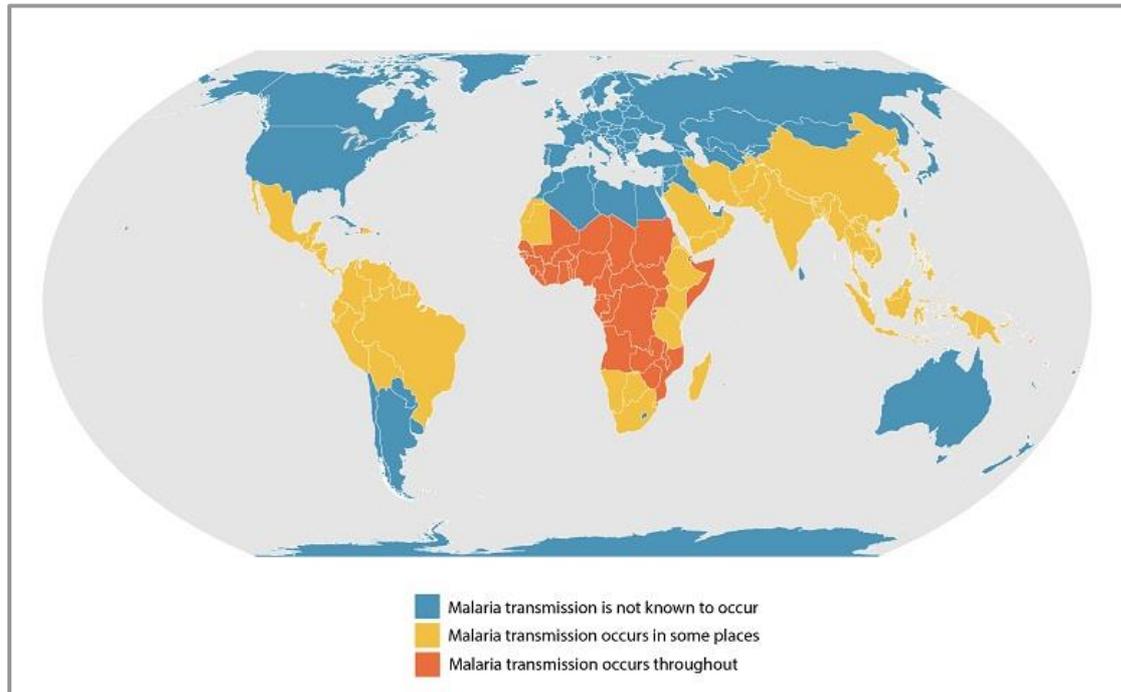


Figura 1: Países con transmisión de malaria en el año 2020. Fuente: CDC (disponible en <https://www.cdc.gov/malaria/about/distribution.html>).

Respecto a las especies de *Plasmodium*, *P. falciparum* y *P. vivax* son las predominantes en todo el mundo. *P. falciparum* representa la mayoría de los casos de malaria en el continente africano (> 99%), pero también es un problema en las regiones del Pacífico occidental (71,9%), el Mediterráneo oriental (69%) y el sudeste asiático (62,8%)²⁹. *P. vivax* es la especie predominante en América y el sudeste asiático, así como en algunas regiones específicas de África, aunque por lo general es poco común en este continente debido a la ausencia del antígeno Duffy en sus habitantes³¹. *P. malariae* y *P. ovale* se distribuyen a nivel mundial, pero su prevalencia en general es baja. *P. ovale* está presente principalmente en el sudeste asiático y África occidental, mientras que *P. malariae* se encuentra principalmente en África subsahariana. *P. knowlesi* es una malaria zoonótica, que tiene su origen en los macacos, y se ha

identificado en regiones de Malasia, Filipinas, Tailandia y Myanmar³². De forma excepcional, pueden ocurrir infecciones humanas por otras especies de *Plasmodium* procedentes de los simios, como *P. cynomolgi* y *P. simium*³³. La malaria se puede transmitir ocasionalmente a través de otros mecanismos que no incluyen la tríada vector-parásito-ser humano, como transfusiones de sangre, trasplante de órganos o de forma congénita, pero la contribución relativa de estos mecanismos a la carga general de la enfermedad es casi insignificante³⁴.

En áreas no endémicas como Europa, cada año se notifican alrededor de 8.000 casos de malaria importada. Sin embargo, como consecuencia de la restricción de la movilidad por la pandemia COVID-19, en el año 2020 se comunicaron 2.369 casos de los cuales 5 casos se consideraron adquiridos en la Unión Europea³⁵⁻³⁸. En ciertas regiones de Europa se distribuyen vectores de la enfermedad que pertenecen al complejo *Anopheles maculipennis*, siendo los principales *An. atroparvus* y *An. labranchiae*, este último con marcada antropofilia (Figura 2). A pesar de ello, el número de casos de malaria no importada apenas supone el 0,2% del global de casos en 2020 y no se ha informado de transmisión sostenida de la enfermedad.

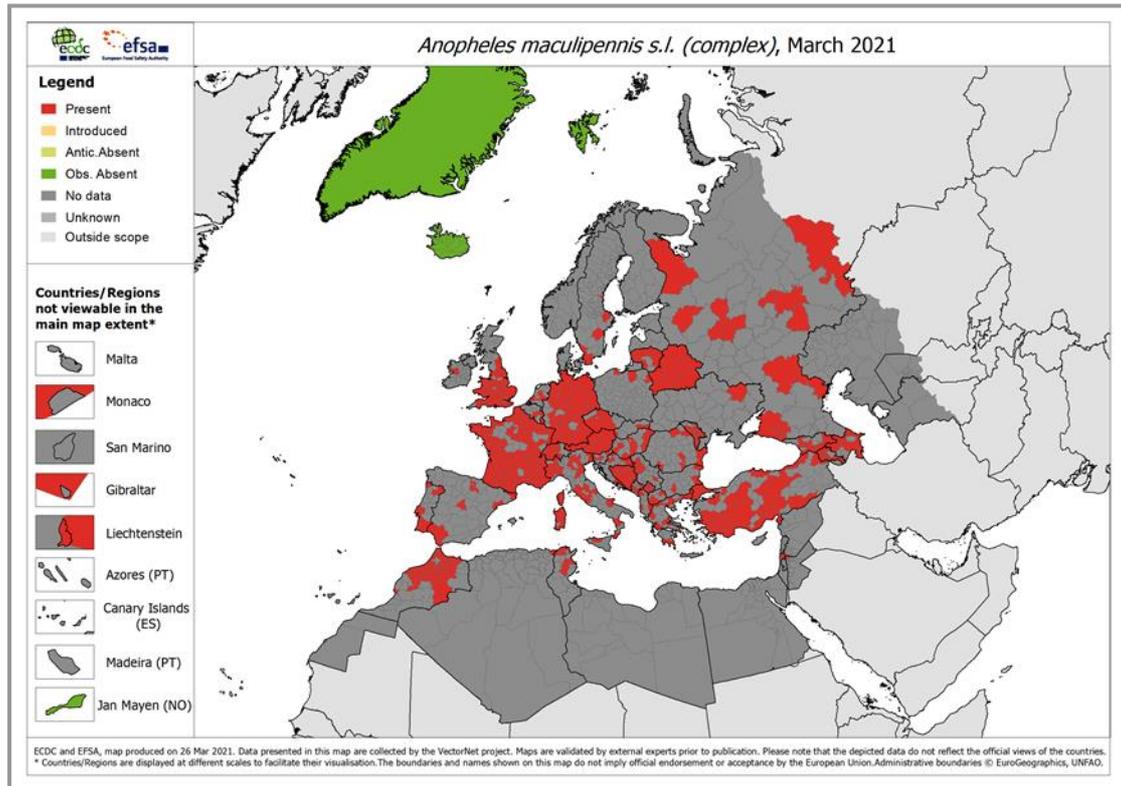


Figura 2. Distribución del complejo *Anopheles maculipennis* en Europa y el norte de África. Fuente ECDC (en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/anopheles-maculipennis-sl-current-known-distribution-september-2021>).

Francia fue el país que mayor número de casos notificó, seguido de Alemania y Bélgica (Figura 3). Hay una marcada tendencia estacional en todos los países, con un aumento de casos tras los meses de verano, que también se observa en el primer artículo de esta tesis doctoral (Gráfico 7).

P. falciparum es la especie predominante en los casos declarados en Europa. Supone el 82-90% de los casos confirmados. Alrededor del 90% de ellos provienen de África subsahariana y se diagnostican principalmente en inmigrantes varones de mediana edad, recién llegados, o en pacientes VFR^{35,39}. En este último grupo de

viajeros, como ya se ha mencionado, la percepción del riesgo de malaria es baja y, por lo general, no se siguen las medidas preventivas cuando visitan su país de origen^{27,39-}

41



Figura 3. Distribución de los casos de malaria confirmados en 2020 en Europa (Ref. 35).

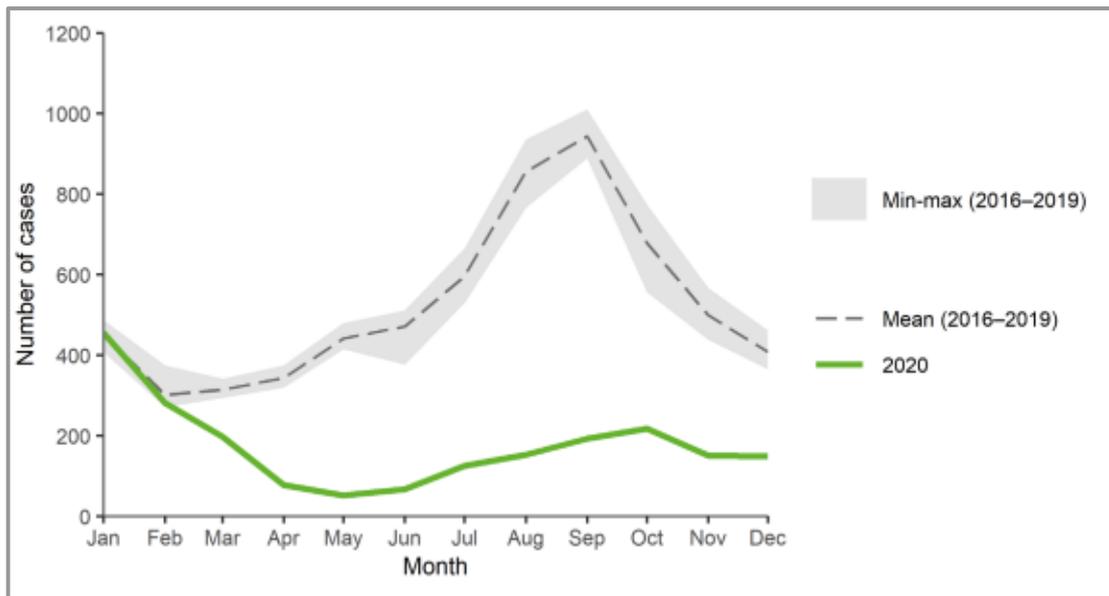


Gráfico 7: Distribución por meses de los casos de malaria confirmados en Europa durante el periodo 2015-2019 y en el año 2020 (Ref. 35).

En cuanto a España, tres especies de *Plasmodium* fueron endémicas, *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. vivax*, mientras que no ha habido comunicaciones de la presencia de *P. ovale*. La malaria endémica desapareció oficialmente de España en el año 1964⁴², cuando obtuvo la certificación oficial por la OMS. Desde entonces, la enfermedad ha sido considerada importada, aunque persiste una situación de anofelismo sin malaria. Si bien *An. atroparvus* está ampliamente distribuido en España, la presencia de *An. labranchiae* en nuestro país no es tan evidente hoy en día. Sin embargo, sigue estando presente en abundancia en el norte de Marruecos⁴³. Su reintroducción, ya sea transportado naturalmente por el viento⁴⁴ o transportado inadvertidamente dentro de vehículos, es posible y por tanto un riesgo a considerar.

En España, tras la erradicación de la malaria, se abre un largo período en el que debido a la ausencia de casos autóctonos, la enfermedad era prácticamente desconocida

para muchos de los profesionales sanitarios. En la década de los 80, el comienzo de los flujos migratorios desde las antiguas colonias africanas (Guinea Ecuatorial), la llegada de otros trabajadores subsaharianos, y la creciente movilidad de la población española por motivos de turismo o cooperación, fueron los factores determinantes del importante incremento de los casos de malaria importados en nuestro país⁴⁵. Actualmente, la malaria se ha convertido en una de las enfermedades tropicales importadas que con más frecuencia se diagnostican en España.

En respuesta a este fenómeno migratorio, surgieron las unidades y servicios de Medicina Tropical donde se atienden de forma específica las enfermedades más prevalentes en inmigrantes y viajeros^{46,47}. Entre las más destacables se encuentran las unidades pioneras en Barcelona (Hospital Clínic y Drassanes- Hospital Valle de Hebrón) o Madrid (Hospitales Carlos III-La Paz y Ramón y Cajal). La Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario de Poniente (UMT) se creó mediante un convenio de colaboración entre el Centro Nacional de Medicina Tropical del Instituto de Salud Carlos III y la Empresa Pública Hospital de Poniente el 7 de abril de 2004 y comenzó a funcionar en octubre de ese mismo año formando parte activa de la Red Española de Unidades de Medicina Tropical (REUMT).

En nuestro país, cada año se declaran entre 700 y 800 casos de malaria importada⁴⁸. Cuando comenzó la pandemia de COVID-19 también se observó una disminución de los casos de malaria importados, pero después hubo un repunte de los mismos junto con un mayor número de casos graves respecto a años prepandemia⁴⁹. El perfil del paciente que padece la enfermedad, según la tendencia descrita en centros españoles, es similar al perfil europeo⁴⁹⁻⁵¹. África subsahariana es, en estos momentos, la zona que exporta más casos, representando el 80-85% de todos los diagnosticados en

España en los últimos años^{49,52,53}. Además, *P. falciparum* es también la especie predominante. La segunda especie más frecuente es *P. vivax* y es diagnosticada con más frecuencia en personas procedentes del sudeste asiático, subcontinente indio y América Latina. Los casos no importados en España apenas suponen el 0,8% (Gráfico 8). En 2010 y 2014 se notificaron dos casos de malaria autóctona debido a la transmisión por vectores^{54,55}, en ambos casos por *P. vivax*. Uno de los últimos casos no importados notificado en nuestro país fue en 2019 en Aragón por *P. falciparum*, y se sospecha que pueda estar asociada a la asistencia sanitaria, puesto que en la investigación entomológica no se encontraron vectores competentes y se trataba de un paciente con múltiples hospitalizaciones durante ese año⁵⁶.

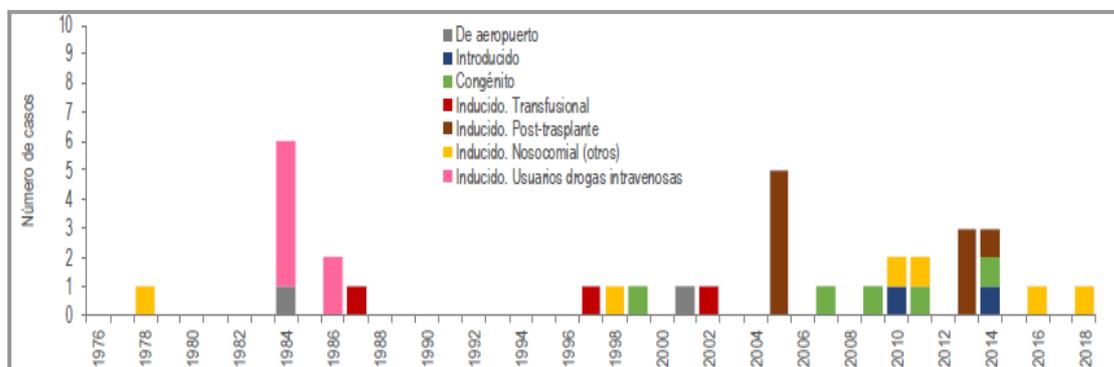


Gráfico 8. Casos de malaria no importada notificados en España durante el periodo de 1976- 2018 (Ref. 56).

El Poniente Almeriense es un área administrativa de salud ubicada en el sur de España. Su población se acerca a los 300.000 habitantes, con una proporción de inmigrantes del 21%, muchos de ellos procedentes de países subsaharianos que acuden para trabajar en invernaderos hortofrutícolas⁵⁷. La malaria es una de las enfermedades

importadas más prevalentes en nuestra área⁵⁸, y su frecuencia ha aumentado en los últimos años en paralelo al creciente fenómeno migratorio. Como se puede observar en el primer artículo de la tesis, durante el periodo de 2004-2019 se diagnosticaron 336 casos de malaria importada en la UMT.

1.6.3 Ciclo vital de *Plasmodium* spp.

Como ya se ha comentado, la enfermedad se transmite por la picadura de distintas especies del mosquito *Anopheles* hembra. En la figura 4 se representa la distribución mundial de los vectores predominantes o potencialmente importantes, como el mencionado complejo *Anopheles maculipennis* en Europa⁵⁹.

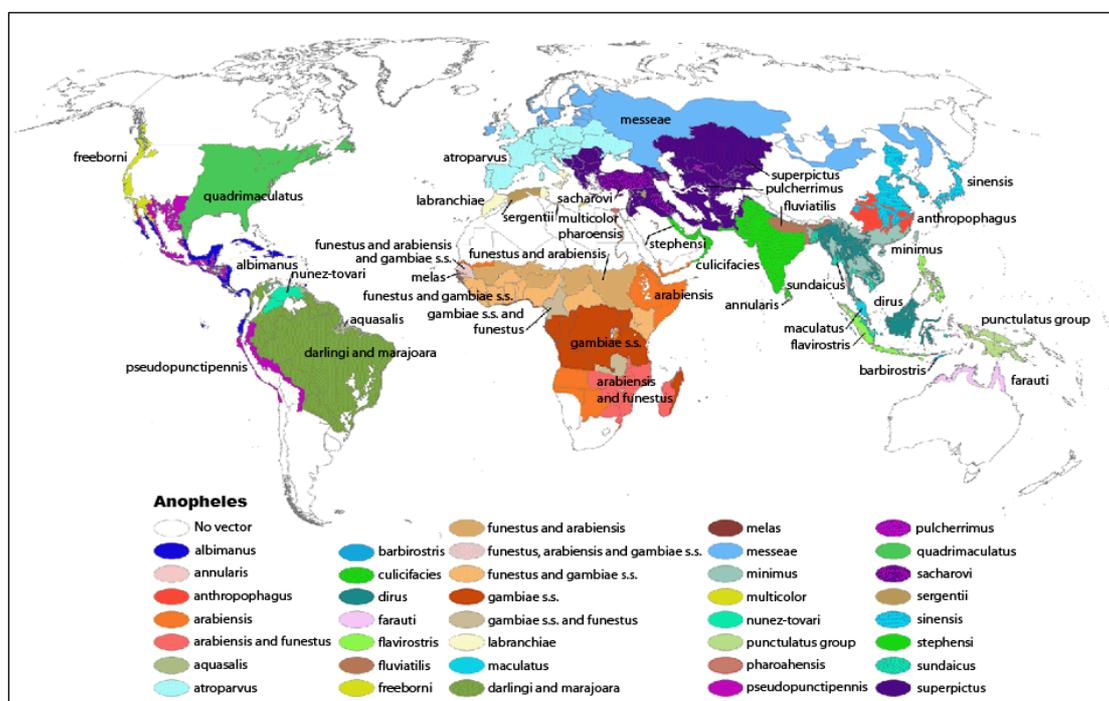


Figura 4. Distribución global de las especies de *Anopheles* predominantes o potencialmente importantes (Ref. 59).

El ciclo vital del *Plasmodium* ocurre en dos fases y se resume en la figura 5⁶⁰. El ser humano se considera un hospedador intermediario en el ciclo del parásito, y el mosquito el hospedador definitivo.

La malaria se adquiere tras la picadura de un mosquito *Anopheles* hembra que presenta dentro de sus glándulas salivales la forma infectiva del *Plasmodium*, el esporozoito. Tras la picadura, los esporozoitos invaden los hepatocitos. Dentro de estas células hepáticas, los esporozoitos maduran a esquizontes. En el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, algunos de ellos adoptan formas latentes (hipnozoitos o esquizontes durmientes) durante meses o años⁶¹. En el hepatocito se produce la replicación asexual⁶² (esquizogonia exoeritrocítica o hepática). Cada célula hepática infectada por esquizontes produce entre de 10.000 y 30.000 merozoitos.

Los merozoitos se liberan a la sangre después de la ruptura celular. Cada merozoito puede invadir un glóbulo rojo, formando trofozoítos, que tienen capacidad para replicarse asexualmente 5 veces en 48-72 horas, produciendo merozoitos. Cuando se produce la rotura de estos glóbulos rojos, se liberan más merozoitos al torrente sanguíneo. Algunos de los trofozoítos intraeritrocitarios maduran a formas sexuadas o gametocitos, que serán absorbidos por el mosquito, en cuyo intestino se llevará a cabo la gametogénesis. Cuando se efectúa la fertilización se forma el cigoto, que finalmente formará nuevos esporozoitos infecciosos tras un período de 9 a 14 días, que termina con la migración de los mismos a las glándulas salivales. Allí, estarán listos para una nueva inoculación en la siguiente picadura, completando así el ciclo de transmisión.

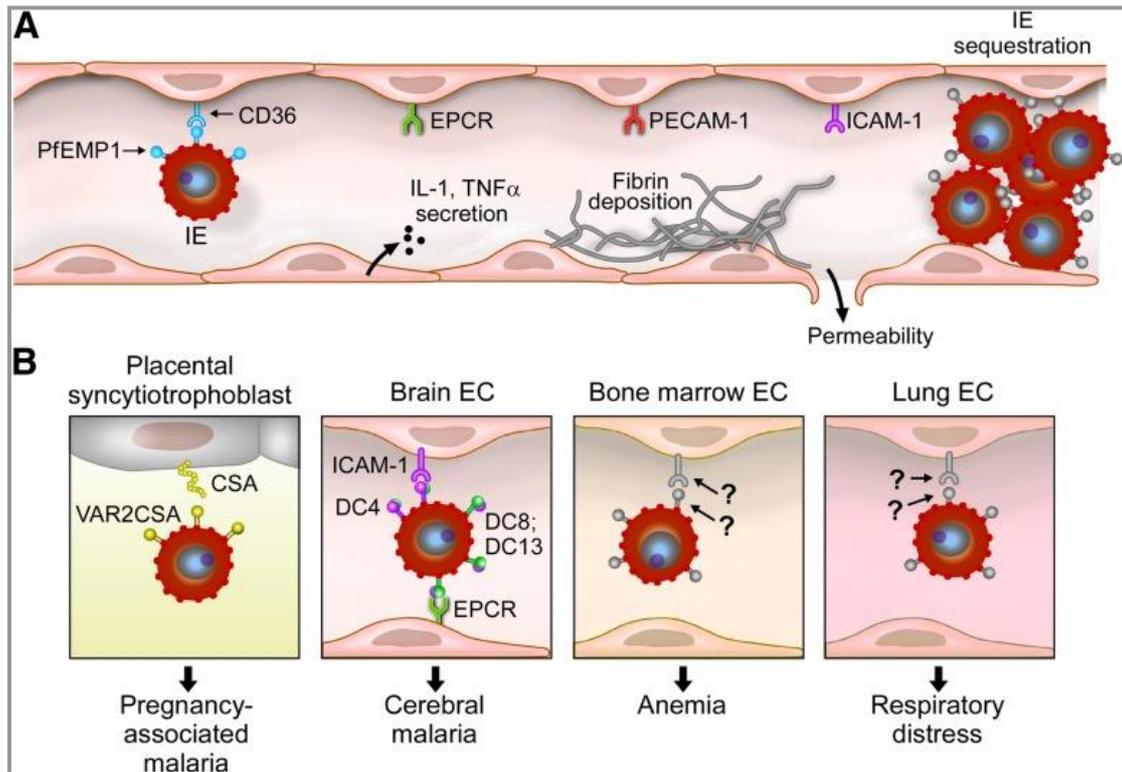


Figura 6. Fenómenos de citoadherencia de *P. falciparum* (Ref. 63).

A medida que los parásitos *P. falciparum* maduran a trofozoítos dentro de los glóbulos rojos, inducen la formación de protrusiones electrodenudas en la membrana de los glóbulos rojos infectados, conocidas como “knobs”^{64,65}. Estas protrusiones están compuestas por una combinación de proteínas producidas por los parásitos, incluidas las proteínas de membrana de los eritrocitos *P. falciparum-1* (PfEMP-1), KAHRP, PfEMP-2 y RESA, así como proteínas humanas que incluyen la espectrina, la actina y la banda 4.1⁶⁶⁻⁶⁸. Estas protrusiones o “knobs” tienen capacidad para adherirse a las células endoteliales de los vasos sanguíneos y conducen a la obstrucción parcial del flujo sanguíneo, la ruptura de la barrera endotelial y la respuesta de citoquinas proinflamatorias, incluido el factor de necrosis tumoral⁶⁴. Estos procesos pueden

suceder en cualquier órgano, y serán los responsables de la aparición de complicaciones clínicas graves que se describirán más adelante, como la malaria cerebral⁶⁹.

En cuanto al hospedador, varios polimorfismos y mutaciones genéticas parecen influir en la gravedad de la infección, particularmente los relacionados con la hemoglobina y los antígenos de los glóbulos rojos. Un ejemplo clásico es el factor del grupo sanguíneo Duffy para *P. vivax* o la presencia de hemoglobinopatías (p.e. Hb S) para *P. falciparum*⁷⁰⁻⁷². Por otro lado, las personas que viven en zonas endémicas desarrollan una inmunidad natural parcial o semi-inmunidad a la malaria después de infecciones repetidas, que puede protegerles contra formas graves de la enfermedad⁷³.

1.6.5 Clínica

Las manifestaciones clínicas de la malaria dependen de la especie del parásito, la edad del paciente y su inmunidad frente a la infección. En la mayoría de los casos, el período de incubación oscila entre 7-60 días⁷⁴⁻⁷⁶. Períodos de incubación más largos son posibles en el caso *P. vivax* y *P. ovale* debido a la activación de hipnozoítos residuales en el hígado^{61,77}, en individuos semi-inmunes o en personas que han realizado quimioprofilaxis frente a la malaria.

En regiones donde la enfermedad es altamente endémica, los grupos en mayor riesgo son los niños menores de 5 años, llegando a representar hasta el 67% de las muertes totales en estas áreas, las personas inmunodeprimidas y las mujeres embarazadas. Estas últimas corren además el riesgo de sufrir una mayor anemia y dar a luz a recién nacidos con bajo peso al nacer, lo que puede conllevar problemas en el crecimiento y el desarrollo cognitivo, además de un riesgo aumentado de muerte

infantil^{29,30,78}. En áreas donde la malaria se transmite durante todo el año, los niños mayores y los adultos gozan de una semi-inmunidad y presentan un riesgo relativamente bajo de contraer una enfermedad grave.

Los viajeros que no han padecido previamente la malaria o las personas VFR que han perdido gran parte de su inmunidad tras largos periodos residiendo fuera de áreas endémicas, tienen un elevado riesgo de enfermedad grave si se infectan, especialmente con *P. falciparum*^{79,80}.

El signo cardinal de la malaria es la fiebre, pero las manifestaciones clínicas podemos clasificarlas según su gravedad.

1.6.5.1 Malaria no grave

Se considera que los pacientes tienen malaria no grave ante la presencia de síntomas leves, una prueba parasitológica positiva y la ausencia de criterios de gravedad (tabla 2)⁸¹.

En áreas endémicas se debe sospechar en cualquier paciente que presente fiebre sin otra causa evidente. Hay distintos episodios de paroxismo febril, con patrones tercianos (*P. vivax*, *P. ovale*), cuartanos (*P. malariae*), cotidianos (*P. knowlesi*) o irregulares (*P. falciparum*), acompañados de sudoración, escalofríos, irritabilidad, etc.

En zonas en las que la transmisión de la enfermedad es estable (o durante el período de alta transmisión estacional), también se debe sospechar en niños con anemia³⁰. En áreas no endémicas, se debe sospechar en pacientes con cuadros febriles si han estado expuestos en una región donde la malaria es endémica^{30,79-82}. Los síntomas iniciales son inespecíficos y los pacientes pueden presentar cefalea, artromialgias o clínica digestiva con vómitos, dolor abdominal o diarrea^{80,82}.

También puede haber casos asintomáticos con baja carga parasitaria, algo que suele suceder en personas semi-inmunes.

En la exploración física el hallazgo más frecuente es la esplenomegalia, que aparece entre el 16 y el 33% de los pacientes⁸³. Respecto a las pruebas analíticas, en el hemograma, la trombocitopenia es la alteración más habitual (80-85%), siendo la anemia y la leucopenia menos frecuentes (30 y 22%, respectivamente). En el estudio bioquímico sanguíneo los parámetros que se alteran con mayor frecuencia son la concentración de LDH y bilirrubina sérica^{83,84}.

1.6.5.2 Malaria grave

La malaria grave se define como la presencia de parasitemia por *Plasmodium* spp. y una o más de las manifestaciones descritas en la tabla 2. *P. falciparum* es la especie que más se asocia a este cuadro, aunque *P. knowlesi* y *P. vivax* también pueden ocasionar cuadros graves⁸⁵.

Las manifestaciones clínicas de la malaria grave difieren entre adultos y niños, siendo más frecuente el fallo multiorgánico en los primeros. Sin embargo, la alta prevalencia de insuficiencia renal aguda en niños confirma que algunas características clínicas consideradas más típicas de los adultos también son frecuentes en los niños⁸⁶. Independientemente de la edad, la afectación neurológica, la trombopenia, la acidosis y la insuficiencia renal se asocian a un peor pronóstico⁸⁷⁻⁸⁹.

Crterios	Definición
Alteración del nivel de conciencia	Cualquier alteración del nivel de conciencia (Glasgow <11 en adultos o Blantyre <3 en niños) no explicable por otras causas (hipoglucemia, infección concomitante).
Postración	Debilidad generalizada que le impide andar o sentarse sin ayuda.
Múltiples convulsiones	>2 crisis comiciales en 24 h.
Shock	Presión arterial sistólica <70 mmHg en niños o <80 mmHg en adultos, con evidencia de alteración de la perfusión (zonas periferias frías o llenado capilar prolongado).
Ictericia	Bilirrubina plasmática o sérica >50 mcmmol/L (3 mg/dL) con recuento de parásitos <i>Plasmodium falciparum</i> >2,0% o <i>Plasmodium knowlesi</i> >0,5 %.
Sangrado espontáneo	Incluye sangrado recurrente o prolongado (de la nariz, las encías o zonas de venopunción), hematemesis o melena.
Hipoglucemia	Glucosa <54 mg/dL (<3 mmol/L) para niños <5 años y <40 mg/dL (<2,2 mmol/L) para niños ≥5 años y adultos.
Acidosis metabólica	Un déficit de bases de > 8 mEq/L, una concentración de bicarbonato plasmático de < 15 mmol/L o lactato en plasma venoso ≥ 5 mmol/L. Los indicadores clínicos de acidosis incluyen respiración rápida, profunda y dificultosa.
Anemia grave	Concentración de hemoglobina ≤5 g/dL o hematocrito ≤15 % en niños <12 años (<7 g/dL y <20%, respectivamente, en adultos) con recuento de parásitos > 10 000/μL.
Insuficiencia renal aguda	Creatinina plasmática o sérica >3 mg/dL (265 mcmmol/L) o urea en sangre >20 mmol/L.
Edema agudo de pulmón	Confirmado por radiografía o saturación de oxígeno <92 % en aire ambiente con frecuencia respiratoria >30/minutos, a menudo con tiraje torácico y crepitación en la auscultación.
Hiperparasitemia	<p><i>P. falciparum</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Todos los pacientes: parasitemia >10% <p><i>P. knowlesi</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Densidad de parásitos >100.000/uL ▪ Ictericia y densidad parasitaria >20.000/μL. <p><i>P. vivax</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ No se han establecido umbrales de parasitemia

Tabla 2. Criterios de gravedad de la malaria según la OMS (Ref. 81).

La malaria cerebral es una de las complicaciones más graves y se caracteriza por un deterioro importante de la conciencia en ausencia de diagnósticos alternativos.

También puede presentarse como crisis comiciales o focalidad neurológica y puede dejar secuelas a largo plazo en hasta un tercio de los supervivientes⁹⁰⁻⁹⁵.

Los factores de riesgo para el desarrollo de malaria cerebral son la edad (más frecuente en niños y adultos mayores), el embarazo, la malnutrición, la infección por VIH, la susceptibilidad genética del hospedador y el antecedente de esplenectomía⁹⁶⁻⁹⁹. Entre los adultos, el cuadro ocurre con mayor frecuencia en personas no inmunes. Tanto en adultos como en niños, la malaria cerebral puede alcanzar tasas de letalidad del 20%, siendo el edema cerebral un evento patogénico clave para explicar esta letalidad¹⁰⁰⁻¹⁰².

La insuficiencia renal es común entre los adultos con malaria por *P. falciparum* grave¹⁰³. Su patogenia es incierta, pero parece estar relacionada con el secuestro de eritrocitos que interfiere con el flujo y el metabolismo de la microcirculación renal. Otros factores potenciales son la hipovolemia y la hemólisis¹⁰⁴. Grandes cantidades de hemoglobina y pigmentos palúdicos pueden estar presentes en la orina como consecuencia de la hemólisis intravascular.

Por un mecanismo patogénico similar al de la insuficiencia renal, los pacientes con malaria grave por *P. falciparum*, *P. knowlesi* o *P. vivax* pueden desarrollar un síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA)¹⁰⁵. Otros criterios de gravedad (tabla 2) son el sangrado espontáneo, la anemia, la acidosis o la hipoglucemia. Respecto a la parasitemia, en áreas no endémicas como España, se considera criterio de gravedad parasitemias > 2,5% en pacientes no inmunes¹⁰⁶, siguiendo las recomendaciones de la OMS vigentes en ese momento¹⁰⁷.

Además de las formas graves descritas previamente, un paciente con malaria puede tener una evolución fatal por razones diferentes a la propia infección, lo que se

ha denominado malaria complicada. En estos casos, las medidas destinadas al control de la parasitemia y sus efectos nocivos no son suficientes para la curación. Las dos causas más frecuentes de malaria complicada son la coinfección bacteriana (en áreas endémicas, la bacteriemia por *Salmonella* se ha asociado con infecciones por *P. falciparum*¹⁰⁸) y, en menor medida, la rotura de bazo. La presencia concomitante de leucocitosis ($> 15.000/\mu\text{l}$), poco frecuente en los casos de malaria, puede alertar de la presencia de una coinfección bacteriana¹⁰⁶.

1.6.6 Diagnóstico

Las manifestaciones de la malaria son inespecíficas y difíciles de distinguir de otras enfermedades basándose solo en el enfoque clínico. Las guías actuales recomiendan confirmar la presencia del parásito en todos los casos sospechosos antes de iniciar un tratamiento temprano, específico y adecuado.

En áreas endémicas como el África subsahariana, donde las técnicas diagnósticas no están fácilmente disponibles y ante la sospecha clínica de infección por *P. falciparum*, puede ser razonable hacer un diagnóstico presuntivo y tratar empíricamente la infección, dada la posible gravedad de esta⁸¹. En estas regiones se establece un diagnóstico definitivo de malaria entre los pacientes con fiebre en menos de la mitad de los casos¹⁰⁹⁻¹¹¹.

En zonas no endémicas, el diagnóstico de la malaria importada es siempre urgente y las pruebas de diagnóstico se han de solicitar a cualquier viajero con fiebre procedente de un área endémica¹⁰⁶ (figura 7). El retraso en el diagnóstico no debe demorar el inicio de tratamiento antimalárico empírico si la probabilidad de malaria es alta y el paciente

está grave. Puede ser necesario extraer hasta tres muestras para descartar la infección, sobre todo en pacientes que han recibido medicamentos antimaláricos como profilaxis o tratamiento.

Actualmente disponemos de técnicas o herramientas con distinta sensibilidad para el diagnóstico de la malaria (Gráfico 9).

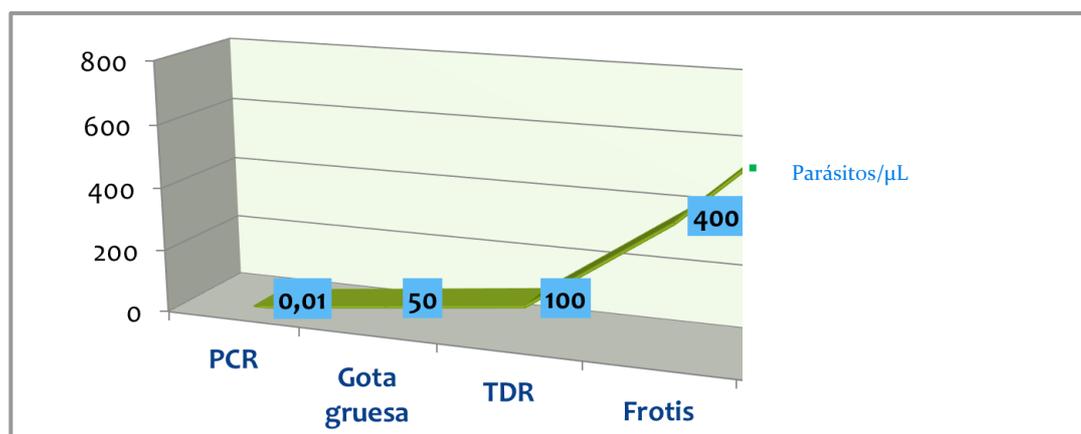


Gráfico 9. Sensibilidad de las distintas técnicas diagnósticas disponibles para la malaria. PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa. TDR: Test de Diagnóstico Rápido.

La gota gruesa seguida del frotis fino es la técnica de elección para el diagnóstico de la malaria. La gota gruesa es altamente sensible para definir la presencia o ausencia de infección, y el frotis fino permite la diferenciación de especies. Si no se dispone de la posibilidad de realizar una gota gruesa, se puede utilizar un test de diagnóstico rápido (TDR) como prueba inicial de cribado. En muchos casos son actualmente la opción más ampliamente disponible y, a menudo, el método de diagnóstico inicial. Los TDR proporcionan un diagnóstico de una forma simple, basados en la detección de antígenos parasitarios especie-específicos (HRP-2 [proteína rica en histidina-2], o aldolasa para

P. falciparum) o comunes a todas las especies de *Plasmodium* (pLDH [LDH del parásito]) en sangre mediante técnicas inmunocromatográficas¹¹².

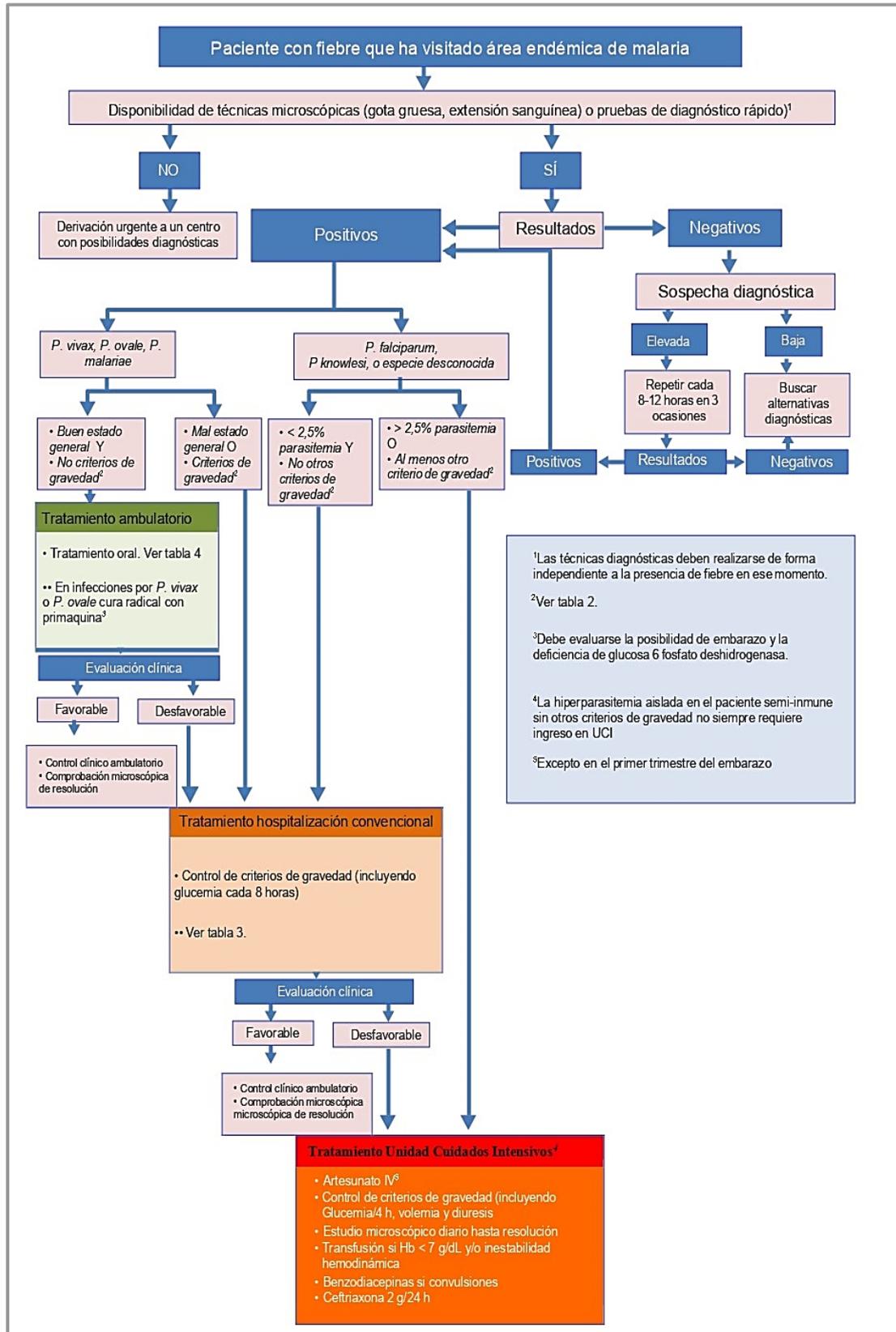
Las características de las distintas herramientas diagnósticas se describen a continuación:

- **Gota gruesa:** A pesar de ser una técnica que se usa desde hace más de un siglo para el diagnóstico de esta infección, la detección de *Plasmodium* mediante gota gruesa sigue siendo el patrón oro. Su amplia aceptación se debe principalmente a su bajo coste, aunque suele requerir de microscopistas entrenados e incluso expertos. Permite la cuantificación de parásitos de malaria con un límite de detección entre 50 y 500 parásitos/ μ L que puede llegar a 5 parásitos/ μ L con personal experto^{30,106,112,113}. Si se sospecha malaria y el estudio microscópico inicial es negativo, se debe valorar repetirlo en las siguientes 48 a 72 horas^{30,106}.
- **Frotis/extensión fina:** A diferencia de la gota gruesa, la preparación del frotis fino mantiene la integridad y la morfología de los eritrocitos, para que los parásitos sean visibles. Por este motivo permite mejor la identificación de las especies de *Plasmodium* y los casos de parasitemias mixtas, pero es menos sensible que la gota gruesa y no debe emplearse de forma aislada en el diagnóstico de la malaria^{106,113}. También permite monitorizar la respuesta al tratamiento, así como el desarrollo de resistencias.
- **Test de diagnóstico rápido (TDR):** se han convertido en importantes herramientas de diagnóstico en entornos endémicos con recursos limitados durante la última década debido a su precisión y facilidad de uso. Estas

técnicas son de utilización sencilla, tienen una alta sensibilidad y especificidad, y no requieren electricidad ni infraestructura de laboratorio, obteniendo resultados en 15 a 20 minutos¹¹⁴. Su principal desventaja es que no permiten cuantificar la parasitemia y permanecen positivas hasta un mes tras el tratamiento y, por tanto, no son válidas para evaluar la respuesta al mismo. En regiones endémicas donde la infección es causada principalmente por *P. falciparum*, el uso de TDR que detecten solo *P. falciparum* puede ser suficiente y rentable¹¹⁵. En regiones donde coexisten parásitos falciparum y no falciparum o donde predomine *P. vivax*, se justifica el uso de un TDR que pueda detectar y distinguir entre estas especies. En áreas no endémicas, los TDR pueden usarse como cribado inicial en casos de sospecha de malaria si no se dispone de gota gruesa. Su rendimiento disminuye en presencia de bajas parasitemias (más frecuente en malarias no-falciparum). Se han descrito también falsos negativos en los TDR en pacientes con malaria por *P. falciparum* con altas parasitemias, probablemente debido a un fenómeno de «prozona»¹⁰⁶. De especial preocupación es la expansión de cepas de *P. falciparum* con mutaciones que afectan a la HPR-2 y que también pueden dar lugar a falsos negativos¹¹⁶.

- **Pruebas de biología molecular:** Su sensibilidad es mayor que la de la microscopía o los métodos basados en detección de antígenos. Por otro lado, la especificidad también es superior, permitiendo una mejor caracterización de especie y la detección de infecciones mixtas en mayor proporción que otros métodos^{117,118}. La PCR es útil como prueba confirmatoria de especie en el caso de parasitemias mixtas, parasitemias submicroscópicas, o en el

caso de sospecha de infección por *P. knowlesi*. Su principal inconveniente es que son técnicas que requieren cierta infraestructura y mayor coste. Por ello, se están desarrollando métodos de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para la detección de ADN del parásito y que facilitan el uso de la tecnología molecular en áreas endémicas. El uso de la técnica LAMP para la amplificación de ADN no requiere la instrumentación del termociclador que precisa la PCR, ni manipulaciones adicionales¹¹⁹⁻¹²⁴.



¹Las técnicas diagnósticas deben realizarse de forma independiente a la presencia de fiebre en ese momento.

²Ver tabla 2.

³Debe evaluarse la posibilidad de embarazo y la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

⁴La hiperparasitemia aislada en el paciente semi-inmune sin otros criterios de gravedad no siempre requiere ingreso en UCI

⁵Excepto en el primer trimestre del embarazo

Figura 7. Algoritmo adaptado del diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España (Ref. 106).

1.6.7 Tratamiento

La asociación de quinina con doxiciclina/clindamicina ha sido clásicamente durante décadas la pauta más usada para el tratamiento de los casos de infección no grave por *P. falciparum*, principalmente en áreas endémicas, con una eficacia y tolerabilidad similar al resto de regímenes terapéuticos¹²⁵. Sin embargo, la introducción de la terapia combinada con derivados de la artemisinina (TCA) en la década de 1990, un producto natural derivado de la planta del ajeno dulce (*Artemisia annua*), supuso una revolución en el tratamiento de la malaria, en particular por *P. falciparum*. Su descubrimiento fue reconocido con el Premio Nobel en el año 2015 a Tu Youyou.

En los casos de malaria por *P. falciparum* sin criterios de gravedad, en los últimos años diversos estudios han demostrado que las pautas de TCA presentan una mayor eficacia en el tratamiento de la enfermedad, disminuyen la transmisión en zonas endémicas y producen menores tasas de reinfecciones¹²⁶⁻¹³⁰. Esta eficacia superior se debe a una mayor rapidez del aclaramiento parasitario en comparación con cualquier otro antimalárico, al actuar contra todas las etapas sanguíneas (formas asexuales) de la malaria¹³⁰⁻¹³⁵.

En los casos de malaria grave por *P. falciparum*, el artesunato ha demostrado un descenso de la mortalidad global frente a la quinina tanto en niños como en adultos¹³¹⁻¹³².

Los regímenes de TCA también reducen la transmisión de la enfermedad en áreas endémicas. Se ha demostrado que la combinación artemeter-lumefantrina es superior al resto de antimaláricos no derivados de la artemisininas en la reducción de la gametocitemia^{130,135}. Para reducir aún más la transmisión de la infección por *P.*

falciparum en áreas endémicas con baja transmisión, es recomendable la administración de primaquina el primer día del tratamiento de la malaria en adultos (excepto en embarazadas) y niños mayores de 6 meses^{82,136}.

La TCA, en general, es bien tolerada y tiene un perfil bajo de efectos secundarios. Los derivados de la artemisinina deben administrarse con un segundo agente que tenga una vida media más prolongada para prevenir el desarrollo de resistencias a estos compuestos y proporcionar una mayor durabilidad del tratamiento para eliminar por completo la parasitemia^{82,137}.

Por todo lo anterior, actualmente los medicamentos basados en artemisininas son recomendados como la primera opción en el tratamiento de la malaria por cualquiera de las especies de *Plasmodium* con y sin criterios de gravedad, tanto en países endémicos como no endémicos^{81,106}. La quinina ha quedado relegada como tratamiento de segunda línea en los casos en los que la TCA esté contraindicada o no esté disponible, y en el tratamiento de la malaria durante el primer trimestre del embarazo por su posible teratogenicidad. No existe suficiente información sobre la seguridad y la eficacia de muchos antimaláricos en el embarazo, en especial durante este trimestre. El tratamiento de elección tanto de la malaria no grave como con criterios de gravedad en el segundo y tercer trimestre es la TCA^{81,106}.

La estrategia de tratamiento de la malaria se puede dividir según su gravedad.

1.6.7.1 Tratamiento de la malaria no grave

El principal objetivo del tratamiento de la malaria no grave es prevenir la progresión hacia la enfermedad grave y la muerte³⁰. En las regiones endémicas, el tratamiento correcto y rápido también debería ayudar a prevenir la resistencia a los medicamentos antimaláricos y reducir la transmisión. En áreas no endémicas, en especial en individuos no inmunes, una infección puede progresar a una enfermedad grave en cuestión de horas, por lo que es importante que no haya demoras en el diagnóstico y que el tratamiento se inicie de inmediato.

En las últimas décadas, estos objetivos han sido favorecidos por la aparición de medicamentos antimaláricos económicos y ampliamente disponibles en tratamientos combinados. Los tratamientos combinados son más eficaces que las monoterapias y las actuales combinaciones con dosis fijas aseguran una mayor adherencia.

En el caso de la malaria no grave, el tratamiento puede administrarse por vía oral salvo que el paciente presente vómitos o alguna otra contraindicación para la vía oral, en cuyo caso se administrará por vía parenteral.

Para la malaria por *P. falciparum*, las distintas combinaciones de TCA tienen una eficacia similar y superior al 95%. Es nuestro país, la dihidroartemisinina-piperaquina es la única pauta de TCA que se comercializa, si bien el resto de combinaciones pueden conseguirse como medicación extranjera¹⁰⁶.

En aquellas zonas donde el *P. falciparum* es sensible a la cloroquina (Haití, República Dominicana, la mayoría de las regiones del Medio Oriente y América Central al oeste del Canal de Panamá) y en las que la TCA no está fácilmente disponible, podría tratarse la enfermedad con cloroquina o hidroxiclороquina⁸¹.

Para el tratamiento del resto de especies (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*), actualmente también se aconseja la TCA en primer lugar⁸¹. Por otro lado, en el caso de *P. vivax* o *P. ovale*, es recomendable realizar un ciclo de tratamiento con primaquina para eliminar los hipnozoítos (formas quiescentes) y evitar recidivas de la infección. Las infecciones mixtas que incluyen *P. falciparum* deben recibir tratamiento activo contra esta especie. Si se identifican varios *Plasmodium*, todos sensibles a cloroquina, es razonable usar únicamente este fármaco¹⁰⁶.

En las tablas 3, 4 y 5 se describe el esquema de tratamiento recomendado en nuestro país.

1.6.7.2 Tratamiento de la malaria grave

El tratamiento con antimaláricos es una urgencia, ya que el tiempo desde que comienzan los síntomas hasta que se inicia el mismo condicionará el pronóstico del paciente¹³⁸⁻¹⁴⁰. Como ya se ha comentado, la mayoría de los casos de malaria grave son debidos a *P. falciparum* (90%), pero *P. vivax* y *P. knowlesi* también pueden causar enfermedad grave^{81,141,142}. El tratamiento intravenoso debe iniciarse de inmediato con derivados de la artemisinina. El artesunato es el compuesto de artemisinina de acción más rápida, por lo que es el derivado de elección tanto en áreas endémicas como no endémicas^{81,106}.

En áreas endémicas, si no existe la posibilidad de iniciar una pauta de TCA, los pacientes deben ser tratados con una dosis única de artesunato intramuscular o rectal hasta poder ser atendidos o derivados a un centro médico para continuar con el tratamiento intravenoso. El artesunato rectal solo está indicado en niños menores de 6

años de edad y ha demostrado disminuir la mortalidad en este grupo hasta poder continuar con la terapia parenteral¹⁴³.

En países no endémicos como España, es recomendable que el paciente ingrese en una unidad de cuidados intensivos para recibir tratamiento con artesunato intravenoso, excepto casos particulares, como aquellos pacientes considerados semi-inmunes cuyo único criterio de gravedad sea una parasitemia levemente por encima de la cifra del 2,5%¹⁰⁶.

Se debe completar siempre el tratamiento con una formulación oral de una de las combinaciones con artemisininas orales o de atovacuona/proguanil.

Entre los efectos adversos más frecuentes del artesunato se incluyen náuseas, vómitos y diarrea, aunque estos pueden deberse a la malaria más que a la toxicidad del fármaco. Se han descrito casos de anemia hemolítica tardía, principalmente en pacientes con altas parasitemias¹⁴⁴⁻¹⁴⁷. Aunque el mecanismo no es bien conocido, parece que el artesunato destruye el parásito pero no los hematíes, que quedan deformados y no funcionales. Estos glóbulos rojos tienen una vida más corta que los glóbulos rojos no parasitados, lo que puede explicar la anemia^{148,149}. Esta suele mejorar a las 4-8 semanas posteriores a la finalización de tratamiento, por lo que se recomiendan controles analíticos en ese intervalo de tiempo.

Malaria por <i>P. falciparum</i> sin criterios de gravedad		
Población	Línea	Tratamiento
Adultos	Primera línea	-Dihidroartemisina-piperaquina (Eurartesim® 40 mg/320 mg) < 75 kg, 3 comp./día × 3 días (total 9 comp.) 75-100 kg, 4 comp./día × 3 días (total 12 comp.) -Atovacuona-proguanilo (Malarone® 250 mg/100 mg) 4 comp./día × 3 días (total 12 comp.) -Artemether-lumefantrina (Riamet® o Coartem® 20 mg/120 mg) 4 comp. a las 0, 8, 24, 36, 48 y 60 h (total 24 comp.)
	Segunda línea	- Sulfato de quinina (comp. 300-325 mg) comp./8 h + doxiciclina 100 mg/12 h × 7 días (total 56 comp.)
Niños	Primera línea	-Artemether-lumefantrina 1 comp./dosis si < 3 años (5-14 kg); 2 comp./dosis (15-24 kg; 3-8 años); 3 comp./dosis (25-34 kg; 9-14 años); 4 comp./dosis (> 34 kg, igual que adultos). Son necesarias 6 dosis a las 0, 8, 24, 36, 48 y 60 h
	Segunda línea	-Atovacuona-proguanilo 5-8 kg: 2 comp. pediátricos/día/3 días; 9-10 kg: 3 comp. pediátricos/día/3 días; 11-20 kg: 1 comp. adulto (250 mg atovacuona y 100 mg proguanil)/día/3 días; 21-30 kg: 2 comp. adulto/día/3 días; 31-40 kg: 3 comp. adulto/día/3 días; >40 kg: 4 comp. adulto/día/3 días. -Quinina 10 mg sal/kg/8 h + clindamicina 25-40 mg/kg/día en 3-4 dosis durante 7 días

Tabla 3. Tratamiento de la malaria por *P. falciparum* sin criterios de gravedad indicado en España (Ref. 106).

Malaria por *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* o *P. knowlesi* sin criterios de gravedad

Población	Línea	Tratamiento
Adultos	Primera línea	<p>-Dihidroartemisina-piperaquina (Eurartesim® 40 mg/320 mg) < 75 kg, 3 comp./día × 3 días (total 9 comp.); 75-100 kg, 4 comp./día × 3 días (total 12 comp.)</p> <p>-Atovacuona-proguanilo (Malarone® 250 mg/100 mg) 4 comp./día × 3 días (total 12 comp)</p> <p>-Artemether-lumefantrina (Riamet® o Coartem® 20 mg/120 mg) 4 comp. a las 0, 8, 24, 36, 48 y 60 h (total 24 comp.)</p>
	Segunda línea	<p>-Cloroquina oral (Resochin® o Dolquine® 155 mg base) 4 comp. + 2 comp. a las 6, 24 y 48 h (4 + 2 + 2 + 2 = 10 comp.) Si <i>P. vivax</i>: añadir siempre primaquina (Primaquine® 7,5 mg base) 30 mg base = 4 comp./día × 2 sem. Si <i>P. ovale</i>: añadir siempre primaquina (Primaquine® 7,5 mg base) 15 mg base = 2 comp./día × 2 sem</p>
Niños	Primera línea	<p>-Artemether-lumefantrina 1 comp./dosis si < 3 años (5-14 kg); 2 comp./dosis (15-24 kg; 3-8 años); 3 comp./dosis (25-34 kg; 9-14 años); 4 comp./dosis (> 34 kg, igual que adultos). Son necesarias 6 dosis a las 0, 8, 24, 36, 48 y 60 h</p> <p>-Atovacuona-proguanilo 5-8 kg: 2 comp. pediátricos/día/3 días; 9-10 kg: 3 comp. pediátricos/día/3 días; 11-20 kg: 1 comp. adulto (250 mg atovacuona y 100 mg proguanil)/día/3 días; 21-30 kg: 2 comp. adulto/día/3 días; 31-40 kg: 3 comp. adulto/día/3 días; >40 kg: 4 comp. adulto/día/3 días</p>
	Segunda línea	<p>-Cloroquina 25 mg/kg de base repartida en 3 días (10 mg/Kg primera dosis, seguida de 5 mg/Kg a las 12, 24 y 48 h).</p>

Tabla 4. Tratamiento adaptado de la malaria por *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* o *P. knowlesi* sin criterios de gravedad indicado en España (Ref. 106).

Malaria con criterios de gravedad		
Población	Línea	Tratamiento
Adultos	Primera línea	-Artesunato iv 2,4 mg/kg iv, y repetir dosis a las 12 h, 24 h, y cada 24 h si es necesario hasta que se pueda iniciar el tratamiento oral. Se debe administrar durante un mínimo de 24 h (3 dosis).
	Segunda línea	-Quinina iv 20 mg/Kg dosis inicial a pasar en suero glucosado en 4 h (dosis inicial de 10 mg/Kg si contraindicación), seguido de 10 mg/Kg en 4 h cada 8h durante 7 días, o hasta inicio del tratamiento oral. Se debe asociar doxiciclina 100 mg/12h
Niños	Primera línea	-Artesunato 2,4 mg/kg (i.v. o i.m.) a las 0, 12, 24 h, seguido de una dosis cada 24 h hasta que sea posible pasar a vía oral
	Segunda línea	-Quinina i.v. 10 mg sal/kg/8 h + clindamicina 25-40 mg/kg/día 3-4 dosis durante 7 días

Tabla 5. Tratamiento de la malaria con criterios de gravedad indicado en España (Ref. 106). Siempre debe administrarse tratamiento secuencial tras la administración de la medicación intravenosa (ver apartado de tratamiento de la malaria sin criterios de gravedad).

1.6.8 Resistencias a antimaláricos

El arsenal terapéutico contra la malaria comenzó a desarrollarse durante la Segunda Guerra Mundial. En aquel momento, la quinina era el antimalárico más eficiente. Sin embargo, sus efectos secundarios y la dificultad para obtenerlo de su fuente natural (el quino, que crece disperso en las profundidades de los bosques pluviales de Sudamérica) impulsaron la investigación en busca de un análogo sintético. El resultado fue la cloroquina, un potente antimalárico sin prácticamente efectos secundarios que, en aquel momento, se pensó que podría ser el tratamiento que

erradicara la malaria. Por desgracia no fue así y al cabo de pocos años se detectaron en el parásito la aparición de resistencias, en la mayoría de los casos por un uso incontrolado y en monoterapia de la cloroquina¹⁵⁰. Las primeras resistencias a la cloroquina se notificaron en 1957 en la frontera entre Tailandia y Camboya, y posteriormente se extendieron a América Latina y la India en la década de los 70, y al continente africano en los 80. Desde entonces, la fármaco-resistencia a los antimaláricos se ha ido extendiendo hasta representar un problema mundial en la lucha y en el control de la malaria (figura 8), puesto que también afecta ya a los derivados de las artemisininas¹⁵¹.

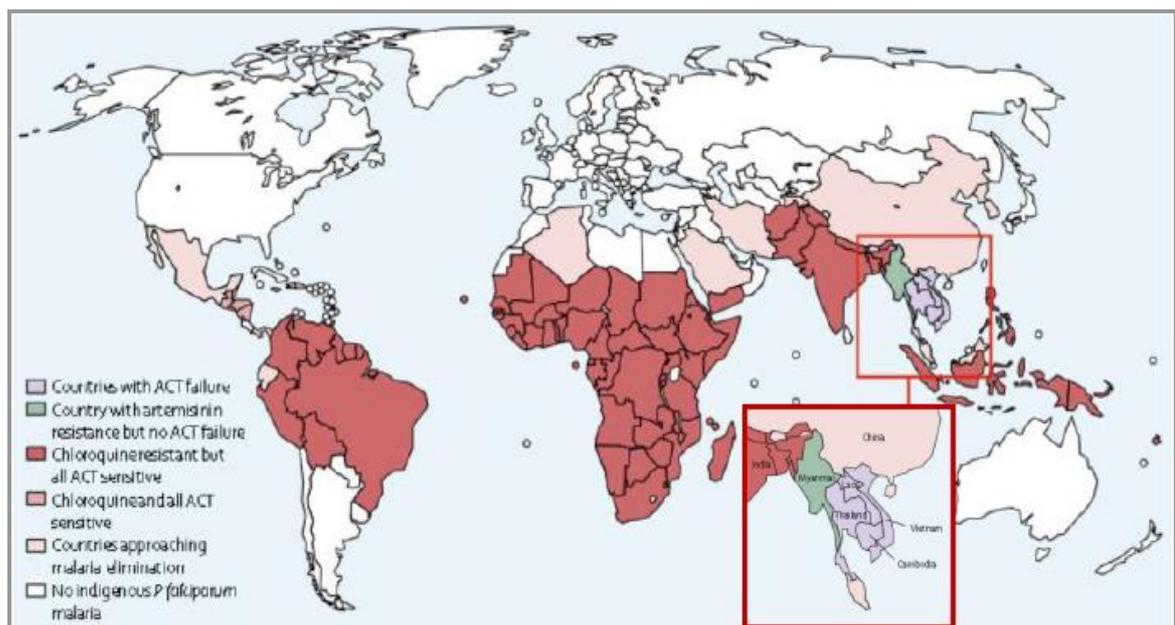


Figura 8. Distribución global de la resistencia a los antimaláricos por *P. falciparum* (Ref. 151).

La recrudescencia o verdadero fracaso terapéutico puede deberse a un tratamiento subóptimo (mala calidad del medicamento, duración del tratamiento insuficiente, una mala adherencia...) o a una resistencia verdadera. Esto ha de confirmarse con estudios

de susceptibilidad in vitro o mediante marcadores genéticos que detecten mutaciones en el genoma parasitario.

La OMS define la fármaco-resistencia verdadera a los antimaláricos como “la habilidad de una cepa de *Plasmodium* de sobrevivir o multiplicarse tras una exposición adecuada a un determinado fármaco (adecuada administración y absorción de un antimalárico dado en dosis iguales o superiores a las recomendadas y durante el tiempo necesario para su acción normal)”. La OMS propone una clasificación para la evaluación de la respuesta terapéutica y la eficacia de los medicamentos antimaláricos¹⁵². Se pueden definir varios tipos de resistencias:

- La **resistencia a los fármacos antimaláricos** es la capacidad de una cepa del parásito para sobrevivir y/o multiplicarse a pesar de la administración y absorción de un fármaco administrado en dosis iguales o superiores a las normalmente recomendadas.
- La **multirresistencia a los antimaláricos** es la resistencia a más de dos compuestos antipalúdicos de diferentes clases químicas. Este término generalmente se refiere a la resistencia del *P. falciparum* a la cloroquina, la sulfadoxina-pirimetamina y un tercer compuesto antimalárico.
- La **resistencia parcial a la artemisinina** es el retraso en la eliminación del parásito después del tratamiento con monoterapia basada en artemisinina o con una terapia combinada basada en artemisinina (TCA). Se define como una semivida de aclaramiento parasitario ≥ 5 horas tras iniciar el tratamiento, parasitemia persistente tras 3 días de tratamiento o la presencia de marcadores genéticos parasitarios de resistencia.

La aparición de resistencias a los regímenes de TCA preocupa enormemente. En el año 2008 se describe por primera vez en Camboya y Tailandia una disminución de la eficacia de las pautas de TCA¹⁵³, y en los últimos años se han propagado cepas de *P. falciparum* resistentes a la artemisinina en la subregión del Gran Mekong en el sudeste asiático¹⁵⁴. También se han descrito en América del Sur y recientemente en África, lo que representa una seria amenaza para el control de la infección a nivel global, debido a que el 90% de los casos y muertes por malaria se notifican actualmente en este continente, y no hay disponible una alternativa eficaz¹⁵².

La resistencia a la artemisinina se ha asociado principalmente a mutaciones en el gen *PF3D7_1343700* del cromosoma 13 del *P. falciparum* (*PfK13*) que codifica la proteína kelch13. Hasta la fecha, se han validado 10 mutaciones en el *PfK13* como marcadores moleculares de resistencia¹⁵². Se ha demostrado que parásitos con estas mutaciones podrían tener una protección frente a la actividad oxidativa de las artemisininas durante la fase de trofozoíto joven¹⁵⁵. En el sudeste asiático la prevalencia del alelo C580Y ha aumentado en la última década y en ciertas zonas de Myanmar se describen prevalencias de hasta el 47%¹⁵⁶. En África se han detectado esporádicamente varias mutaciones, y se ha demostrado que alelos con estas mutaciones tenían un origen distinto al descrito en el sudeste asiático, lo que indica la existencia de mutaciones autóctonas en este continente^{152,157}. La prevalencia de estas mutaciones ha aumentado los últimos años, y llega a alcanzar el 12% (concretamente la R561H) en ciertas áreas como en el norte de Ruanda¹⁵². En América del Sur también se ha descrito en Guyana la aparición independiente de un alelo mutante C580Y *PfK13*¹⁵⁸.

1.6.9 Malaria submicroscópica

La malaria submicroscópica (MSM) se define como una infección de baja densidad producida por *Plasmodium* spp. con microscopía convencional negativa, diagnosticada por una prueba de biología molecular¹⁵⁹. Se trata de una infección que frecuentemente afecta a individuos considerados semi-inmunes, que han vivido largo tiempo en zonas de alta endemia. Dicha inmunidad parcial se adquiere gradualmente con la edad y la exposición continua al *Plasmodium*. Estas personas presentan concentraciones de IgG frente a los antígenos de superficie de los eritrocitos infectados superiores a las que presentan las personas que llevan un periodo largo residiendo en áreas no endémicas, como es el caso de los inmigrantes. Se desconoce con exactitud la duración de esta protección, pero esta semi-inmunidad disminuye a medida que aumenta el tiempo de residencia en el país de acogida¹⁶⁰.

Desde el punto de vista clínico, la MSM suele cursar de forma asintomática^{161,162}. Sin embargo, una proporción no bien conocida de estas personas pueden desarrollar enfermedad clínicamente evidente con el paso del tiempo, aumentando esta probabilidad a medida que van perdiendo su semi-inmunidad. De forma infrecuente produce enfermedad aguda, en forma de astenia, fiebre y artromialgias asociados a alteraciones analíticas como citopenias, principalmente anemia en niños¹⁶³. Durante el embarazo, la MSM se ha relacionado con anemia y bajo peso al nacer¹⁶⁴. De esta forma, el cribado de la MSM en grupos de riesgo como embarazadas, niños e inmunodeprimidos podría ser, por tanto, de especial importancia¹⁶⁵. Además, se han descrito reactivaciones sintomáticas incluso años después de abandonar su país de origen¹⁶⁶.

En países endémicos, la prevalencia de la MSM oscila entre un 15-90%. Este hecho subestima la prevalencia del paludismo global, puesto que en la mayoría de los estudios se realiza el diagnóstico de malaria mediante microscopía, no detectando infecciones de tan baja densidad¹⁶⁷. Estudios recientes explican la gran variabilidad de la prevalencia entre distintas áreas, sugiriendo que la proporción de infecciones submicroscópicas aumenta con la edad y varía con la intensidad de la transmisión del área estudiada, siendo mayor en zonas de baja transmisión y representando gran parte del reservorio de la enfermedad¹⁶⁷.

La MSM juega un papel importante en la transmisión de la malaria en áreas endémicas¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. A este hecho se suma además la posibilidad de que los pacientes con MSM supongan un reservorio de cepas de *Plasmodium* con resistencia al tratamiento con derivados de las artemisininas¹⁷⁰. Es por ello que este grupo de pacientes juega un papel de creciente importancia en países endémicos con programas de eliminación de la malaria¹⁷⁰⁻¹⁷¹.

En áreas no endémicas como Europa, la MSM ha sido escasamente estudiada. Se desconoce su prevalencia exacta, pero puede llegar a representar un tercio de los casos importados¹⁷², aunque probablemente a cifra sea superior. Al tratarse de una infección que suele ser asintomática, muchos casos pasarán desapercibidos y no serán diagnosticados. Por otro lado, en países como España también puede suponer un reservorio para la posible reintroducción de la malaria. De hecho, en muchas zonas de nuestro país, una gran parte del año se dan las condiciones ambientales adecuadas y existe, como ya se ha señalado, un vector apropiado como el *Anopheles atroparvus*, capaz de transmitir cepas de *P. vivax*.

En relación con la presencia de coinfecciones, los helmintos son capaces de modular la respuesta inmune de sus huéspedes, lo que puede alterar la respuesta del sistema inmunitario frente a infecciones concomitantes como la producida por *Plasmodium* spp.¹⁷³⁻¹⁷⁶. De esta forma, la coinfección por filarias y malaria puede ejercer un efecto protector frente a la segunda, dando lugar a cargas parasitarias más bajas, como ocurre en la MSM¹⁷⁶. Algo parecido sucede con la presencia de hemoglobinopatías, que ejercen un efecto protector frente a la malaria, disminuyendo la gravedad de los cuadros sintomáticos y favoreciendo la existencia de la MSM¹⁷⁷.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Artículo 1. **Migration-associated malaria from Africa in southern Spain.**

- Hipótesis: El área sanitaria que atiende nuestro centro presenta una alta tasa de población inmigrante de origen subsahariano que en los últimos años ha provocado un incremento importante del número de casos de malaria importada.
- Objetivo: Describir las características epidemiológicas, clínicas y analíticas de los pacientes adultos con malaria, sin infección por el VIH, atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Poniente, prestando especial interés a las diferencias entre pacientes VFR y no VFR.

Artículo 2. **Submicroscopic malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain.**

- Hipótesis: La MSM puede constituir en países endémicos un reservorio para la enfermedad, suponiendo un problema para los programas de eliminación de la malaria. En zonas no endémicas, la MSM ha sido escasamente estudiada.
- Objetivo: Estudiar la prevalencia y características de la MSM mediante un programa de cribado en pacientes de origen subsahariano atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Poniente.

Artículo 3: **Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone.**

- Hipótesis: La OMS considera la TCA como tratamiento de primera línea para la malaria por *P. falciparum* no complicada. En regiones endémicas ha demostrado ser más eficaz en el tratamiento de la enfermedad e incluso, en la reducción de su transmisión. Sin embargo, son escasos los estudios realizados en áreas no endémicas en pacientes con malaria importada sin criterios de gravedad.
- Objetivo: Comparar el tiempo de aclaramiento de la parasitemia y la estancia media hospitalaria de los pacientes atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Poniente tratados con TCA frente a los que recibieron otras pautas de tratamiento.

3. RESULTADOS

3.1. Artículo 1: Migration-associated malaria from Africa in southern Spain.

Joaquín Pousibet-Puerto, Ana Belén Lozano-Serrano, Manuel Jesús Soriano-Pérez, José Vázquez-Villegas, María José Giménez-López, María Isabel Cabeza-Barrera, José Ángel Cuenca-Gómez, Matilde Palanca-Giménez, María Pilar Luzón-García, Nerea Castillo-Fernández, María Teresa Cabezas-Fernández y Joaquín Salas-Coronas.

Introducción: La zona del Poniente Almeriense presenta una de las tasas de población inmigrante más altas de España, dedicada principalmente a labores agrícolas. En los últimos años se ha producido un incremento importante del número de casos de malaria importada asociada a población procedente de países de África subsahariana.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo de los pacientes inmigrantes mayores de 14 años con malaria importada atendidos desde octubre de 2004 hasta mayo de 2019. Se compararon las características entre los pacientes VFR y no VFR o recién llegados. Los casos de malaria se dividieron a su vez en malaria microscópica (MM) y malaria submicroscópica (MSM).

Resultados: Se diagnosticaron 336 casos de malaria, 329 de ellos en inmigrantes subsaharianos. El 78,1% fueron viajeros VFR, en los que predominó la MM (82,5% de los casos). En los inmigrantes no VFR, la MSM representó el 72,2%. De forma global, 239 (72,6%) pacientes presentaron MM y 90 (27,4%) MSM. La manifestación clínica más frecuente fue la fiebre (64,4%), fundamentalmente en el grupo de MM frente MSM (81,1% vs 20,0%; $p < 0,01$). La especie más frecuente fue *P. falciparum* (92,1%). Los pacientes con MSM presentaron menos citopenias y mayor número de coinfecciones por geohelmintos, filarias y protozoos intestinales en comparación con los pacientes con MM.

Conclusiones: La inmigración subsahariana es la principal responsable de los casos de malaria importada ocurridos en nuestro medio. Los viajeros VFR son el principal grupo de riesgo, lo que hace necesario incrementar las actuaciones dirigidas a mejorar las medidas de prevención de la enfermedad. Por otro lado, casi a un tercio de los casos diagnosticados lo representa la MSM. Este hecho podría justificar su cribado sistemático, al menos en grupos de riesgo.

Parasit Vectors. 2021; 14(1): 240.

RESEARCH

Open Access

Migration-associated malaria from Africa in southern Spain



Joaquín Pousibet-Puerto¹, Ana Belén Lozano-Serrano¹, Manuel Jesús Soriano-Pérez¹, José Vázquez-Villegas², María José Giménez-López³, María Isabel Cabeza-Barrera¹, José Ángel Cuenca-Gómez¹, Matilde Palanca-Giménez¹, María Pilar Luzón-García¹, Nerea Castillo-Fernández¹, María Teresa Cabezas-Fernández¹ and Joaquín Salas-Coronas^{1,4*} 

Abstract

Background: The western area of the province of Almería, sited in southern Spain, has one of the highest immigrant population rates in Spain, mainly dedicated to agricultural work. In recent years, there has been a significant increase in the number of cases of imported malaria associated with migrants from countries belonging to sub-Saharan Africa. The objective of our study is to describe the epidemiological, clinical and analytical characteristics of malaria patients treated in a specialized tropical unit, paying special attention to the differences between VFR and non-VFR migrants and also to the peculiarities of microscopic malaria cases compared to submicroscopic ones.

Methods: Retrospective observational study of migrants over 14 years of age with imported malaria treated from October 2004 to May 2019. Characteristics of VFR and non-VFR migrants were compared. Malaria cases were divided into microscopic malaria (MM) and submicroscopic malaria (SMM). SMM was defined as the presence of a positive malaria PCR test together with a negative direct microscopic examination and a negative rapid diagnostic test (RDT). Microscopic malaria was defined as the presence of a positive RDT and/or a positive smear examination.

Results: Three hundred thirty-six cases of malaria were diagnosed, 329 in sub-Saharan immigrants. Of these, 78.1% were VFR migrants, in whom MM predominated (85.2% of cases). In non-VFR migrants, SMM represented 72.2% of the cases. Overall, 239 (72.6%) patients presented MM and 90 (27.4%) SMM. Fever was the most frequent clinical manifestation (64.4%), mainly in the MM group (MM: 81.1% vs SMM: 20.0%; $p < 0.01$). The most frequent species was *P. falciparum*. Patients with SMM presented fewer cytopenias and a greater number of coinfections due to soil-transmitted helminths, filarial and intestinal protozoa compared to patients with MM.

Conclusions: Imported malaria in our area is closely related to sub-Saharan migration. VFR migrants are the main risk group, highlighting the need for actions aimed at improving disease prevention measures. On the other hand, almost a third of the cases are due to SMM. This fact could justify its systematic screening, at least for those travelers at greater risk.

Keywords: Malaria, Immigrants, Sub-Saharan Africa, VFR migrants, *P. falciparum*, Submicroscopic malaria, Semi-immunity, Coinfections

Background

Malaria is still the parasitic disease with the highest morbimortality worldwide, although its incidence has decreased during the last decade. In 2018, the World Health Organization (WHO) declared a total of 228

*Correspondence: joaquin.salas@ephpo.es

¹Tropical Medicine Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

million of malaria cases globally with 93% of them occurring in sub-Saharan Africa [1]. In Europe, around 8000 cases of imported malaria are reported every year, the majority due to *P. falciparum* [2]. Around 90% of them come from sub-Saharan Africa and are mainly diagnosed in newly arrived migrants or in resident migrants traveling back to their home-countries to visit friends and relatives (VFR, visiting friends and relatives). In this last group of travelers, risk perception for malaria is low and preventive measures are usually not followed [3–6].

Although most of the cases reported in Europe are patients with microscopic malaria (MM), submicroscopic malaria (SMM) [7–9] is also present. SMM may reach a prevalence of near 9% in asymptomatic patients from endemic areas [7] even though figures are probably underestimated because of the absence of symptoms and the fact that molecular diagnosis is not routinely employed.

In Spain, a mean 700–800 cases of imported malaria are declared every year [10]. The Poniente area (province of Almería, Spain) is an administrative health area sited in southern Spain. Its population is close to 300,000 inhabitants, with an immigrant share of 21%, many of them coming from sub-Saharan countries to work in horticultural greenhouses [11]. Malaria is one of the most prevalent imported diseases in our area [7, 12], and the numbers have increased in recent years parallel to the growing migratory phenomenon.

Spain was granted the official WHO certification of malaria elimination in 1964 after the last case of autochthonous malaria was reported in 1961 [13]. Since then, malaria has been considered an imported disease, although a situation of anophelism without malaria persists. Three species of *Plasmodium* were endemic in Spain, *P. falciparum*, *P. malariae* and *P. vivax*, while there were no reports of the presence of *P. ovale*. The vectors of the disease belonged to the *Anopheles maculipennis* complex, the main ones being *An. atroparvus* and *An. labranchiae*, the latter with marked antropophilia. Although *An. atroparvus* is widely distributed in Spain, the presence of *An. labranchiae* in our country is not as evident nowadays. Nevertheless, it continues to be abundantly present in northern Morocco [14]; thus, its reintroduction, either naturally transported by the wind [15] or inadvertently transported inside vehicles, is possible and a definite risk to be considered. Two cases of autochthonous malaria due to vector transmission were reported in 2010 and 2014 [16, 17]. In both cases, *P. vivax* was the species involved.

The objective of our study is to describe the cases of imported malaria diagnosed in our area during the last 15 years. Demographical, clinical and analytical

characteristics are pinpointed paying special attention to the differences between VFR and non-VFR migrants.

Methods

A retrospective observational study was conducted using the data obtained from the registry of migrant patients assisted at the Tropical Medicine Unit (TMU) of the Poniente Hospital (El Ejido, Almería, Spain) from October 2004 to May 2019. All migrant patients > 14 years of age diagnosed with malaria during that period were included in the study.

Migrants were classified as VFR or non-VFR migrants. Spain-based migrants traveling to their homeland to visit friends and relatives were considered VFR, whereas those migrants traveling for the first time to Europe from malaria-endemic areas were considered non-VFR migrants.

Malaria diagnosis was made by means of rapid direct tests, direct microscopic tests and/or molecular tests. In all cases, the techniques were performed using peripheral venous blood samples extracted in 5-ml EDTA tubes.

A screening test for SMM malaria was offered to all travelers coming back from an endemic malaria area if they consulted within the first 12 months after the travel, no matter the reason they consulted for. A conventional Nested Multiplex Malaria PCR (NM-PCR) capable of identifying four human malaria species (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* and *P. malariae*) was used [18]. If this PCR test yielded a positive result, MM was then ruled out following the same scheme described for patent malaria suspicious cases (see below).

However, all those patients presenting with symptoms suggesting patent malaria, irrespective of the time elapsed after leaving a malaria-endemic area, were tested by immunochromatographic rapid diagnostic test (RDT, SD BiolineR malaria Ag Pf/Pan, Korea) and direct microscopic examination of thin smear. In these symptomatic cases, NM-PCR was only used when a mixed infection was suspected or when direct microscopy and RDT were negative but a high clinical suspicion persisted.

Therefore, the malaria cases included in our study comprised submicroscopic malaria (SMM) and of microscopic malaria (MM). SMM was defined as the presence of a positive malaria PCR test together with a negative direct microscopic examination and a negative RDT. Microscopic malaria was defined as the presence of a positive RDT and/or a positive smear examination. For cases of MM, the parasitemia level was classified into four categories: ≤ 1 , $> 1-2.5$, $> 2.5-4\%$ and $> 4\%$.

In addition, and following our healthcare protocol for migrants, all sub-Saharan patients attending our TMU are offered a comprehensive screening battery for imported diseases including chest and abdominal x-rays,

blood count, liver and renal function tests, iron metabolism, serological tests for syphilis, HIV, HBV, HCV, *Strongyloides* and *Schistosoma*, tuberculin test, and search for stool parasites, urine parasites, and blood microfilariae. Hemoglobinopathies are also ruled out by HPLC (high-performance liquid chromatography).

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17. A descriptive analysis of all patients included in the study was made. Quantitative variables were expressed as median and interquartile range. For qualitative variables, absolute and relative frequencies were calculated. Comparative analysis between VFR and non-VFR migrants and between MM and SMM cases were also made. Differences in continuous variables between groups were analyzed using Student's t-test or the Mann-Whitney U test, as appropriate. To compare categorical variables, we used the Fisher test or the chi-square test. A p -value < 0.05 was considered statistically significant for all of the tests.

Ethics approval

Anonymized data were collected retrospectively. This study was approved by the local Ethics Committee of the Coordinating Site (Almería, Spain) with the code MT-02-2020.

Results

During the study period, a total of 336 cases of imported malaria were found. Seven of them occurred in Spanish native patients and were excluded from the study. The rest, 329 cases, occurred in sub-Saharan migrants, the majority of them being VFR (78.1%) and male (90.9%). *P. falciparum* was the most frequently found plasmodium species (92.1%).

Demographics and general characteristics of the patients, as a whole and divided into VFR and non-VFR groups, are shown in Table 1. The main countries of origin were Mali (53.8%), Senegal (12.8%) and Equatorial Guinea (7.6%) (Fig. 1). Male gender predominated in both groups. The median time of residence in Spain for VFR migrants was 118 months.

Microscopic malaria was the most frequent form of malaria for VFR migrants (85.2%). Conversely, it represented only 27.8% of the malaria cases for non-VFR migrants, for whom submicroscopic malaria was predominant. When presenting as MM, most non-VFR migrants had low levels of parasitemia compared to less than half of the VFR migrants (87.5 vs 43% $p \leq 0.01$). Moreover, of the 39 patients with parasitemia $> 4\%$, all but one belonged to the VFR group.

The characteristics of imported malaria comparing MM against SMM are shown in Table 2. Of the 329 cases

of malaria, 239 (72.6%) were MM and 90 (27.4%) SMM. Most of the MM cases, 91.6%, occurred in VFR migrants while SMM cases were divided more evenly between VFR and non-VFR. Only 8.9% ($n = 23$) of VFR migrants reported taking malaria prophylaxis properly.

Globally, fever was the most frequent clinical sign, present in 81.1% of all MM cases but in only 20.0% of the SMM cases ($p \leq 0.01$). In this former group, abdominal pain was as frequent as fever. *Plasmodium falciparum* was the predominant species ($n = 303$; 92.1%), followed by *P. ovale* ($n = 10$, 3%) and *P. malariae* ($n = 9$, 2.7%). In seven cases, a mixed parasitization was found. Around one third of MM cases (32.2%) had a parasitemia lower than 1%.

Most of the cases of malaria included in our study were diagnosed within the first weeks or months after arriving from endemic areas. Only 13 patients were diagnosed after > 12 months after the trip, 9 of them with *P. falciparum*, 3 with *P. malariae* and 1 with *P. ovale*. Five of them presented with MM and eight with SMM. All five patients with MM reported symptoms (mainly fever) or showed laboratory abnormalities suggesting malaria. Among the eight patients presenting with SMM, five also had some findings compatible with malaria, either splenomegaly or cytopenias. The other three patients who were offered a PCR test for malaria beyond the 12 months limit were asymptomatic for malaria. In these three cases, malaria testing was ordered by the clinician in charge of the patients without following the usual protocol. As a matter of fact, most patients with a positive PCR screening in our study had arrived to Spain in the last 6 months or less (72.2% in the last month, 85.6% in the last 6 months).

Laboratory tests results are displayed in Table 3. Hemoglobin concentration, platelet and eosinophil counts were lower in patients with MM compared to patients with SMM, whereas bilirubin levels were higher. On the contrary, the distribution of hemoglobinopathies was similar between the groups.

Associated co-infections are described in Table 4. Briefly, the presence of geohelminths, filariae and intestinal protozoa was higher in the SMM group, probably related to the greater eosinophil counts found in this group. All patients were treated with quinine sulfate plus doxycycline, cloroquine plus primaquine, atovaquone-proguanil or dihydroartemisin-piperaquine according to the WHO guidelines in force at the time. Clinical evolution was favorable in every case, and there were no deaths in the series.

Figure 2 shows the temporal evolution of the African migrant population in the province of Almería, according to data from the Statistics National Institute, during the study period. The progressive increase of this population has been followed by an increasing proportion of

Table 1 Epidemiological, clinical and analytical characteristics of patients included in the study, grouped by type of traveler

	All N = 329	VFR 257 (78.1%)	Non VFR 72 (21.9%)	p value
Age (years)	33 (11)	35.17 (7.83)	29.96 (12.06)	< 0.001
Gender (%)				
Male	299 (90.9%)	240 (93.4%)	59 (81.9%)	0.003
Female	30 (9.1%)	17 (6.6%)	13 (18.1%)	
Time after leaving malaria-endemic areas (%)				
≤ 12 months	316 (96.0%)	253 (98.4%)	63 (87.5%)	0.011
> 12 months	13 (4.0%)	4 (1.6%)	9 (12.5%)	
Country of origin (%)				
Mali	177 (53.8%)	157 (61.1%)	20 (27.8%)	
Senegal	42 (12.8%)	31 (12.1%)	11 (15.3%)	
Equatorial Guinea	25 (7.6%)	11 (4.3%)	14 (19.4%)	
Ghana	24 (7.3%)	19 (7.4%)	5 (6.9%)	
Guinea Bissau	18 (5.5%)	12 (4.7%)	6 (8.3%)	
Burkina-Faso	12 (3.6%)	5 (1.9%)	7 (9.7%)	
Gambia	8 (2.4%)	6 (2.3%)	2 (2.8%)	
Guinea-Conakry	8 (2.4%)	6 (2.3%)	2 (2.8%)	
Nigeria	7 (2.1%)	5 (1.9%)	2 (2.8%)	
Ivory Coast	4 (1.2%)	2 (0.8%)	2 (0.8%)	
Mauritania	2 (0.6%)	2 (0.8%)	0 (0.0%)	
Cameroon	1 (0.3%)	1 (0.4%)	0 (0.0%)	
Togo	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (1.4%)	
Symptoms (%)				
Fever	212 (64.4%)	202 (78.6%)	10 (13.9%)	< 0.001
Diarrhea	9 (2.7%)	8 (3.1%)	1 (1.4%)	0.428
Abdominal pain	49 (14.9%)	33 (12.8%)	16 (22.2%)	0.048
Others/asymptomatic	34 (10.3%)	13 (5.1%)	21 (29.2%)	< 0.001
MM (%)	239 (72.6%)	219 (85.2%)	20 (27.8%)	< 0.001
SMM (%)	90 (27.4%)	38 (14.8%)	52 (72.2%)	
<i>Plasmodium</i> species (%)				
<i>P. falciparum</i>	303 (92.1%)	245 (95.3%)	58 (80.6%)	< 0.001
<i>P. ovale</i>	10 (3.0%)	3 (1.2%)	7 (9.7%)	
<i>P. malariae</i>	9 (2.7%)	4 (1.6%)	5 (6.9%)	
Mixed infections:	7 (2.1%)	5 (1.9%)	2 (2.8%)	
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	3	2	1	
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	3	2	1	
<i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>	1	1		
Parasitemia (%)				
< 1	106 (44.3%)	92 (43%)	14 (87.5%)	< 0.001
1–2.5	65 (27.2%)	64 (29.9%)	1 (6.3%)	
2.5–4	20 (8.4%)	20 (9.3%)	0 (0%)	
> 4	39 (16.3%)	38 (17.8%)	1 (6.3%)	
Not available	9 (3.8%)			

MM microscopic malaria. SMM submicroscopic malaria. VFR Visiting friends and relatives. Quantitative variables: values are median (interquartile range, IQR). Qualitative variables: values are number (percentage), N (%)

VFR migrants attending our unit as given in Fig. 3, which shows a continuous increment in the number of malaria cases per year. The majority of cases were concentrated

in the last months of the year (Fig. 4), the time when VFR migrants traveled back to Spain after spending the holidays in their home countries.

Table 2 Epidemiological, clinical and analytical characteristics of patients included in the study, grouped by type of malaria

	MM 239 (72.6%)	SMM 90 (27.4%)	p value
Age (years)	34 (10)	31 (14)	≤ 0.01
Time after leaving malaria-endemic areas (%)			
≤ 12 months	234 (97.9%)	82 (91.1%)	≤ 0.01
> 12 months	5 (2.1%)	8 (8.9%)	
Gender (%)			
Male	222 (92.9%)	77 (85.6%)	0.04
Female	17 (7.1%)	13 (14.4%)	
Type of traveler			
VFR	219 (91.6%)	38 (42.2%)	≤ 0.01
Non-VFR	20 (8.4%)	52 (57.8%)	≤ 0.01
Symptoms (%)			
Fever	194 (81.1%)	18 (20.0%)	≤ 0.01
Diarrhea	9 (3.8%)	0 (0.0%)	0.12
Abdominal pain	31 (13.0%)	18 (20.0%)	0.11
Others/asymptomatic	5 (2.1%)	29 (32.2%)	≤ 0.01
<i>Plasmodium</i> species (%)			
<i>P. falciparum</i>	229 (95.8%)	74 (82.2%)	≤ 0.01
<i>P. ovale</i>	4 (1.7%)	6 (6.7%)	
<i>P. malariae</i>	1 (0.4%)	8 (8.9%)	
Mixed infections	5 (2.1%)	2 (2.2%)	
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	1	2	
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	3		
<i>P. malariae</i> + <i>P. ovale</i>	1		
Malaria chemoprophylaxis in VFR travelers (%)			
No	135 (61.6%)	21 (55.3%)	0.67
Yes	15 (6.8%)	8 (21.0%)	
Inadequate or suboptimal	22 (10.0%)	2 (5.3%)	
Unknown	47 (21.5%)	7 (18.4%)	

Quantitative variables: values are median (interquartile range, IQR). Qualitative variables: values are number (percentage), N (%). MM microscopic malaria, SMM submicroscopic malaria, VFR visiting friends and relatives

Discussion

Our study explores the imported malaria cases occurring during the last 15 years in our area of influence, a setting with high migration rates from sub-Saharan Africa. The results show a progressive increment of malaria cases parallel to the growing migration phenomenon. Imported malaria cases are mostly due to sub-Saharan migrants coming to our area looking for a jobs in the agricultural industry, which flourishes under the greenhouses. Most of the cases are related to VFR migrants rather than to newly arrived migrants (non-VFR).

VFR migrants represent up to 50% of international travelers coming from developed countries [19]. They

Table 3 Laboratory tests results for all patients included in the study, grouped by type of malaria

	ALL N = 329	MM 239 (72.6%)	SMM 90 (27.4%)	p value
Hb (g/dl)	13.6 (2.2)	13.3 (2.0)	14.3 (2.8)	≤ 0.01
Platelets × 10 ³ /μl	114 (130)	90 (86)	216 (95)	≤ 0.01
Total bilirubin (mg/dl)	1.1 (1.1)	1.3 (1.4)	0.7 (0.6)	≤ 0.01
Structural hemoglobinopathies				
No	237 (72.0%)	175 (76.7%)	62 (70.4%)	0.25
Yes	79 (24.0%)	53 (22.2%)	26 (29.5%)	
Not available	13 (3.9%)			

Quantitative variables: Median (interquartile range, IQR); qualitative variables: values are number (percentage), N (%)

MM microscopic malaria, SMM submicroscopic malaria, HB Hemoglobin

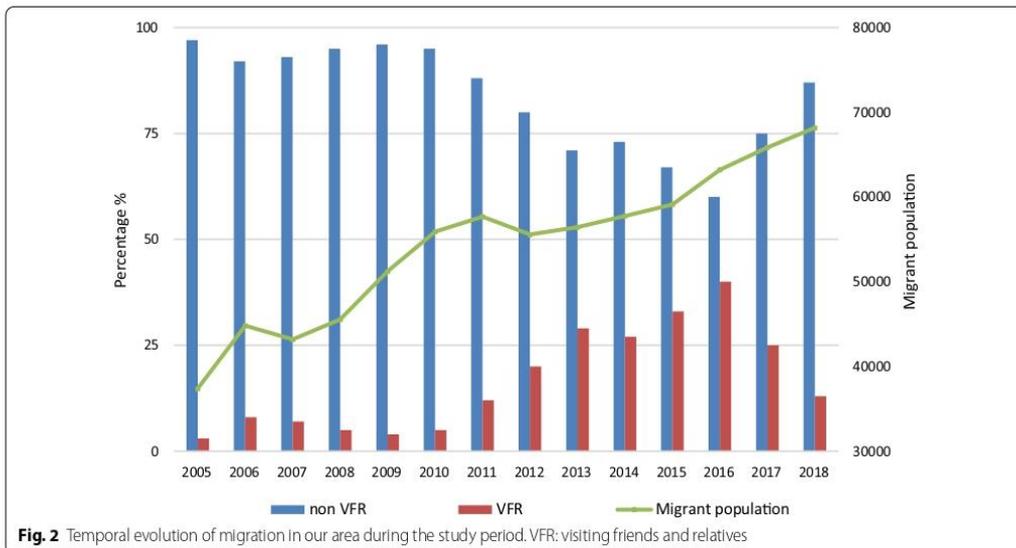
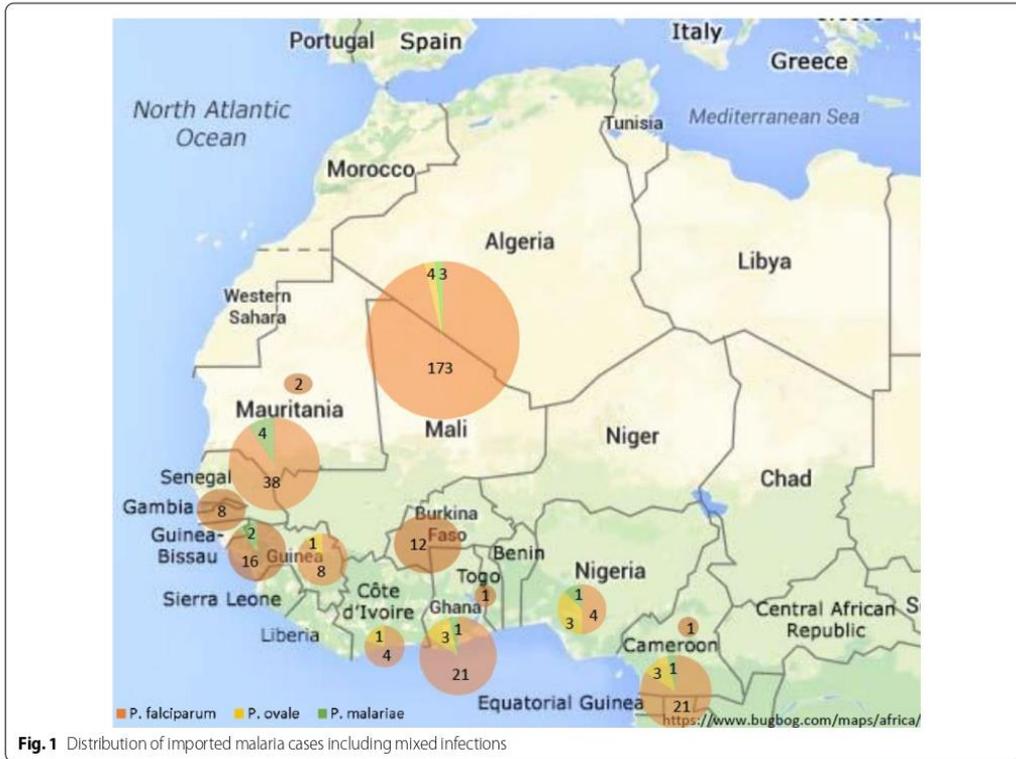
Table 4 Co-infections found in the patients included in the study, grouped by type of malaria

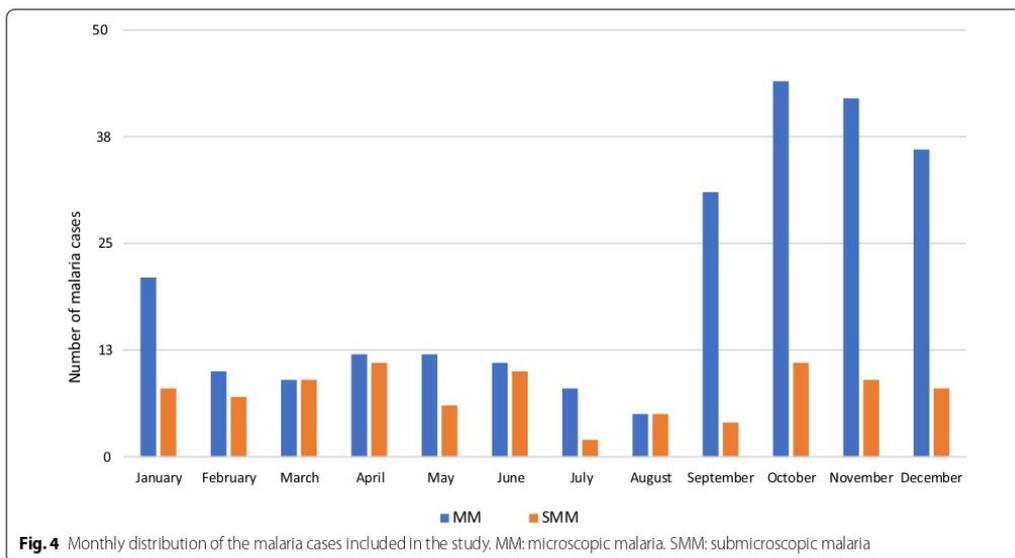
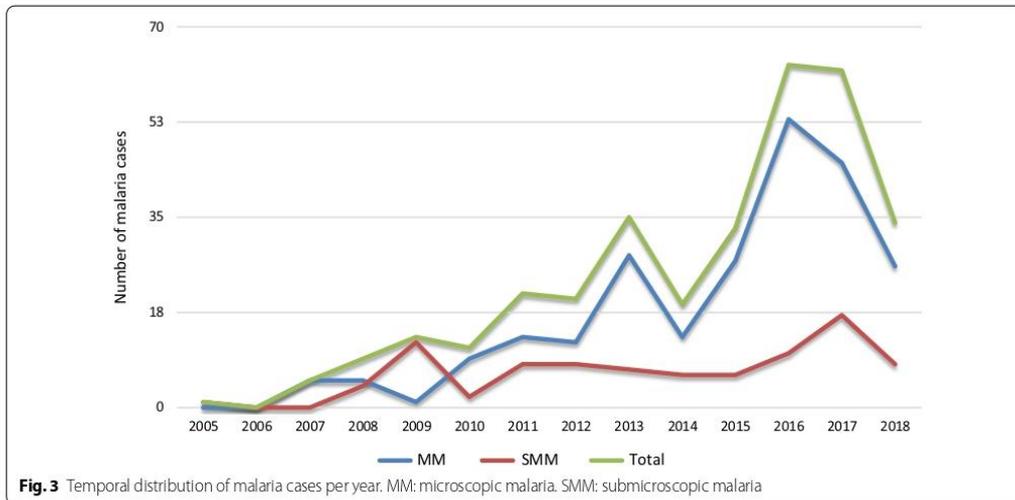
Co-infection N (%)	ALL N = 329	MM 239 (72.6%)	SMM 90 (27.4%)	p value
<i>Blastocystis hominis</i>	40 (12.1%)	20 (8.4%)	20 (22.2%)	≤ 0.01
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	15 (4.5%)	6 (2.5%)	9 (10.0%)	≤ 0.05
<i>Giardia lamblia</i>	7 (2.1%)	5 (2.1%)	2 (2.2%)	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	31 (9.4%)	16 (6.7%)	15 (16.7%)	≤ 0.05
Hookworms	10 (3.0%)	3 (1.3%)	7 (7.8%)	≤ 0.01
<i>Trichuris trichiura</i>	2 (0.6%)	1 (0.4%)	1 (1.1%)	0.54
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3 (0.9%)	1 (0.4%)	2 (2.2%)	0.25
<i>Hymenolepis nana</i>	3 (0.9%)	0 (0.0%)	3 (3.3%)	≤ 0.05
Schistosomiasis*	22 (6.7%)	14 (5.9%)	8 (8.9%)	0.629
<i>S. haematobium</i>	6 (1.8%)	3 (1.3%)	3 (3.3%)	0.37
<i>S. mansoni</i>	6 (1.8%)	3 (1.3%)	3 (3.3%)	0.39
<i>S. intercalatum</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	1 (1.1%)	0.32
<i>Schistosoma</i> spp.	5 (1.5%)	4 (1.7%)	1 (1.1%)	0.3
Filariae	14 (4.2%)	4 (1.7%)	10 (11.1%)	≤ 0.01
<i>Mansonella perstans</i>	13 (3.9%)	2 (0.8%)	9 (10.0%)	≤ 0.01
<i>Loa loa</i>	3 (0.9%)	0 (0.0%)	3 (3.3%)	≤ 0.05
Syphilis	23 (7.0%)	11 (4.6%)	12 (13.3%)	≤ 0.01
HBV	49 (14.9%)	24 (10.0%)	25 (27.8%)	≤ 0.01
HCV	2 (0.6%)	1 (0.4%)	1 (1.1%)	0.39
HIV	10 (3.0%)	9 (3.8%)	1 (1.1%)	0.29

Quantitative variables: values are number (percentage), N (%). * Probable schistosomiasis was diagnosed in four patients based on clinical, analytical and imaging tests although no schistosome was found

MM microscopic malaria, SMM submicroscopic malaria, HBV hepatitis B virus, HCV hepatitis C virus, HIV human immunodeficiency virus

are a population with a special risk of acquiring infectious diseases during the trip. Compared to other travelers, such as tourists, they have a higher risk of contracting malaria, hepatitis A and B, sexually transmitted infections and intestinal parasites [6]. GeoSentinel





places sub-Saharan Africa as the main area for acquiring malaria (83% of cases) and the subgroup of VFR migrants as the group of travelers with the highest risk (53% of total cases) [6]. In Spain, data from +REDIVI, a cooperative network for the study of diseases imported by immigrants and travelers, show that VFR accounts for 58% of malaria cases and that > 95% are acquired in sub-Saharan

Africa [20]. In our study, the percentage of VFR is 78% considering only the migrant population, and, including all kind of travelers (expatriates, tourists, etc.), it represents 76% of total imported malaria cases. Accordingly, most of the cases are diagnosed after the summer holidays, when migrants return from visiting their home countries to get back to work.

Other aspects observed in our study in relation to VFR migrants is that MM was the predominating form of malaria and that *P. falciparum* was the species most frequently found. These data correspond with those previously reported in Europe [4–8, 10, 12, 19–21]. In the +REDIVI study, *P. falciparum* was also the most frequent species (81.5% of all cases; 86% in the VFR subgroup) [20].

Although > 15% of the cases in the VFR group had parasitemia > 4%, a well-known severity criterion, no deaths occurred. This is probably due to several reasons: (i) VFR migrants retain a certain degree of semi-immunity despite having left malaria-endemic regions long ago; (ii) health staff working at the Emergency Room or at Primary Care in our area are well trained in recognizing malaria symptoms so diagnosis is not delayed or missed; (iii) the availability of the entire therapeutic arsenal needed to quickly care for malaria patients in our center.

The profile of malaria cases in non-VFR migrants is different, with SMM being the predominant form of malaria. Diagnosis of SMM is largely due to the systematic screening applied in our unit to those patients that have visited or left from a malaria-endemic area in the last 12 months [7]. Limitation of SMM screening to such time interval is due to the poorer performance of the screening strategy beyond that limit. In our experience (unpublished data), out of 213 asymptomatic migrants screened for malaria using a PCR test after having left malaria-endemic areas > 12 months ago, only 3 (1.4%) yielded a positive result. In our study, 13 patients were diagnosed 12 months or more after leaving malaria-endemic areas, the majority of them being due to *P. falciparum* and presenting as SMM. The exact mechanism allowing the persistence of the parasite for months, or even years, without causing clinically overt disease is not entirely well known, though several strategies aimed to evade the immune response have been described [22].

As we have observed in this study, SMM tends to be asymptomatic and presents fewer cytopenias than MM [8, 23, 24], although symptomatic reactivations may be possible several years after leaving malaria-endemic areas [22].

In endemic areas where the infection rate is low or unstable, SMM plays an important role in the transmission of malaria and poses a problem for its eradication [25]. In non-endemic areas, these SMM asymptomatic infections can act as a source for the reintroduction of malaria. Their exact prevalence is unknown, but they may account for one third of imported malaria cases in Europe [7, 8]. In Spain, *Anopheles atroparvus* mosquitoes can transmit *P. vivax* strains [26], and, indeed, two cases of locally acquired *P. vivax* malaria have been reported in recent years, as previously mentioned [16, 17]. Moreover,

due to the proximity to Morocco, where *An. labranchiae* is present [14], the risk of *P. falciparum* malaria is also a threat.

SMM usually affects individuals considered semi-immune who have lived for a long time in highly endemic areas. This partial immunity is gradually acquired by prolonged exposure to *Plasmodium* spp. as individuals grow older. Once out of endemic regions, the exact duration of this protection against malaria is unknown, but semi-immunity decreases as time living in the host country increases [9, 19, 21, 27]. Studies in non-endemic countries comparing travelers with different degrees of previous exposure to the malaria parasite are scarce, but a greater protection against severe forms has been observed in VFR migrants compared to European travelers [8, 28, 29]. For these reasons, and although we can consider that all the patients included in our study have some degree of semi-immunity, this protection may be weaker in the case of VFR migrants. This fact could explain the higher proportion of MM diagnosed in this group as well as the higher parasite loads compared to non-VFR migrants, who have been living out of malaria-endemic areas for < 1 year in many cases.

Given that in our present study > 25% of the patients presented SMM, and although cost-effectiveness studies are lacking, universal malaria screening strategies by means of molecular tests could be considered for asymptomatic migrants coming from endemic regions [7, 8, 30, 31]. This screening might be especially recommended for vulnerable travelers such as pregnant women and immunosuppressed individuals, who are more prone to suffer serious consequences from an undiagnosed SMM.

In the analysis of co-infections, the higher proportion of soil-transmitted helminths and filariae in the group of travelers with SMM is worth mentioning. This fact could partly explain the higher levels of eosinophils in the former compared to the MM group. In tropical and subtropical regions, especially in sub-Saharan Africa, polyparasitism is highly prevalent. Nematodes are able to attenuate the response of inflammatory molecules such as cytokines or interleukins of their hosts to survive for long periods. However, this immunomodulatory effect can also modify the response to concomitant intracellular infections such as tuberculosis or malaria [32–35]. In particular, filarial coinfection appears to exert some protection against severe malaria by modulating certain interleukins and IFN- γ [36, 37]. This protective effect can lead to lower parasite loads as in SMM, fewer cytopenias and fewer complications associated with malaria [37, 38]. In non-endemic areas, a higher proportion of filarial co-infections has also been observed in patients with SMM compared to MM patients [7, 8]. Prospective studies in endemic and

non-endemic areas are needed to verify this hypothesis. In the meantime, ruling out SMM could be recommended for migrants presenting with filarial infections, although these patients are probably less likely to develop serious symptomatic malaria.

The limitations of our study are mainly due to its design, that is, a retrospective study carried out in a single center. The lack of data concerning the prevalence of malaria in all sub-Saharan migrant patients attending our unit, irrespective of time after arriving in Spain and of symptomatology, is another limitation. However, in areas with large migrant populations, systematic malaria screening is expensive and is not recommended by scientific societies or international organisms. Finally, the strength of our study is that it was conducted within a specialized reference unit, allowing us to better characterize sub-Saharan immigrants diagnosed with imported malaria and to describe all associated infections.

Conclusions

The vast majority of malaria cases in our area occur in sub-Saharan immigrants, mostly in VFR migrants who permanently reside in Spain and travel back and forth to their homeland for holidays and so on. The rise in the number of cases parallels the increase in the number of immigrants living in our area. Even though many of them have been living in Spain for a long time, < 10% report following proper malaria prophylaxis. It is a priority for health care professionals to know the peculiarities of this group of travelers, particularly the barriers to following malaria prevention measures, including malaria prevention knowledge, adherence to chemoprophylaxis, use of mosquito bite avoidance measures, and different attitudes and practices during their trips that may pose a risk to their health.

Microscopic malaria was the predominant form of malaria and fever the most frequent symptom. Nevertheless, as SMM represents almost a third of the malaria cases in our study, systematic screening might be considered, at least for more vulnerable travelers. SMM occurs in a higher proportion in non-VFR migrants, who suffer more frequently from coinfections by soil-transmitted helminths and filariae. The modulation that these pathogens exert on the immune response against malaria may play a certain protective role.

Acknowledgements

We thank María del Carmen Olvera Porcel, technician in Research Methodology and Biostatistics from FIBAO, for providing invaluable support during the statistical analysis of the data.

Authors' contributions

JPP participated in the analytical design, interpretation, writing the draft of the manuscript and revisions. ABL participated in writing the draft of the

manuscript and revisions. MJSP, JW, MJGL, MICB, JACG, MPG, MPLG and NCF contributed to the data collection and revising the manuscript. MTCF contributed to the design, writing and revising the manuscript. JSC contributed to the conception and design of the project, analytical design, interpretation, writing the draft of the manuscript and revisions. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This study has been conducted within the activities developed by the research group PAIDI CTS 582 of the regional Ministry of Gender, Health and Social Policy of the Government of Andalusia, RICET (Cooperative Research Network on Tropical Diseases, co-financing FEDER, RD16/0027/0013) and CEMyRI (Center for the Study of Migration and Intercultural Relations) of the University of Almería (Spain). This work was supported by project RD16/0027/0013.

Availability of data and materials

The datasets analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

Please see materials and methods.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that there are no competing interests.

Author details

¹Tropical Medicine Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain. ²Tropical Medicine Unit, Distrito Poniente, Almería, Spain. ³Hematology Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain. ⁴CEMyRI (Center for the Study of Migration and Intercultural Relations) of the University of Almería, Almería, Spain.

Received: 29 January 2021 Accepted: 16 April 2021

Published online: 07 May 2021

References

- World Health Organization. World malaria report 2019. World Health Organization; 2019. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330011>. Accessed 9 Sep 2020.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Malaria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; 2020.
- Walz EJ, Volkman HR, Adedimeji AA, Abella J, Scott LA, Angelo KM, et al. Barriers to malaria prevention in US-based travellers visiting friends and relatives abroad: a qualitative study of West African immigrant travellers. *J Travel Med*. 2019. <https://doi.org/10.1093/jtm/tay163>.
- Dominguez García M, Feja Solana C, Vergara Ugarriza A, Bartolomé Moreno C, Melús Palazón E, Magallón BR. Imported malaria cases: the connection with the European ex-colonies. *Malar J*. 2019;18:397.
- Kendjo E, Houzé S, Mouri O, Taieb A, Gay F, Jauréguiberry S, et al. Epidemiologic trends in malaria incidence among travelers returning to metropolitan France, 1996–2016. *JAMA Netw Open*. 2019;2:e191691.
- Angelo KM, Libman M, Gaumes E, Hamer DH, Kain KC, Leder K, et al. Malaria after international travel: a GeoSentinel analysis, 2003–2016. *Malar J*. 2017;16:293.
- Pousibet-Puerto J, Cabezas-Fernández MT, Lozano-Serrano AB, Vázquez-Villegas J, Soriano-Pérez MJ, Cabeza-Barrera I, et al. Submicroscopic malaria in migrants from Sub-Saharan Africa. *Spain Emerg Infect Dis*. 2019;25:349–52.
- Ramírez-Olivencia G, Rubio JM, Rivas P, Subirats M, Herrero MD, Lago M, et al. Imported submicroscopic malaria in Madrid. *Malar J*. 2012;11:324.
- Goteris L, Bocanegra C, Serre-Delcor N, Moure Z, Treviño B, Zarzuela F, et al. Screening of parasitic diseases in the asymptomatic immigrant population. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(Suppl 3):25–31.

10. Fernández-Martínez B, Gómez-Barroso D, Díaz-García O, Cano-Portero R. Situation of malaria in Spain. Evolution base on type of notification to the national surveillance network and summary of surveillance result from 2014 to 2017. *revista.sci.ii.es/index.php/bes/article/view/1073/1328*.
11. Padrón municipal. Datos provisionales 1 Enero 2018. WWW. INE. es. Accessed 9 Sept 2020.
12. Salas-Coronas J, Cabezas-Fernández MT, Lozano-Serrano AB, Soriano-Pérez MJ, Vázquez-Villegas J, Cuenca-Gómez JA. Newly arrived African migrants to Spain: epidemiology and burden of disease. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98:319–25.
13. Bueno Mari R, Jiménez Peydró R [Malaria in Spain: entomological aspects and future outlook]. *Rev Esp Salud Publica*. 2008;82:467–79.
14. Trari B, Dakki M, Harbach RE. An updated checklist of the Culicidae (Diptera) of Morocco, with notes on species of historical and current medical importance. *J Vector Ecol*. 2017;42:94–104.
15. Huestis DL, Dao A, Diallo M, Sanogo ZL, Samake D, Yaro AS, et al. Windborne long-distance migration of malaria mosquitoes in the Sahel. *Nature*. 2019;574:404–8.
16. Santa-Olalla P, Vázquez-Torres MC, Latorre-Fandos E, Mairal-Claver P, Cortina-Solano P, Puy-Azón A, et al. First autochthonous malaria case due to *P. vivax* since eradication, Spain, October 2010. *Euro Surveill*. 2010;15:19684.
17. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual. 2014. Instituto de Salud Carlos III. <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&d=14/10/2016-3a996e69f2>. Access: 05 Mar 2021.
18. Rubio JM, Post RJ, van Leeuwen WM, Henry MC, Lindergard G, Hommel M. Alternative polymerase chain reaction method to identify *Plasmodium* species in human blood samples: the semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR). *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96(Suppl 1):S199–204.
19. Pavli A, Maltezou HC. Malaria and travellers visiting friends and relatives. *Travel Med Infect Dis*. 2010;8:161–8.
20. Norman FF, López-Polín A, Salvador F, Treviño B, Calabuig E, Torrés D, et al. Imported malaria in Spain (2009–2016): results from the +REDMI Col-laborative Network. *Malar J*. 2017;16:407.
21. Mischlinger J, Rönnberg C, Álvarez-Martínez MJ, Bühler S, Paul M, Schlagenhaut P, et al. Imported malaria in countries where malaria is not endemic: a comparison of semi-immune and nonimmune travelers. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33:e00104–e119.
22. Salas-Coronas J, Soriano-Pérez MJ, Lozano-Serrano AB, Pérez-Moyano R, Porrino-Herrera C, Cabezas-Fernández MT. Symptomatic falciparum malaria after living in a nonendemic area for 10 years: recrudescence or indigenous transmission? *Am J Trop Med Hyg*. 2017;96:1427–9.
23. Doolan DL, Dobaño C, Baird JK. Acquired immunity to malaria. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:13–36.
24. De Mast Q, Brouwers J, Syafruddin D, Bousema T, Baidjoe AY, de Groot PG, et al. Is asymptomatic malaria really asymptomatic? Hematological, vascular and inflammatory effects of asymptomatic malaria parasitemia. *J Infect*. 2015;71:587–96.
25. Okell LC, Ghani AC, Lyons E, Drakeley CJ. Submicroscopic infection in *Plasmodium falciparum*-endemic populations: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2009;200:1509–17.
26. Babiker HA, Schneider P, Reece SE. Gametocytes: insights gained during a decade of molecular monitoring. *Trends Parasitol*. 2008;24:525–30.
27. Pistone T, Diallo A, Mechain M, Receveur MC, Malvy D. Epidemiology of imported malaria give support to the hypothesis of 'long-term' semi-immunity to malaria in sub-Saharan African migrants living in France. *Travel Med Infect Dis*. 2014;12:48–53.
28. Hermsen CC, Telgt DS, Linders EH, van de Locht LA, Eling WM, Mensink EJ, et al. Detection of *Plasmodium falciparum* malaria parasites in vivo by real-time quantitative PCR. *Mol Biochem Parasitol*. 2001;118:247–51.
29. Yman V, White MT, Asghar M, Sundling C, Sondén K, Draper SJ, et al. Antibody responses to merozoite antigens after natural *Plasmodium falciparum* infection: kinetics and longevity in absence of re-exposure. *BMC Med*. 2019;17:22.
30. Monge-Maillo B, Norman F, Pérez-Molina JA, Díaz-Menéndez M, Rubio JM, López-Vélez R. *Plasmodium falciparum* in asymptomatic immigrants from sub-Saharan Africa, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:356–7.
31. Matisz CE, Naidu P, Shokoples SE, Grice D, Krinke V, Brown SZ, et al. Post-arrival screening for malaria in asymptomatic refugees using real-time PCR. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84:161–5.
32. Donohue RE, Cross ZK, Michael E. The extent, nature, and pathogenic consequences of helminth polyparasitism in humans: a meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13:e0007455.
33. Hillier SD, Booth M, Muhangi L, Nkurunziza P, Kihembo M, Kakande M, et al. *Plasmodium falciparum* and helminth coinfection in a semi urban population of pregnant women in Uganda. *J Infect Dis*. 2008;198:920–7.
34. Kathamuthu GR, Munisankar S, Sridhar R, Baskaran D, Babu S. Helminth mediated modulation of the systemic and mycobacterial antigen—stimulated cytokine profiles in extra-pulmonary tuberculosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13:e0007265.
35. Adegnika AA, Krensmeyer PG. Epidemiology of malaria and helminth interaction: a review from 2001 to 2011. *Curr Opin HIV AIDS*. 2012;7:221–4.
36. Metenou S, Kovacs M, Dembele B, Coulibaly YI, Klion AD, Nutman TB. Interferon regulatory factor modulation underlies the bystander suppression of malaria antigen-driven IL-12 and IFN- γ in filaria-malaria co-infection. *Eur J Immunol*. 2012;42:641–50.
37. Specht S, Ruiz DF, Dubben B, Deininger S, Hoerauf A. Filaria-induced IL-10 suppresses murine cerebral malaria. *Microbes Infect*. 2010;12:635–42.
38. Dolo H, Coulibaly YI, Dembele B, Konate S, Coulibaly SY, Dombia SS, et al. Filariasis attenuates anemia and proinflammatory responses associated with clinical malaria: a matched prospective study in children and young adults. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6:e1890.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



3.2. Artículo 2: Submicroscopic malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain.

Joaquín Pousibet-Puerto, M^a Teresa Cabezas-Fernández, Ana B. Lozano-Serrano, José Vázquez-Villegas, Manuel J. Soriano-Pérez, Isabel Cabeza-Barrera, José A. Cuenca-Gómez y Joaquín Salas-Coronas.

Introducción: La MSM se define como una infección de baja densidad de *Plasmodium* spp. con microscopía convencional negativa diagnosticada por una prueba de biología molecular. Esta entidad es casi exclusiva de pacientes residentes o procedentes de regiones endémicas considerados semi-inmunes y suele cursar de forma asintomática.

Material y métodos: Presentamos los resultados de un programa de cribado de MSM en pacientes de origen subsahariano atendidos durante el periodo 2004-2016 en una unidad de referencia de enfermedades importadas. El diagnóstico se realizó mediante PCR. Se incluyeron los inmigrantes sin malaria clínica con estancia en Europa inferior a un año y viajeros VFR con última visita a su país también en el último año.

Resultados: Se incluyeron un total de 370 pacientes. 33 (8,9%) fueron diagnosticados de MSM. La prevalencia fue similar en ambos grupos, 8,7% (11/126) para VFR y 9,0% (22/244) en el grupo de inmigrantes recién llegados. *P. falciparum* fue la especie más frecuentemente diagnosticada (26 casos, 78,8%). Los pacientes con y sin MSM no difirieron en los datos de laboratorio basales, excepto por la presencia de hemoglobinopatías, que se presentó con mayor frecuencia entre los pacientes con MSM (42,4 % vs. 21,3 %; p=0,01). La coinfección por filarias fue más frecuente en los pacientes con MSM (24,2% vs 5,3%, P<0,01). El análisis de regresión multivariable mostró que tener una infección por filarias aumentaba las probabilidades de tener MSM

en 6,49 (OR) y que la existencia de ≥ 1 hemoglobinopatías aumentaba las probabilidades en 3,93 (OR). El tiempo desde que los pacientes abandonaron las áreas endémicas también se asoció de forma inversa a mayor riesgo de presentar MSM ($p=0,038$).

Conclusiones: El 8,9% de los pacientes subsaharianos con estancia en áreas endémicas de malaria en el último año, cribados en una unidad de referencia, fueron diagnosticados de MSM. La presencia de infección por filarias o hemoglobinopatías y un tiempo más corto desde que abandonaron las áreas endémicas de malaria se asociaron con un mayor riesgo de MSM. La prevalencia relativamente alta de MSM importada que encontramos podría justificar la implementación de un cribado sistemático en inmigrantes y viajeros con estancia reciente en áreas endémicas de malaria, especialmente indicado en personas con condiciones de riesgo como inmunosupresión y mujeres embarazadas.

Emerg Infect Dis. 2019;25(2):349-352.

Submicroscopic Malaria in Migrants from Sub-Saharan Africa, Spain

Joaquín Pousibet-Puerto,
M^a Teresa Cabezas-Fernández,

Ana B. Lozano-Serrano, José Vázquez-Villegas,
Manuel J. Soriano-Pérez, Isabel Cabeza-Barrera,
José A. Cuenca-Gómez, Joaquín Salas-Coronas

In a screening program, we detected submicroscopic malaria in 8.9% of recent migrants to Spain from sub-Saharan Africa. Hemoglobinopathies and filarial infection occurred more frequently in newly arrived migrants with submicroscopic malaria than in those without. Our findings could justify systematic screening in immigrants and recent travelers from malaria-endemic areas.

Submicroscopic malaria (SMM) is defined as low-density *Plasmodium* infection detected only by molecular methods (1). SMM only occasionally causes acute disease but can infect mosquitoes and contribute to transmission (2).

In malaria-endemic countries, SMM prevalence varies widely. It is highest in areas of low transmission, where SMM represents a large proportion of the malaria reservoir (2). In regions to which malaria is not endemic, such as Europe, SMM prevalence is unknown but might account for up to one third of imported malaria cases (3). In areas such as Spain, *Anopheles atroparvus* mosquitoes can transmit strains of *P. vivax* (4), and SMM patients can be a reservoir for malaria reintroduction. We explored the frequency of imported SMM by PCR testing of a selected population of migrants to Spain from sub-Saharan Africa and describe the epidemiologic characteristics and main laboratory findings for SMM patients.

The Study

We conducted a retrospective observational study based on data obtained after the application of an SMM screening protocol in immigrant patients of sub-Saharan Africa origin seen at the Tropical Medicine Unit of the Poniente Hospital (El Ejido, Almería, Spain) during October 2004–December 2016. This hospital's protocol comprised a series of complementary tests to screen for imported diseases, including chest and abdominal radiographs; blood count; liver and renal function tests; iron metabolism tests; serologic screening for syphilis, HIV, hepatitis B virus,

hepatitis C virus, *Strongyloides*, and *Schistosoma*; and screening for fecal parasites, urine parasites, and blood microfilariae. Finally, the hospital tested for hemoglobinopathies using high-performance liquid chromatography.

The study population comprised patients who had lived in Europe for <1 year (newly arrived migrants [NAM]) or who had visited their home country (i.e., visiting friends and relatives [VFR]) within the previous year who sought care for any reason other than patent malaria and were screened for SMM using the conventional nested multiplex malaria PCR. The nested multiplex malaria PCR can identify 4 human malaria species (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, and *P. malariae*) in 2 consecutive multiplexing amplifications. The first reaction amplifies *Plasmodium* DNA from blood samples. The second reaction enables identification of the infecting species of *Plasmodium* (5). SMM was diagnosed when a patient had a positive malaria PCR result and a negative direct microscopic examination result, either a thin or a thick smear, and a negative rapid diagnostic test (SD. BIOLINE Malaria Ag P.f/Pan test, Abbott, <https://www.alere.com>). We excluded from the study patients <14 years of age and patients for whom no smear and/or rapid diagnostic test for malaria was available. All SMM patients were treated according to World Health Organization guidelines (6).

We conducted 3 statistical analyses. First, we compared SMM patients with non-SMM patients. Then, within the SMM patient group, we compared those with and without filarial co-infection. We conducted a descriptive statistical analysis in which continuous variables were expressed as medians and interquartile ranges. Categorical variables were described as frequencies and percentages. We analyzed differences in continuous data between groups using nonparametric Mann-Whitney U test and used the Fisher exact test or χ^2 test, as appropriate, to compare categorical data. Finally, we conducted an explanatory multivariate logistic regression analysis to evaluate possible risk factors predicting SMM in the study population. The model used variables with $p < 0.2$ in the bivariate analysis and those that were clinically relevant. Variables were excluded from the logistic regression model based on likelihood ratio test results (7). Hosmer-Lemeshow test and the area under the receiver operating characteristic curve were used to validate the model. We conducted statistical analyses using STATA software version 12 (<https://www.stata.com>).

Author affiliation: Hospital de Poniente, El Ejido, Spain

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2502.180717>

Of 2,719 sub-Saharan Africa patients seen, 370 (13.6%) were included in the study (Table 1, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/25/2/18-0717-T1.htm>). SMM was diagnosed in 33 (8.9%) patients, of whom 11 were VFRs and 22 were NAMs. The proportion of SMM was similar in both groups: 8.7% (11/126) for VFRs and 9.0% (22/244) for NAMs ($p = 0.93$). For SMM patients, time spent in Spain after leaving malaria-endemic areas was shorter for VFRs (2 months) than for NAMs (6 months) ($p = 0.001$).

The *Plasmodium* species most frequently found was *P. falciparum* (26 [7.8%] patients), followed by *P. malariae* (4 [1.2%]), *P. ovale* (2 [0.6%]), and 1 mixed parasitization by *P. falciparum* and *P. malariae* (1 [0.3%]). Patients with and without SMM did not differ in baseline laboratory data, except for the presence of hemoglobinopathies, which occurred more frequently among SMM patients (42.4% vs. 21.3%; $p = 0.01$).

When we analyzed other associated infections (Table 2), we found an important difference between SMM and non-SMM patients regarding filarial co-infection. Filariasis was present in up to 24.2% of SMM patients but in only 5.3% of non-SMM patients ($p < 0.01$). *Mansonella perstans* nematodes were responsible of all filarial infections; in addition, 3 patients were infected by *Loa loa* eyeworms.

Among SMM patients, all filariasis was found in NAMs. These co-infected patients had higher IgE values (1,080 IU/mL vs. 293.7 IU/mL [reference 0–100 IU/mL]; $p < 0.01$) and higher total eosinophil counts (601.5 cells/ μ L vs. 270 cells/ μ L [reference 20–450 cells/ μ L]; $p = 0.01$) than those who had only SMM. The co-infected group also tended to have higher platelet levels (Figure 1).

Multivariate regression analysis applied to all 370 patients showed that having filarial infection increased the odds of having SMM by 6.49 and the existence of ≥ 1 hemoglobinopathies increased the odds by 3.93. Time after leaving a malaria-endemic area correlated inversely with risk for SMM ($p = 0.038$) (Figure 2). For NAMs, filariasis increased the risk for SMM by 8.47 and hemoglobinopathies by 4.70. For VFRs, however, the only risk factor was time since last visit to their home country (the shorter the time, the higher the risk).

Conclusions

Screening for SMM in patients from sub-Saharan Africa in a reference unit in Spain showed a prevalence of 8.9%. The presence of filarial infection or hemoglobinopathies and a shorter time since leaving malaria-endemic areas were associated with a higher risk for SMM.

SMM is usually asymptomatic. Infrequently, it produces acute disease, especially in children (8). During pregnancy, SMM has been linked to maternal anemia and to low birth weight (9). SMM screening in risk groups, such as pregnant women and immunosuppressed persons (10), could therefore be of special interest.

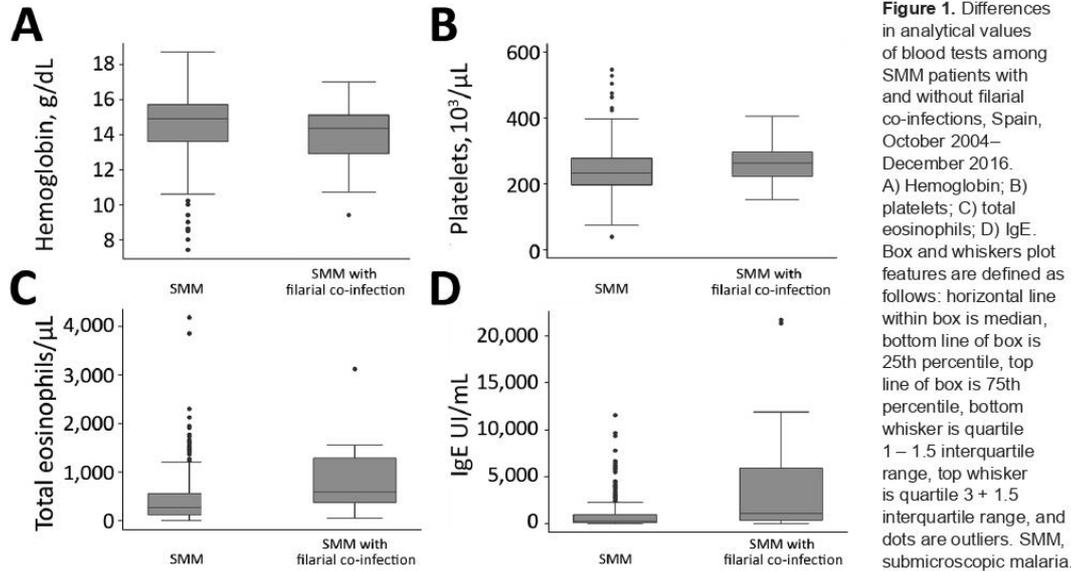
Our study highlights 2 important differences between patients with and without SMM. First, the proportion of patients infected by filariasis was higher among SMM patients. In areas to which malaria is not endemic, Ramirez-Olivencia et al. also reported a greater number of filariasis among SMM patients than among patients with patent microscopic malaria (3). Nematodes can alter immune system response to concomitant infections, such as *Plasmodium* spp. Modulation of immune response produced

Table 2. Co-infections in patients in a study of SMM in migrants from sub-Saharan Africa to Spain, October 2004–December 2016*

Co-infection	All, no. (%), N = 370	Non-SMM, no. (%), n = 337	SMM, no. (%), n = 33	p value
<i>Blastocystis hominis</i>	91 (24.6)	85 (25.2)	6 (18.2)	0.33
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	56 (15.1)	53 (15.7)	3 (9.1)	0.28
<i>Giardia lamblia</i>	25 (6.8)	24 (7.1)	1 (3.0)	0.35
<i>Strongyloides stercoralis</i>	73 (19.7)	67 (19.9)	6 (18.2)	0.75
Hookworms	39 (10.5)	37 (11.0)	2 (6.1)	0.36
<i>Trichuris trichiura</i>	11 (3.0)	10 (3.0)	1 (3.0)	0.99
<i>Ascaris lumbricoides</i>	10 (2.7)	8 (2.4)	2 (6.1)	0.23
Schistosomiasis	34 (9.2)	31 (9.2)	3 (9.1)	0.94
<i>S. haematobium</i>	21 (5.7)	19 (5.6)	2 (6.1)	0.95
<i>S. mansoni</i>	7 (1.9)	7 (2.1)	0	0.40
<i>S. intercalatum</i>	1 (0.3)	1 (0.3)	0	1
<i>Schistosoma</i> spp.	5 (1.4)	3 (0.9)	1 (3.0)	0.45
<i>Hymenolepis nana</i>	7 (1.9)	6 (1.8)	1 (3.0)	0.64
<i>Taenia</i> spp.	2 (0.5)	2 (0.6)	0	1
Filariæ†	26 (7.0)	18 (5.3)	8 (24.2)	<0.01
<i>Mansonella perstans</i>	26 (7.0)	18 (5.3)	8 (24.2)	<0.01
<i>Loa loa</i>	3 (0.8)	1 (0.3)	2 (6.1)	0.02
Syphilis	39 (10.5)	33 (9.8)	6 (18.2)	0.12
Hepatitis B virus	111 (30)	98 (29.1)	13 (39.4)	0.17
Hepatitis C virus	5 (1.4)	4 (1.2)	1 (3.0)	0.37
HIV	2 (0.5)	1 (0.3)	1 (3.0)	0.17

*SMM, submicroscopic malaria.

†All 3 patients infected with *Loa loa* eyeworms were co-infected with *Mansonella perstans* nematodes.

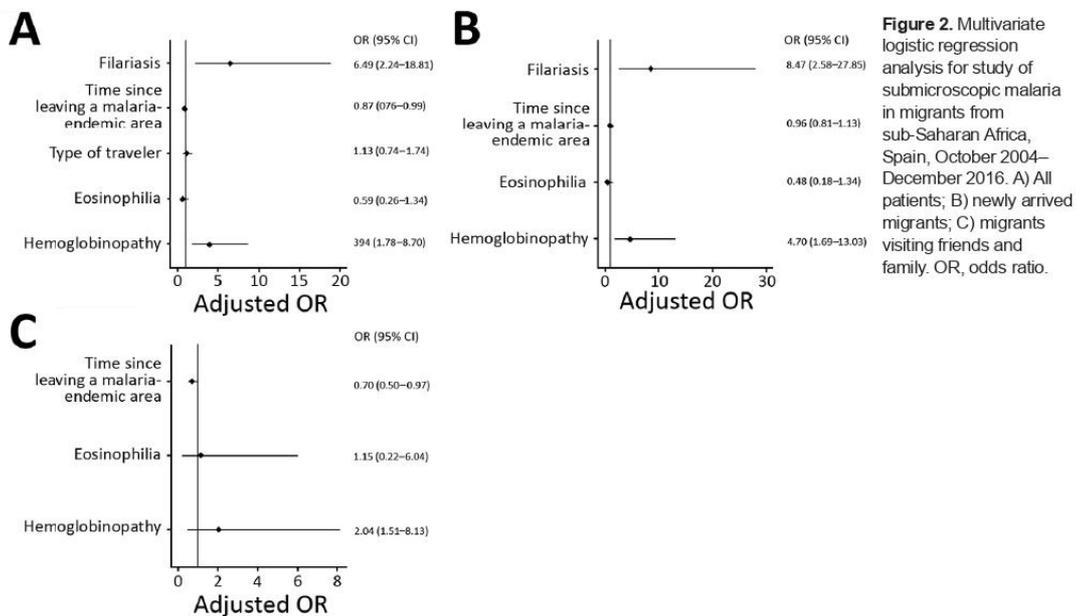


by helminthoses, such as filariasis, might exert some protective effect against malaria, leading to lower parasitic loads, which in turn might translate into clinical protection against severe malaria (11,12).

The second disparity was the presence of hemoglobinopathies, a finding much more frequent among SMM patients that resulted in an SMM risk only for NAMs.

Hemoglobinopathies exert a protective effect against severe malaria, favoring milder clinical manifestations and the existence of SMM (13,14).

The relatively high prevalence of imported SMM we found could justify implementation of systematic screening in immigrants and travelers who recently stayed in malaria-endemic areas, mainly for persons with risky conditions



such as immunosuppression (especially those with HIV infection) and for pregnant women. The diagnosis and treatment of SMM also can prevent future reactivations and the existence of an occult malaria reservoir in countries to which it is not endemic. Our results suggest that the presence of filariasis, hemoglobinopathies, or both should also prompt a search for SMM because these patients are at higher risk.

Acknowledgments

We thank M^a del Carmen Olvera Porcel and technicians in Research Methodology and Biostatistics from the Fundación para la Investigación Biosanitaria para Andalucía Oriental Alejandro Otero for providing invaluable support for the statistical analysis of the data.

This study was conducted within the activities developed by the research group Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación CTS 582 of the regional Ministry of Gender, Health and Social Policy of the Government of Andalucía, RICET (Red de Investigación Cooperativa en Enfermedades Tropicales, co-financing FEDER, RD16/0027/0013) and the CEMyRI (Center for the Study of Migration and Intercultural Relations) of the University of Almería (Spain).

About the Author

Dr. Pousibet-Puerto is a researcher of the Research Group of the Tropical Medicine Unit of the Hospital de Poniente. His primary research interests include malaria, helminthosis, and protozoal intestinal diseases.

References

- Hermesen CC, Telgt DS, Linders EH, van de Locht LA, Eling WM, Mensink EJ, et al. Detection of *Plasmodium falciparum* malaria parasites in vivo by real-time quantitative PCR. *Mol Biochem Parasitol*. 2001;118:247–51. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-6851\(01\)00379-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-6851(01)00379-6)
- Lin JT, Saunders DL, Meshnick SR. The role of submicroscopic parasitemia in malaria transmission: what is the evidence? *Trends Parasitol*. 2014;30:183–90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.02.004>
- Ramirez-Olivencia G, Rubio JM, Rivas P, Subirats M, Herrero MD, Lago M, et al. Imported submicroscopic malaria in Madrid. *Malar J*. 2012;11:324. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-11-324>
- Bueno-Martí R, Bernués-Bañeres A, Jiménez-Peydró R. Updated checklist and distribution maps of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Spain. *European Mosquito Bulletin*. 2012;30:91–126.
- Rubio JM, Post RJ, van Leeuwen WM, Henry MC, Lindergard G, Hommel M. Alternative polymerase chain reaction method to identify *Plasmodium* species in human blood samples: the semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR). *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96(Suppl 1):S199–204. [http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203\(02\)90077-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203(02)90077-5)
- World Health Organization. World malaria report 2015. Geneva: The Organization; 2015.
- Hosmer DW, Lemeshow S. Applied logistic regression. New York: Wiley; 1989.
- Akiyama T, Pongvongsa T, Phrommala S, Taniguchi T, Inamine Y, Takeuchi R, et al. Asymptomatic malaria, growth status, and anaemia among children in Lao People's Democratic Republic: a cross-sectional study. *Malar J*. 2016;15:499. <http://dx.doi.org/10.1186/s12936-016-1548-3>
- Cottrell G, Moussilou A, Luty AJF, Cot M, Fievet N, Massougbodji A, et al. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* infections are associated with maternal anemia, premature births, and low birth weight. *Clin Infect Dis*. 2015;60:1481–8. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/civ122>
- Monge-Maillo B, Norman F, Pérez-Molina JA, Diaz-Menéndez M, Rubio JM, López-Vélez R. *Plasmodium falciparum* in asymptomatic immigrants from sub-Saharan Africa, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:356–7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1801.111283>
- Metenou S, Kovacs M, Dembele B, Coulibaly YI, Klion AD, Nutman TB. Interferon regulatory factor modulation underlies the bystander suppression of malaria antigen-driven IL-12 and IFN- γ in filaria-malaria co-infection. *Eur J Immunol*. 2012;42:641–50. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.201141991>
- Dolo H, Coulibaly YI, Dembele B, Konate S, Coulibaly SY, Doumbia SS, et al. Filariasis attenuates anemia and proinflammatory responses associated with clinical malaria: a matched prospective study in children and young adults. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6:e1890. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001890>
- Danquah I, Ziniel P, Eggelte TA, Ehrhardt S, Mockenhaupt FP. Influence of haemoglobins S and C on predominantly asymptomatic *Plasmodium* infections in northern Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104:713–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2010.08.001>
- Crompton PD, Traore B, Kayentao K, Doumbo S, Ongoiba A, Diakite SA, et al. Sickle cell trait is associated with a delayed onset of malaria: implications for time-to-event analysis in clinical studies of malaria. *J Infect Dis*. 2008;198:1265–75. <http://dx.doi.org/10.1086/592224>

Address for correspondence: Joaquín Salas-Coronas, Hospital de Poniente, Unidad de Medicina Tropical Ctra., Almerimar sn El Ejido Almería 04700, Spain; email: joaquin.salas@epaho.es

3.3. Artículo 3: Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone.

Joaquín Pousibet-Puerto, Joaquín Salas-Coronas, Alicia Sánchez-Crespo, M. Angustias Molina-Arrebola, Manuel J. Soriano-Pérez, M. José Giménez-López, José Vázquez-Villegas y M. Teresa Cabezas-Fernández.

Introducción: La TCA ha demostrado disminuir el tiempo de aclaramiento de la parasitemia, la estancia hospitalaria y la mortalidad frente al tratamiento clásico (quinina+doxiciclina/clindamicina), principalmente en pacientes con malaria grave. En regiones endémicas ha demostrado ser más eficaz en el tratamiento de la enfermedad e incluso en la reducción de su transmisión. Sin embargo, los estudios realizados en malaria importada sin criterios de gravedad, en áreas no endémicas, son muy escasos.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo de los pacientes ingresados con diagnóstico de malaria por *P. falciparum* sin criterios de gravedad entre los años 2004 y 2015. El objetivo fue comparar el tiempo de negativización o aclaramiento de la parasitemia y la estancia media hospitalaria de los pacientes tratados con TCA frente los que recibieron otras pautas de tratamiento.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 85 pacientes: 51 recibieron tratamiento con TCA (dihidroartemisina-piperaquina) y 34 pacientes fueron tratados con sulfato de quinina + doxiciclina o atovacuona-proguanil. El tiempo de negativización de la parasitemia fue inferior en el grupo de pacientes tratados con TCA frente al que recibió otro tipo de tratamiento: 24 h (IQR 24) vs 48 h (IQR 48), $p < 0,01$. La estancia media hospitalaria también fue inferior en el grupo de TCA respecto al segundo grupo: 2,67

días (IQR 1,08) vs 3,96 días (IQR 2,87), $p < 0,001$. Se registró un caso leve de hepatitis en el grupo tratado con TCA.

Conclusiones: El tratamiento con TCA de los pacientes hospitalizados con malaria importada por *P. falciparum* sin criterios de gravedad reduce los días de hospitalización, además de producir un aclaramiento parasitario más rápido, en comparación con el tratamiento clásico. A pesar de que se trata de medicamentos seguros, hay que estar alerta ante la posibilidad de efectos adversos como la hepatitis y la anemia hemolítica tardía.

Malar J. 2016;15(1):339

RESEARCH

Open Access



Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone

Joaquín Pousibet-Puerto¹, Joaquín Salas-Coronas^{1,2*}, Alicia Sánchez-Crespo³, M. Angustias Molina-Arrebola^{1,3}, Manuel J. Soriano-Pérez¹, M. José Giménez-López³, José Vázquez-Villegas⁴ and M. Teresa Cabezas-Fernández^{1,2}

Abstract

Background: Artemisinin-based combination therapy (ACT) has been adopted by the World Health Organization as a first-line treatment for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. In endemic regions, it has proven more effective in treating the disease, and even in reducing its transmission. Nonetheless, there is a scarcity of studies carried out in non-endemic areas on imported uncomplicated malaria.

Methods: This is a retrospective, observational study performed on patients diagnosed and admitted with uncomplicated *P. falciparum* malaria between 2004 and 2015. The objective was to compare the parasite clearance period and the average hospital length of stay for patients treated with ACT vs those receiving other treatment regimens.

Results: Eighty-five patients were included in the study. Fifty-one received ACT treatment (dihydroartemisinin–piperazine) and thirty-four patients were treated with quinine sulfate+doxycycline or atovaquone/proguanil. The parasite clearance period was shorter in the group of patients treated with ACT compared to those receiving other treatment types: 24 h (IQR 24) vs 48 h (IQR 48), $p < 0.01$. The average hospital stay was also shorter in the ACT group with respect to the second group: 2.67 days (IQR 1.08) vs 3.96 days (IQR 2.87), $p < 0.001$. A mild case of hepatitis was registered in the group treated with ACT.

Conclusions: ACT treatment of admitted hospital patients with imported uncomplicated malaria from *P. falciparum* reduced the days spent hospitalized as well as producing a more rapid parasite clearance compared to classic treatment. In spite of being treated with safe medications, one has to be alert to possible adverse effects such as hepatitis and delayed haemolytic anaemia.

Keywords: Malaria, Uncomplicated malaria, *Plasmodium falciparum*, Artemisinin-based combination therapy, Artemisinin, Dihydroartemisinin–piperazine

Background

Malaria is the most important parasitic disease worldwide. It has been calculated that each year is it responsible for new episodes in around 214 million patients, causing the death of approximately 438,000 the majority of which are children under 5 years of age and pregnant

women [1, 2], not to mention incalculable economic loss in endemic countries. In Europe, apart from isolated cases in Greece, malaria continues to be exclusively imported, with approximately 11,000 cases reported each year, making it the most important tropical disease on this continent [3–6]. Most imported malaria cases (as many as 88–98 %) are diagnosed in recently-arrived immigrants or resident immigrants who return to their country of origin to visit friends or family visiting friends and relatives (VFR); sub-Saharan Africa being the region

*Correspondence: joaquinsalascoronas@yahoo.es

¹Tropical Medicine Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain
Full list of author information is available at the end of the article



© 2016 The Author(s). This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

from which most cases originate. Eighty percent of declared imported cases of malaria in Europe are *P. falciparum* [3–5].

Malaria treatment has changed substantially over recent years [7]. Artesunate has proven to be superior to quinine in most situations where complicated malaria is treated [8–12]. In uncomplicated malaria, regimens known as artemisinin-based combination therapy (ACT) demonstrates greater efficacy in treating the disease, reducing transmission in endemic areas and producing lower levels of reinfection [13–17]. For this reason, artemisinin derivatives are currently recommended as first-line medication for *P. falciparum* malaria treatment, whether complicated (severe) or uncomplicated, both in endemic and non-endemic countries [18–20].

Artemisinin treatment leads to a reduction in average hospital stays, more rapid parasite clearance in comparison with any other anti-malarial [11, 12, 17]; and, in complicated malaria, a lowering of the global mortality rate [8, 9]. The majority of these studies have been carried out in endemic areas. In non-endemic countries, in patients with complicated malaria, treatment with artesunate additionally reduced the days spent in intensive care units (ICU) [11, 12]. However, in patients with uncomplicated malaria from *P. falciparum*, there are few studies comparing the differences in non-endemic regions [17].

This study aims to analyse the impact that the use of ACT has had compared to two classic treatments (quinine sulfate and doxycycline/clindamycin or atovaquone-proguanil) to treat patients admitted with uncomplicated malaria from *P. falciparum* to a hospital in a non-endemic area.

Methods

A retrospective observational study was carried out on all patients admitted with malaria to Hospital Poniente (El Ejido, Almería, Spain) from January 2004 to December 2015. The hospital serves a population of approximately 250,000 people, in an area with a large African immigrant population, many of whom work in horticultural greenhouses. The study included patients over 14 years of age whose reason for hospital admission was exclusively the diagnosis of uncomplicated malaria from *P. falciparum* [19]. Pregnant women and HIV patients were excluded from the study. The disease was diagnosed using direct thin and thick smear microscopy in tandem with a rapid diagnostic test (SD Bioline malaria Ag Pf/Pan[®]) using lateral flow assays. The malarial PCR (semi-nested multiplex PCR) was used only in cases where a more precise confirmation was needed of the species, or where there was a suspicion of mixed parasitic infection. A clinical history and complete physical examination were carried out on all patients, gathering epidemiological and clinical

data. On admission, screening was performed for the most prevalent imported pathologies; this included HIV, HBV and HCV blood tests. Parasitaemia monitoring was carried out via a daily smear until a negative result was obtained. After leaving hospital, the patients were checked with a blood test and a blood smear at 7 and 28 days.

Uncomplicated malaria is defined following the recommendations for the management of imported malaria in Europe [19]. With regard to parasitaemia, patients who came from endemic countries (semi-immune patients) were considered uncomplicated if they had a parasitaemia level of <5 and <2 % in non-immune individuals. Dihydroartemisinin–piperaquine (Eurartesim[®] 320 mg/40 mg, Sigma Tau) was the ACT chosen; this medication is currently the commercial form available in Spain.

Variables were analysed corresponding to epidemiological, clinical and analytical characteristics as well as the parasite clearance period and the average hospital stay. The level of parasitaemia was divided into patients with <1 %, between 1 and 2 %, and >2–5 %. Any possible adverse secondary effects associated with the treatment were also recorded.

Data were analysed using the statistical software package SPSS v17. A descriptive analysis was carried out on the quantitative variables using the mean and the standard deviation, as well as the range. Qualitative variables were described using absolute frequencies and percentages. To observe the possible differences between the group of patients treated with quinine and doxycycline/clindamycin or atovaquone–proguanil and ACT, the Pearson's Chi square test or Fisher's exact test was used when the variables were qualitative. When the variables for comparison were quantitative, the mean differences were estimated using the Student's t test for independent samples if they complied with the normal hypothesis and the Mann–Whitney U test when they did not.

A multivariate linear regression model was performed using days of hospitalization as the dependent variable and the treatment group, the haemoglobin (Hb) and platelet levels (at the time of diagnosis) and the level of parasitaemia as the independent variables. The goodness-of-fit was calculated along with the determination coefficient. For all tests, the fixed level of significance was 0.05. This study was approved by the local ethic committee (Almería, Spain) with code 12/2016.

Results

A total of 85 patients diagnosed with uncomplicated malaria were included in the study. The pharmaceuticals used for malaria treatment were quinine sulfate+doxycycline or atovaquone/proguanil until

2012. In the same year, dihydroartemisinin–piperaquine was introduced, remaining as the first-line treatment since then. Fifty-one patients were treated with dihydroartemisinin–piperaquine and 34 with quinine sulfate+doxycycline (n = 33) or atovaquone/proguanil (n = 1). The dataset supporting the conclusions of this study is included as Additional file 1.

The general patient characteristics, both together and by groups, are shown in Table 1. The average age was 32 years (IQR 9), 96.5 % of which were male (n = 82). All of the patients except one (a Spanish expatriate) originated from sub-Saharan Africa, and 94.1 % were treated as VFR patients. No differences were observed on admittance between the study groups with relation to age, gender, country of origin, type of traveler, or basal Hb and platelet levels, nor the level of parasitaemia. Regarding concomitant diseases, one patient was diabetic (in the quinine sulfate+doxycycline group), two presented with arterial hypertension (in the quinine sulfate+doxycycline group), and ten patients presented with chronic hepatitis B (five in the quinine

sulfate+doxycycline group and five in the dihydroartemisinin–piperaquine group).

The global parasite clearance time was 24 h (IQR 24) and the average hospital stay was 2.88 days (IQR 1.88). In the subgroup analysis, the parasite clearance time was significantly less in the patient group treated with ACT rather than the classic treatment: 24 h (IQR 24) vs 48 h (IQR 48), $p < 0.01$. The average stay was also less in the artemisinin group with respect to the group treated with quinine+doxycycline/atovaquone-proguanil: 2.67 days (IQR 1.08) vs 3.96 days (IQR 2.87), $p < 0.001$ (Table 1; Fig. 1).

With regard to the Hb levels during the follow-up at 7 and 28 days, patients treated with dihydroartemisinin–piperaquine presented higher levels on both occasions (ACT group vs quinine+doxycycline/atovaquone-proguanil: day 7: $13.37 \text{ g/dL} \pm 1.48$ (range 10–16) vs $12.65 \text{ g/dL} \pm 1.42$ (range 10–15.5), $p = 0.03$; day 28: $14.32 \text{ g/dL} \pm 1.2$ (range 11.7–16.8) vs $13.45 \text{ g/dL} \pm 1.38$ (range 9.1–14.8), $p = 0.02$).

In the lineal regression model (Table 2), the variables showing an influence on the average days of

Table 1 Characteristics of the patients included in the study

	All N = 85	Quinine/atovaquone-proguanil n = 34	Dihydroartemisinin-piperaquine n = 51	p value
Age (years); median (IQR)	32 (9)	31.5 (8)	33 (10)	0.99
Gender				
Male	82 (96.5 %)	32 (94.1 %)	50 (98 %)	0.56
Female	3 (3.5 %)	2 (5.9 %)	1 (2 %)	
Origin				
Sub-Saharan Africa	84 (98.8 %)	34 (100 %)	50 (98 %)	0.49
Spain	1 (1.2 %)	0	1 (2 %)	
Type of traveller				
VFR	80 (94.1 %)	31 (91.2 %)	49 (96 %)	0.25
Recent arrival	4 (4.7 %)	3 (8.8 %)	1 (2 %)	
Expatriate	1 (1.2 %)	0	1 (2 %)	
Hb on admission (g/dL) \pm typical deviation (range)	13.7 ± 1.5 (10.1–16.9)	13.5 ± 1.5 (10.1–16.9)	13.8 ± 1.4 (10.1–16.4)	0.36
Hb day 7 (g/dL) \pm typical deviation (range)	13.08 ± 1.49 (10–16)	12.65 ± 1.42 (10–15.5)	13.37 ± 1.48 (10–16)	0.03
Hb day 28 (g/dL) \pm typical deviation (range)	13.94 ± 1.34 (9.1–16.8)	13.45 ± 1.38 (9.1–14.8)	14.32 ± 1.2 (11.7–16.8)	0.02
Total platelets $\times 10^3/\mu\text{L}$; median (IQR)	94 (60)	93 (59)	95 (81)	0.93
Parasitaemia level (%)				
<1	48 (56.5 %)	18 (52.9 %)	30 (58.8 %)	0.22
1–2	26 (30.6 %)	9 (26.5 %)	17 (33.3 %)	
>2–5	11 (12.9 %)	7 (20.6 %)	4 (7.8 %)	
Time in which parasitaemia becomes negative. Hours; median (IQR) ^a	24 (24)	48 (48)	24 (24)	<0.01
Period of hospitalization. Days; median (IQR)	2.88 (1.88)	3.96 (2.87)	2.67 (1.08)	<0.001

^a In the group of patients treated with quinine sulphate, the average parasite clearance time was determined in 16 patients. In the remainder (n = 18) daily smears were not carried out. The variables gender, origin, type of traveller, haemoglobin (basal levels, 7 and 28 days) and parasitaemia level follow a normal distribution. The quantitative variables that do not follow a normal distribution pattern are age, platelets, length of hospital stay and parasite clearance time

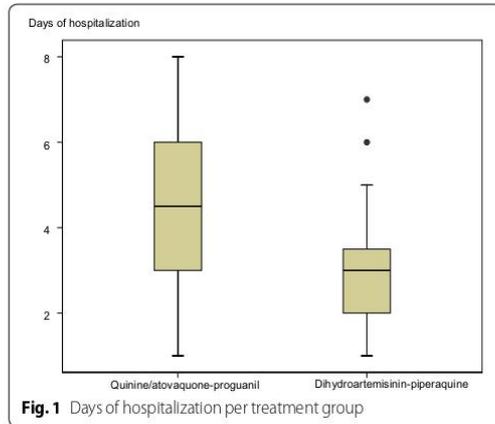


Fig. 1 Days of hospitalization per treatment group

hospitalization were the Hb and platelet levels at the time of admission and whether there was elevated parasitaemia (>2–5 %). The variable with the greatest association power was the treatment group, with a typified coefficient of -0.409 . For the same Hb, platelet and parasitaemia levels, the use of ACT resulted in a reduction in hospital stay of almost a day and a half (-1.35 days).

With regard to any reported adverse effects, in the group treated with dihydroartemisinin–piperaquine, there was one mild case of hepatitis, in the only non-sub-Saharan patient; this was self-limiting but, nevertheless, led to more days spent in hospital (6 days).

Discussion

ACT is a very effective and safe treatment in the management of imported uncomplicated malaria. Besides producing more rapid parasite clearance, its use in patients admitted with uncomplicated malaria reduces the period of hospitalization compared to classic treatments that were used previously, resulting in healthcare savings.

The management of imported malaria is still a challenge for many healthcare professionals in non-endemic zones. *P. falciparum* is the species most frequently involved, and also the one which most results in morbidity and/or mortality in travellers (tourists and expatriates), as well as in foreigners who return home to visit friends and family [3–5]. The use of artemisinin derivatives has been spreading, various articles have been published showing the superior results of these drugs compared to other treatments; indeed, their use has been recommended as a first-line drug in the main national and international guidelines [18–20]. Quinine is now relegated to a second-line treatment for cases where contraindications exist, or because of the unavailability of ACT or atovaquone–proguanil; likewise in complicated malaria treatment given within the first trimester of pregnancy due to the possibility of teratogenicity [7, 18–20].

Most studies concerning imported malaria have been carried out on patients with complicated malaria [11, 12] with artesunate being the most-commonly used drug for intravenous treatment. Besides producing faster parasite clearance and ending fever, it has a better safety profile (posing predominantly less risk of severe hypoglycaemia), shortens hospitalization and has recently been shown to reduce the length of time in ICU, above all in patients with more elevated parasitaemia [12]. No reduction in mortality has been demonstrated given the few patients who died in the studies thus making such analysis impossible, although with the solid evidence obtained in endemic regions, it would be unethical to carry out clinical trials with this objective in mind.

In the case of uncomplicated malaria caused by *P. falciparum*, the general recommendation is hospital admittance and oral treatment for at least 24–48 h [20], with the aim of observing the clinical evolution and tolerance to the drugs. Very few studies have been carried out with ACT in non-endemic zones. Hatz et al. [21] concluded that treatment with artemether–lumefantrine is safe and efficacious in those patients. A prospective observational

Table 2 Linear regression model

	Coefficient		Typified coefficient	
	B	Typical error	Beta	Significance
Treatment with quinine/atovaquone–proguanil or ACT	-1.349	0.293	-0.409	<0.001
Hb on admission	0.314	0.097	0.284	<0.01
Platelets on admission	-0.007	0.002	-0.258	<0.01
Average parasitaemia	-0.009	0.319	-0.003	0.98
High parasitaemia	1.083	0.449	0.225	0.02

ACT artemisinin-based combination therapy

$R^2 = 0.404$ ($p < 0.001$). The model we have constructed explains 40.4 % of the variability in the average hospital stay. The variables that influence the average stay are the type of treatment, Hb, platelets and having elevated parasitaemia. The variable with the greatest power of association is the treatment type, which has a typified coefficient of 0.409. For the same level of Hb, platelets or parasitaemia, the use of ACT results in almost 1 day less of hospitalization (-1.35 days)

multicentre study (MALTHER) compared the various treatment regimens for imported uncomplicated malaria in Europe [17]. There were a total of 18 different regimens although the most used were atovaquone–proguanil, quinine and artemether–lumefantrine. Compared to other regimens, quinine was associated with the highest non-completion rate, more secondary effects and the most days of hospitalization. In contrast, the artemether–mefloquine combination was linked to the fastest parasite clearance and cessation of fever. Regarding the period of hospitalization, the use of quinine was associated with longer hospital stays. In this study, unlike the MALTHER study, dihydroartemisinin–piperaquine was used as the ACT, the only drug of its type commercially available in Spain and presumably the main drug used in the majority of Spanish hospitals; this combination has also been demonstrated to be efficacious and safe both in endemic countries as well as in Europe [16, 22]. In addition, as belonging to just one centre, the two groups of patients compared were much more homogenous thus avoiding, to a large extent, any bias derived from variations in clinical practice between healthcare sites or in different countries.

The overall average hospital stay for patients in our study was 2.88 days. The fact that most of the patients are immigrants has probably contributed to a slightly longer stay to that recommended. The language barrier that exists with many of these patients, as well as the problems concerning frequent follow-up visits to the healthcare centres, often for economic or work-related reasons, means that it is common their doctors feel more comfortable keeping them admitted to hospital until they are sure of good treatment tolerance and response. The rapid parasite clearance and the markedly shorter treatment regimen using ACT are probably the factors that most influence the length of stay.

Atovaquone–proguanil is another medication recommended as a first-line treatment for uncomplicated malaria from *P. falciparum* [18–20]; however, the parasite clearance rate is longer than with ACT and the adverse effects, above all gastrointestinal, are similarly more frequent [17]. Furthermore, ACT has a very good profile in relation to possible *Plasmodium* resistance.

With regard to possible adverse reactions, the compounds derived from artemisinin have shown good tolerance and have a good safety profile [23, 24]. The most frequent adverse effects are: Type 1 hypersensitivity at the cutaneous level; a long QTc interval in the ECG; and, at the gastrointestinal level, nausea, vomiting and diarrhoea, although often this can be clinically confused with the malaria itself [25]. Cases have also been described of raised transaminase levels or hepatitis. This was only observed in one patient; and although there were

no important consequences and the condition ceased after only a few days, it did result in more days spent in hospital.

The most severe adverse effect of artemisinin derivatives however is delayed haemolytic anaemia [25–28]. This is produced by the “pitting” mechanism, in which the parasitized erythrocytes, after being cleared of parasites by the spleen, are resealed and returned to the blood stream, but with a reduced lifespan of 1–3 weeks [28]. This lysis process occurs on average 2 weeks after the drug is administered, and in some cases can require a blood transfusion. Although this has mainly been seen in patients with complicated malaria (with elevated parasitaemia) treated with artesunate, it has also been described in patients treated with intramuscular artemether and oral artemether–lumefantrine [27]. As far as it is known, no case has been reported in relation to dihydroartemisinin–piperaquine. In this study, the Hb levels were higher even in the group treated with ACT at 7 and 28 days. This is probably because in patients with uncomplicated malaria, delayed haemolysis is the exception; in fact, the more rapidly the parasitaemia disappears and the ACT-treated patients recover, the more rapid the accompanying recovery of the basal hemoglobin levels as well.

With regard to pregnancy, there is insufficient information about the safety and efficacy of many anti-malarials, especially in the first trimester. Consequently, the only drugs considered safe are quinine, chloroquine, clindamycin and proguanil. Artemisinin-derived drugs are safe and efficacious in the second and third trimesters, in that they have been demonstrated not to be teratogenic [29, 30].

The limitations present in this study come from the fact that it is a retrospective work.

Furthermore, given the characteristics of the population that is the object of the study, the results may only be strictly extrapolated to African immigrants treated with two treatment regimens, one which has already passed to second-line use (quinine sulfate–doxycycline) and the other, an ACT (dihydroartemisinin–piperaquine), which is a first-line treatment. New prospective studies will need to be carried out to evaluate if any differences exist in terms of safety, efficacy and healthcare costs between the ACT-based treatments and, for example, atovaquone–proguanil, which is also a fixed combination over the same period (3 days in total). Moreover, with atovaquone–proguanil, ample experience has been gathered in non-endemic regions and it has a proven safety record.

Conclusions

The results of this work reinforce the results of the few studies published to date regarding ACT treatments for patients with uncomplicated malaria in non-endemic

regions. They are drugs with a good safety record, clearing parasitaemia more rapidly than other anti-malarials, and are probably more cost effective by reducing the average length of stay in hospital. Nonetheless, despite being safe drugs, one should be alert to the possibility of adverse effects such as hepatitis and delayed haemolytic anaemia.

Additional file

Additional file 1. General data table.

Abbreviations

ACT: artemisinin-based combination therapy; Hb: haemoglobin; HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; HIV: human immunodeficiency virus; ICU: intensive care unit; IQR: interquartile rate; PCR: polymerase chain reaction; VFR: visiting friends and relatives.

Authors' contributions

JPP participated in the analytical design, interpretation, writing the draft of the manuscript and revisions. JSC contributed to the conception and design of the project, analytical design, interpretation, writing the draft of the manuscript and revisions. ASC contributed to the data collection, writing and revising the manuscript. MAMA contributed to the conception and design, writing and revising the manuscript. MJSP contributed to contributed to the data collection and revising the manuscript. MJGL contributed to the data collection, writing and revising the manuscript. JVJ contributed to the data collection and revising the manuscript. MTCF contributed to the design, writing and revising the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹Tropical Medicine Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain. ²Center for the Study of Migration and Intercultural Relations (CEMyRI), University of Almería, Almería, Spain. ³Haematology Unit, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, Spain. ⁴Tropical Medicine Unit, Distrito Poniente, Almería, Spain.

Acknowledgements

We thank Pablo Garrido Fernández and M^a del Carmen Olvera Porcel, technicians in Research Methodology and Biostatistics from FIBAO, for providing invaluable support for the statistical analysis of the data.

Competing interests

JSC, MJSP and JVJ participate in the pharmacoepidemiological studies "Safety Registry for Eurartesim[™]" and "Pregnancy Registry for Eurartesim[™]". The others authors have declared that there are no competing interests.

Availability of data and materials

The dataset supporting this article's conclusions is included as Additional file 1.

Ethics approval and consent to participate

This is a retrospective study. We used the TMU (Tropical Medicine Unit) database (electronic). Data was exported to a new SSPS file. Subjects were anonymously coded, unlinked from any information identifying the source individuals. Although the study was retrospective and no action on patients was involved, the study protocol was nevertheless submitted to the Ethics Committee of de Coordinating Site (Comité de Ética de la Investigación de Almería) for approval. The latter acknowledged the study protocol and formally authorized the study (protocol n° 12/2016 of 30th March, 2016).

Funding

This study has been conducted within the activities developed by the research group PAIDI CTS 582 of the regional Ministry of Gender, Health and Social Policy of the Government of Andalusia, and the CEMyRI (Centre for the Study of Migration and Intercultural Relations) of the University of Almería

(Spain). This retrospective study has not had costs because it is a study based on clinical practice.

Received: 4 April 2016 Accepted: 20 June 2016

Published online: 02 July 2016

References

1. WHO. World malaria report. Geneva: World Health Organization; 2015.
2. Murray CJ, Rosenfeld LC, Lim SS, Andrews KG, Foreman KJ, Haring D, et al. Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2012;379:413–31.
3. Schlagenhauf P, Weld L, Goorhuis A, Gautret P, Weber R, von Sonnenburg F, et al. Travel-associated infection presenting in Europe (2008–12): an analysis of EuroTravNet longitudinal, surveillance data, and evaluation of the effect of the pre-travel consultation. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:55–64.
4. Ramirez-Olivencia G, Herrero MD, Subirats M, de Juanes JR, Peña JM, S Puente. Imported malaria in adults. Clinical, epidemiological and analytical features. *Rev Clin Esp*. 2012;212:1–9.
5. Behrens RH, Neave PE, Jones CO. Imported malaria among people who travel to visit friends and relatives: is current UK policy effective or does it need a strategic change? *Malar J*. 2015;14:149.
6. Tseroni M, Baka A, Kapizioni C, Snounou G, Tsiodras S, Charvalakou M, et al. Prevention of malaria resurgence in Greece through the association of mass drug administration (MDA) to immigrants from malaria-endemic regions and standard control measures. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;19(9):e0004215.
7. Achan J, Talisuna AO, Erhart A, Yeka A, Tibenderana JK, Baliraine FN, et al. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. *Malar J*. 2011;10:144.
8. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, Chhaganlal KD, et al. South East Asian quinine artesunate malaria trial (SEAQUAMAT) group. Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria: a randomised trial. *Lancet*. 2005;366:717–25.
9. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, Chhaganlal KD, et al. Artesunate versus quinine in the treatment of severe falciparum malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. *Lancet*. 2010;376:1647–57.
10. Maka DE, Chiabi A, Ndikum V, Achu D, Mah E, Nguetack S, et al. A randomized trial of the efficacy of artesunate and three quinine regimens in the treatment of severe malaria in children at the Ebolowa Regional Hospital, Cameroon. *Malar J*. 2015;14:429.
11. Eder M, Farné H, Cargill T, Abbara A, Davidson RN. Intravenous artesunate versus intravenous quinine in the treatment of severe falciparum malaria: a retrospective evaluation from a UK centre. *Pathog Glob Health*. 2012;106:181–7.
12. Kurth F, Develoux M, Mechain M, Clerinx J, Antinori S, Gjørup IE, et al. Intravenous artesunate reduces parasite clearance time, duration of intensive care and hospital treatment in patients with severe malaria in Europe: the tropnet severe malaria study. *Clin Infect Dis*. 2015;61:1441–4.
13. Sagara I, Fofana B, Gaudart J, Sidibe B, Togo A, Toure S, et al. Repeated artemisinin-based combination therapies in a malaria hyperendemic area of Mali: efficacy, safety, and public health impact. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;87:50–6.
14. Abay SM. Blocking malaria transmission to Anopheles mosquitoes using artemisinin derivatives and primaquine: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*. 2013;6:278.
15. Zwang J, Olliaro P, Barennes H, Bonnet M, Brasseur P, Bukirwa H, et al. Efficacy of artesunate-amodiaquine for treating uncomplicated falciparum malaria in sub-Saharan Africa: a multi-centre analysis. *Malar J*. 2009;8:203.
16. Adjei A, Narh-Bana S, Amu A, Kukula V, Nagai RA, Owusu-Agyei S, et al. Treatment outcomes in a safety observational study of dihydroartemisinin/piperazine (Eurartesim[®]) in the treatment of uncomplicated malaria at public health facilities in four African countries. *Malar J*. 2016;15:43.
17. Bouchaud O, Mühlberger N, Parola P, Calleri G, Matteelli A, Peyerl-Hoffmann G, et al. Therapy of uncomplicated falciparum malaria in Europe: MALTER—a prospective observational multicentre study. *Malar J*. 2012;11:212.
18. WHO. Guidelines for the treatment of malaria. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2015.

19. Asklung HH, Bruneel F, Burchard G, Castelli F, Chiodini PL, Grobusch MP, et al. Management of imported malaria in Europe. *Malar J*. 2012;11:328.
20. Muñoz J, Rojo-Marcos G, Ramírez-Olivencia G, Salas-Coronas J, Treviño B, Pérez Arellano JL, et al. Diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España: recomendaciones del Grupo de Trabajo de Malaria de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEMETS). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:e1–13.
21. Hatz C, Soto J, Nothdurft HD, Zoller T, Weitzel T, Loutan L, et al. Treatment of acute uncomplicated falciparum malaria with artemether-lumefantrine in nonimmune populations: a safety, efficacy, and pharmacokinetic study. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;78:241–7.
22. Le Galantzez P, Richard C, Broto H, Rapp C. Treatment of imported *Plasmodium falciparum* malaria: role of the combination of dihydroartemisinin and piperazine. *Med Sante Trop*. 2015;25:136–40.
23. Keating GM. Dihydroartemisinin/piperazine: a review of its use in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Drug*. 2012;72:937–61.
24. Nosten F, White NJ. Artemisinin-based combination treatment of falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(Suppl 6):181–92.
25. Efferth T, Kaina B. Toxicity of the antimalarial artemisinin and its derivatives. *Crit Rev Toxicol*. 2010;40:405–21.
26. Rolling T, Wichmann D, Schmiedel S, Burchard GD, Kluge S, Cramer JP. Artesunate versus quinine in the treatment of severe imported malaria: comparative analysis of adverse events focussing on delayed haemolysis. *Malar J*. 2013;12:241.
27. Rehman K, Lötsch F, Kremsner PG, Ramharter M. Haemolysis associated with the treatment of malaria with artemisinin derivatives: a systematic review of current evidence. *Int J Infect Dis*. 2014;29:268–73.
28. Jauréguiberry S, Ndour PA, Roussel C, Ader F, Safeukui I, Nguyen M, et al. Post-artesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinins. *Blood*. 2014;124:167–75.
29. Manyando C, Kayentao K, d'Alessandro U, Okafor HU, Juma E, Hamed K. A systematic review of the safety and efficacy of artemether-lumefantrine against uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria during pregnancy. *Malar J*. 2012;11:141.
30. Burger RJ, van Eijk AM, Bussink M, Hill J, Ter Kuile FO. Artemisinin-based combination therapy versus quinine or other combinations for treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in the second and third trimester of pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2015;3:170.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



4. CONCLUSIONES

Tras contextualizar todo el trabajo en la introducción realizada previamente y tras analizar los resultados de los tres estudios presentados, podemos concluir esta tesis doctoral con las siguientes afirmaciones:

- 1) La gran mayoría de los casos de malaria en nuestra área ocurren en inmigrantes subsaharianos, fundamentalmente en viajeros VFR. Es prioritario por parte de los profesionales sanitarios conocer las particularidades de este colectivo, incidiendo en los factores que dificultan la realización de medidas preventivas durante los viajes, incluyendo la adherencia a los distintos tratamientos farmacológicos, los comportamientos y hábitos durante los mismos y los problemas de salud derivados de estos. Artículo 1.
- 2) La manifestación clínica de la malaria más frecuente fue la fiebre y de forma especialmente significativa en el grupo de MM, frente al grupo de MSM. *P. falciparum* fue la especie predominante en ambos grupos. Artículo 1.
- 3) En los pacientes VFR predominan los cuadros de MM, mientras que en los pacientes no VFR, o recién llegados, predomina la MSM. Estos resultados son debidos en gran parte al cribado sistemático de esta enfermedad que se realiza en nuestra Unidad. Artículos 1 y 2.
- 4) El cribado de MSM en pacientes subsaharianos atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Poniente muestra una prevalencia de MSM ligeramente superior a la descrita en estudios realizados en áreas no endémicas. Artículo 2.
- 5) Esta prevalencia podría justificar el cribado sistemático de estos pacientes, especialmente en grupos de riesgo. Sin embargo, son necesarios estudios de

coste-efectividad que certifiquen la utilidad de la utilización de la PCR de *Plasmodium* de forma sistemática. Artículo 2.

- 6) La MSM afecta fundamentalmente a individuos semi-inmunes. Suele cursar de forma leve o asintomática y con menos citopenias que la MM. Artículo 2.
- 7) En áreas no endémicas como España, la MSM puede suponer un reservorio para la posible reintroducción de la malaria, aunque la transmisión autóctona de esta entidad en nuestro país es muy improbable. Artículo 2.
- 8) La coinfección por filarias, la presencia de hemoglobinopatías y un menor tiempo transcurrido desde la última visita a un país endémico se asociaron a una mayor probabilidad de padecer MSM. Artículo 2.
- 9) Los resultados del tercer estudio refuerzan los escasos estudios publicados hasta la fecha sobre el tratamiento con TCA de los pacientes con malaria por *P. falciparum* sin criterios de gravedad en regiones no endémicas. La TCA aclara más rápidamente la parasitemia que el tratamiento clásico y probablemente sea más costo-efectivo al reducir la estancia media hospitalaria. Artículo 3.
- 10) La TCA tiene un buen perfil de seguridad y ha demostrado ser bien tolerada. En nuestro estudio solo se registró un caso leve de hepatitis. Artículo 3.

5. OTRAS APORTACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DIRECTAMENTE DE LA TESIS DOCTORAL

5.1 Pósteres y comunicaciones orales a congresos:

- **Pousibet-Puerto J**, Cuenca-Gómez JA, Soriano-Pérez MJ, Vázquez-Villegas J, Cobo-Martínez F, Cabeza-Barrera I, Cabezas-Fernández MT, Salas-Coronas J. Paludismo por *P. falciparum* en pacientes con largas estancias en zona no endémica. VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional. Murcia 6-8 de noviembre de 2013.
- **Pousibet-Puerto J**, Soriano-Pérez MJ, Cuenca-Gómez JA, Luzón-García P, Giménez-López MJ, Salas-Coronas J. Malaria importada en área de alta inmigración. XXI Congreso de la SAEI. Sevilla 21-23 de noviembre 2019. **Premio a una de las mejores comunicaciones.**

6. INFORME DEL FACTOR DE IMPACTO Y DEL CUARTIL EN EL JOURNAL CITATION REPORT

Artículo 1: Joaquín Pousibet-Puerto, Ana Belén Lozano-Serrano, Manuel Jesús Soriano-Pérez, José Vázquez-Villegas, María José Giménez-López, María Isabel Cabeza-Barrera, José Ángel Cuenca-Gómez, Matilde Palanca-Giménez, María Pilar Luzón-García, Nerea Castillo-Fernández, María Teresa Cabezas-Fernández y Joaquín Salas-Coronas. Migration-associated malaria from Africa in southern Spain. *Parasit Vectors*. 2021; 14(1): 240.

- En el año de su publicación esta revista tenía un factor de impacto según el *Journal Citation Report* de 4.053 (Q1) CATEGORÍA: TROPICAL MEDICINE (3/24).

Artículo 2: Joaquín Pousibet-Puerto, M^a Teresa Cabezas-Fernández, Ana B. Lozano-Serrano, José Vázquez-Villegas, Manuel J. Soriano-Pérez, Isabel Cabeza-Barrera, José A. Cuenca-Gómez y Joaquín Salas-Coronas. Submicroscopic Malaria in migrants from subsaharan Africa, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(2):349-352.

- En el año de su publicación esta revista tenía un factor de impacto según el *Journal Citation Report* de 6,757, (Q1, D1). CATEGORÍA: INFECTIOUS DISEASES (7/92).

Artículo 3: Joaquín Pousibet-Puerto, Joaquín Salas-Coronas, Alicia Sánchez-Crespo, M. Angustias Molina-Arrebola, Manuel J. Soriano-Pérez, M. José Giménez-López, José Vázquez-Villegas y M. Teresa Cabezas-Fernández. Impact of using artemisinin-based combination therapy (ACT) in the treatment of uncomplicated malaria from *Plasmodium falciparum* in a non-endemic zone. *Malar J*. 2016;15(1):339.

- En el año de su publicación esta revista tenía un factor de impacto según el *Journal Citation Report* de 3,027, (Q1) CATEGORÍA: TROPICAL MEDICINE (3/19)

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Ceobanu AM, Escandell X. Comparative analyses of public attitudes toward immigrants and immigration using multinational survey data: a review of theories and research. *Annu. Rev. Sociol.* 2010; 36(1):309-328. doi:10.1146/annurev.soc.012809.102651.
2. Galiana E, Sastre Centeno JM, de Miguel Bilbao MC. Illegal immigration in Spain and Europe: Situation and outlook. *RGE [Internet]*. 2019;28(1):117-29. doi: 10.15304/rge.28.1.6143.
3. Pumares Fernández P. Efectos de la inmigración regularizada sobre el cambio en la estructura por regímenes y grupos de cotización de la Seguridad Social. *Estudios Geogr.* 2006;67(261):607-634. doi:10.3989/egeogr.2006.i261.34.
4. Instituto Nacional de Estadística. INEBASE [Internet] Madrid: INE.2022 [Consultado 25-01-2023]. Disponible en: <http://www.ine.es/>
5. Sánchez Picón A, Aznar Sánchez J.A. Diversidad migratoria en las dos orillas del Mediterráneo. De las experiencias históricas al desafío actual. *Mediterráneo Económico: Procesos migratorios, economía y personas.* 2002; 1:152-174.
6. Zarrilli, Adrián G. La huerta de Europa. *Mundo Agrario.*2003; 4 (7). [Consultado 25-01-2022]. Disponible en https://www.memoria.fahce.unlp.edu.ar/art_revistas/pr.592/pr.592.pdf
7. Vega Briones G. El asentamiento de la mujer marroquí en el Poniente Almeriense. *Migraciones internacionales.* 2007; 4(1):178-182.
8. Sánchez Miranda J. El Ejido: un fenómeno singular. *Documentación Social.* 2000;121:271-94.
9. Checa Olmos JC, Arjona Garrido A, Checa y Olmos F. El Ejido elegido: la convivencia como desafío. *Scripta Nova.* 2010;14: 310-22.
10. Checa F. Oportunidades socioeconómicas en el proceso migratorio de los inmigrantes africanos en Almería. *Agricultura y Sociedad.* 1995;77:41-82.

11. Pumares P. Problemática de la inmigración marroquí en España. *Política y Sociedad*. 1993;12:139-74.
12. Cembrero I. *La España de Alá. Cinco siglos después de la reconquista los musulmanes han vuelto. Son dos millones y siguen creciendo*. Madrid: La Esfera de los Libros; 2016.
13. Alegre-Canosa M. Educación e inmigración. ¿Un binomio problemático? *Revista de Educación*. 2008;245(34):61-82.
14. Vázquez-Villegas J. Inmigración y salud: un nuevo modelo de atención primaria para un nuevo modelo de sociedad. *Aten Primaria*. 2006;37(5):249-50. doi: 10.1157/13086302.
15. Heredia-Parejas F. Salud e inmigración. *Pasaj Cienc*. 2001;14:58-63.
16. Blanco Moreno A, Hernández Pascual J. El sistema sanitario y la inmigración en España desde la perspectiva de la política fiscal. *Gac Sanit*. 2009;23 Suppl 1:25-8. doi: 10.1016/j.gaceta.2009.08.007.
17. Oliva J, Pérez G. Inmigración y salud. *Gac Sanit*. 2009;23 Suppl 1:1-3. doi: 10.1016/j.gaceta.2009.10.002.
18. Médicos del Mundo. Inmigración [Internet]. Madrid: Médicos del Mundo. España. 2019 [Consultado 30-01-2021]. Disponible en: <https://www.medicosdelmundo.org/que-hacemos/espana/inmigracion>.
19. Ministerio de Sanidad y Consumo. Estudio de Inmigración y Salud Pública: Enfermedades Infecciosas Importadas. 2008. Dirección General de Salud Pública; Madrid. [Consultado 30-01-2021]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/estudioInmigracion.pdf>.
20. Bada JL. Enfermedades importadas. *Enf Infecc Microbiol Clin*. 1988;6:395-7.

21. Pardo Lledías J, Pérez-Arellano JL, I. Galindo Pérez I, Cordero Sánchez M, Muro Álvarez A. Cuándo pensar en enfermedades importadas. *Semergen*. 2005;31:109-116. doi:10.1016/S1138-3593(05)72895-1.
22. Cobo F, Salas-Coronas J, Cabezas-Fernández MT, Vázquez-Villegas J, Cabeza-Barrera MI, Soriano-Pérez MJ. Infectious diseases in immigrant population related to the time of residence in Spain. *J Immigr Minor Health*. 2016;18(1):8-15. doi: 10.1007/s10903-014-0141-5.
23. Pavli A, Maltezou HC. Malaria and travellers visiting friends and relatives. *Travel Med Infect Dis*. 2010;8(3):161-8. doi: 10.1016/j.tmaid.2010.01.003.
24. Norman F, Monge-Maillo B, Navarro-Beltrá M, Rodríguez-Navaza B, Guionnet A, López-Vélez R. Enfermedades infecciosas importadas por inmigrantes residentes en España que se desplazan temporalmente a sus países de origen (VFRs). [Internet]. Ministerio de Sanidad y Política Social. Madrid; 2009. [Consultado 25-01-2022] Disponible en: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/enfInfImporPaisesOrigen.pdf>
25. Ma T, Heywood A, MacIntyre CR. Travel health seeking behaviours, masks, vaccines and outbreak awareness of Australian Chinese travellers visiting friends and relatives - Implications for control of COVID-19. *Infect Dis Health*. 2021;26(1):38-47. doi: 10.1016/j.idh.2020.08.007.
26. Marasinghe DH, Cheaveau J, Meatherall B, Kuhn S, Vaughan S, Zimmer R, et al. Risk of malaria associated with travel to malaria-endemic areas to visit friends and relatives: a population-based case-control study. *CMAJ Open*. 2020;8(1):E60-E68. doi: 10.9778/cmajo.20190070.
27. Angelo KM, Libman M, Caumes E, Hamer DH, Kain KC, Leder K, et al. GeoSentinel Network. Malaria after international travel: a GeoSentinel analysis, 2003-2016. *Malar J*. 2017;16(1):293. doi: 10.1186/s12936-017-1936-3

28. Norman FF, López-Polín A, Salvador F, Treviño B, Calabuig E, Torrús D, et al. Imported malaria in Spain (2009-2016): results from the +REDIVI Collaborative Network. *Malar J.* 2017;16(1):407. doi: 10.1186/s12936-017-2057-8
29. World Health Organization. World malaria report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. [consultado 09-09-2020] Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330011/9789241565721-eng.pdf>
30. World Health Organization. (2022). World malaria report 2022. World Health Organization. [consultado 25-01-2023]. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>
31. Langhi DM Jr, Bordin JO. Duffy blood group and malaria. *Hematology.* 2006 Oct;11(5):389-98. doi: 10.1080/10245330500469841 .
32. White NJ. *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis.* 2008;46(2):172-3. doi: 10.1086/524889.
33. Grigg MJ, Snounou G. *Plasmodium simium*: a Brazilian focus of anthropozoonotic vivax malaria? *Lancet Glob Health.* 2017;5(10):e961-e962. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30343-1.
34. O'Brien SF, Delage G, Seed CR, Pillonel J, Fabra CC, Davison K, et al. The epidemiology of imported malaria and transfusion policy in 5 nonendemic countries. *Transfus Med Rev.* 2015;29(3):162-71. doi: 10.1016/j.tmr.2015.03.004.
35. European Centre for Disease Prevention and Control. Malaria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2023.
36. Crestia J, Gourmel A, Tredez C, Guiheneuf E, Boyer T. Severe airport malaria complicated by macrophage activation syndrome. *Br J Haematol.* 2020;191(5):652. doi: 10.1111/bjh.17064.

37. Hellenic National Public Health Organization. [Internet] Epidemiological surveillance report Malaria in Greece, 2021, up to 26/07/2021; 2021. [Consultado 20-01-2022] Disponible en: https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/01/MALARIA_REPORT_20210726_ENG.pdf
38. Alenou LD, Etang J. Airport malaria in non-endemic areas: new insights into mosquito vectors, case management and major challenges. *Microorganisms*. 2021;9(10):2160. doi: 10.3390/microorganisms9102160.
39. Mischlinger J, Rönnberg C, Álvarez-Martínez MJ, Bühler S, Paul M, Schlagenhaut P et al. Imported malaria in countries where malaria is not endemic: a comparison of semi-immune and nonimmune travelers. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(2):e00104-19. doi: 10.1128/CMR.00104-19.
40. Domínguez García M, Feja Solana C, Vergara Ugarriza A, Bartolomé Moreno C, Melús Palazón E, Magallón BR et al. Imported malaria cases: the connection with the European ex-colonies. *Malar J*. 2019;18(1):397. doi: 10.1186/s12936-019-3042-1.
41. Kendjo E, Houzé S, Mouri O, Taieb A, Gay F, Jauréguiberry S, et al. Epidemiologic trends in malaria incidence among travelers returning to metropolitan France, 1996–2016. *JAMA Netw Open*. 2019;2:e191691. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.1691.
42. Bueno Marí R, Jiménez Peydró R. Malaria en España: aspectos entomológicos y perspectivas de futuro. *Rev Esp Salud Publica*. 2008;82(5):467-79. doi: 10.1590/s1135-57272008000500003.
43. Trari B, Dakki M, Harbach RE. An updated checklist of the Culicidae (Diptera) of Morocco, with notes on species of historical and current medical importance. *J Vector Ecol*. 2017;42(1):94-104. doi: 10.1111/jvec.12243.
44. Huestis DL, Dao A, Diallo M, Sanogo ZL, Samake D, Yaro AS, et al. Windborne long-distance migration of malaria mosquitoes in the Sahel. *Nature*. 2019;574(7778):404-408. doi: 10.1038/s41586-019-1622-4.

45. Millet JP, García de Olalla P, Carrillo-Santistevé P, Gascón J, Treviño B, Muñoz J, et al. Imported malaria in a cosmopolitan European city: a mirror image of the world epidemiological situation. *Malar J.* 2008;7:56. doi: 10.1186/1475-2875-7-56.
46. González A, Nicolás JM, Muñoz J, Castro P, Mas J, Valls ME, et al. Severe imported malaria in adults: retrospective study of 20 cases. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81(4):595-9. doi: 10.4269/ajtmh.2009.08-0637.
47. Monge-Maillo B, Jiménez BC, Pérez-Molina JA, Norman F, Navarro M, Pérez-Ayala A, et al. Imported infectious diseases in mobile populations, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(11):1745-52. doi: 10.3201/eid1511.090718.
48. Fernández-Martínez B, Gómez-Barroso D, Díaz-García O, Cano-Portero R. Situación del paludismo en España. Evolución del tipo de notificación a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica y resumen de los resultados de la vigilancia de 2014 a 2017. *Bol Epidemiológico Sem.* 2018;26(7): 100-116.
49. Norman FF, Treviño-Maruri B, Ruiz Giardín JM, Gullón-Peña B, Salvador F, Serre N et al. +Redivi Study Group. Trends in imported malaria during the COVID-19 pandemic, Spain (+Redivi Collaborative Network). *J Travel Med.* 2022;29(6):taac083. doi: 10.1093/jtm/taac083.
50. Rojo-Marcos G, Cuadros-González J, Gete-García L, Prieto-Ríos B, Arcos-Pereda P. Paludismo importado en un hospital general de Madrid *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(3):168-71. doi: 10.1157/13099367.
51. Espinosa-Vega E, Martín-Sánchez AM, Elcuaz-Romano R, Hernández-Febles M, Molina-Cabrillana J, Pérez-Arellano JL. Malaria in paradise: characterization of imported cases in Gran Canaria Island (1993-2006). *J Travel Med.* 2011;18(3):165-72. doi: 10.1111/j.1708-8305.2011.00503.x.
52. Gascón i Brustenga J. Paludismo importado por inmigrantes. *An Sist Sanit Navar.* 2006;29 Suppl 1:121-5.

53. Pascua-Santamaría AE, Torrús-Tendero D, Mira-Perceval G, García-Galán P, Ramos-Rincón JM. Imported malaria in children in Alicante, Spain (1994-2019). *Biomedica*. 2022;42(2):244-252. doi: 10.7705/biomedica.6068.
54. Santa-Olalla P, Vazquez-Torres MC, Latorre-Fandos E, Mairal-Claver P, Cortina-Solano P, Puy-Azón A, et al. First autochthonous malaria case due to *P vivax* since eradication, Spain, October 2010. *Euro Surveill*. 2010;15(41):19684. doi: 10.2807/ese.15.41.19684-en.
55. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la Vigilancia Epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2014. Madrid; 2016.
56. Departamento de Sanidad Gobierno de Aragón. Semana 51/2019 (16/12/2019 al 22/12/2019); 2019. ISSN 1988-8406. [Consultado 25-01-2022]. Disponible en: <https://www.aragon.es/documents/20127/1650151/BOLETIN+ARAGON+201951.pdf/4546c4a8-d57e-8f21-18a9-8471dfce13fb?t=1577436692665>
57. Instituto Nacional de Estadística [INE]. Madrid, 2022. Padrón municipal. Datos provisionales; 1 enero 2022 [Consultado 9 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.ine.es>
58. Salas-Coronas J, Cabezas-Fernández MT, Lozano-Serrano AB, Soriano-Pérez MJ, Vázquez-Villegas J, Cuenca-Gómez JÁ. Newly arrived African migrants to Spain: epidemiology and burden of disease. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(1):319-325. doi: 10.4269/ajtmh.17-0604.
59. Kiszewski A, Mellinger A, Spielman A, Malaney P, Sachs SE, Sachs J. A global index representing the stability of malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70(5):486-98.
60. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Malaria. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria [Consultado 16 julio 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>

61. Imwong M, Snounou G, Pukrittayakamee S, Tanomsing N, Kim JR, Nandy A et al. Relapses of *Plasmodium vivax* infection usually result from activation of heterologous hypnozoites. *J Infect Dis.* 2007;195(7):927-33. doi: 10.1086/512241.
62. Milner DA Jr. Malaria Pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8(1):a025569. doi: 10.1101/cshperspect.a025569.
63. Aird WC, Mosnier LO, Fairhurst RM. *Plasmodium falciparum* picks (on) EPCR. *Blood.* 2014;123(2):163-7. doi: 10.1182/blood-2013-09-521005.
64. Newbold C, Craig A, Kyes S, Rowe A, Fernandez-Reyes D, Fagan T. Cytoadherence, pathogenesis and the infected red cell surface in *Plasmodium falciparum*. *Int J Parasitol.* 1999;29(6):927-37. doi: 10.1016/s0020-7519(99)00049-1.
65. Oh SS, Chishti AH, Palek J, Liu SC. Erythrocyte membrane alterations in *Plasmodium falciparum* malaria sequestration. *Curr Opin Hematol.* 1997;4(2):148-54. doi: 10.1097/00062752-199704020-00012.
66. Aikawa M. Morphological changes in erythrocytes induced by malarial parasites. *Biol Cell.* 1988;64(2):173-81. doi: 10.1016/0248-4900(88)90077-9.
67. Sharma YD. Knobs, knob proteins and cytoadherence in falciparum malaria. *Int J Biochem.* 1991;23(9):775-89. doi: 10.1016/0020-711x(91)90061-q.
68. Sharma YD. Knob proteins in falciparum malaria. *Indian J Med Res.* 1997;106:53-62.
69. Ponsford MJ, Medana IM, Prapansilp P, Hien TT, Lee SJ, Dondorp AM et al. Sequestration and microvascular congestion are associated with coma in human cerebral malaria. *J Infect Dis.* 2012;205(4):663-71. doi: 10.1093/infdis/jir812.
70. Nagel RL, Fleming AF. Genetic epidemiology of the beta s gene. *Baillieres Clin Haematol.* 1992;5(2):331-65. doi: 10.1016/s0950-3536(11)80023-5.

71. Flint J, Harding RM, Clegg JB, Boyce AJ. Why are some genetic diseases common? Distinguishing selection from other processes by molecular analysis of globin gene variants. *Hum Genet.* 1993;91(2):91-117. doi: 10.1007/BF00222709.
72. Aidoo M, Terlouw DJ, Kolczak MS, McElroy PD, ter Kuile FO, Kariuki S et al. Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet.* 2002;359(9314):1311-2. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08273-9.
73. Crompton PD, Moebius J, Portugal S, Waisberg M, Hart G, Garver LS et al. Malaria immunity in man and mosquito: insights into unsolved mysteries of a deadly infectious disease. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:157-87. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120220.
74. Schwartz E, Parise M, Kozarsky P, Cetron M. Delayed onset of malaria--implications for chemoprophylaxis in travelers. *N Engl J Med.* 2003;349(16):1510-6. doi: 10.1056/NEJMoa021592.
75. WHO. World Health Organization. International travel and health: Malaria [Consultado 20 marzo 2022]. Disponible en: https://www.who.int/health-topics/malaria#tab=tab_1
76. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Malaria. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria [Consultado 22 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html>
77. Mühlberger N, Jelinek T, Gascon J, Probst M, Zoller T, Schunk M et al. Epidemiology and clinical features of vivax malaria imported to Europe: sentinel surveillance data from TropNetEurop. *Malar J.* 2004;3:5. doi: 10.1186/1475-2875-3-5.
78. Desai M, ter Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamo K, Brabin B et al. Epidemiology and burden of malaria in pregnancy. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(2):93-104. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70021-X.

79. Wilson ME, Weld LH, Boggild A, Keystone JS, Kain KC, von Sonnenburg F et al; GeoSentinel Surveillance Network. Fever in returned travelers: results from the GeoSentinel Surveillance Network. *Clin Infect Dis.* 2007;44(12):1560-8. doi: 10.1086/518173.
80. Svenson JE, MacLean JD, Gyorkos TW, Keystone J. Imported malaria. Clinical presentation and examination of symptomatic travelers. *Arch Intern Med.* 1995;155(8):861-8. doi: 10.1001/archinte.155.8.861.
81. WHO Guidelines for malaria, 25 November 2022. Geneva: World Health Organization; 2022 [Consultado 4 enero 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/guidelines-for-malaria>
82. White NJ, Ashley EA. Paludismo. En: Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. eds. *Harrison. Principios de Medicina Interna*, 20e. McGraw Hill; 2018.
83. Taylor SM, Molyneux ME, Simel DL, Meshnick SR, Juliano JJ. Does this patient have malaria? *JAMA.* 2010;304(18):2048-56. doi: 10.1001/jama.2010.1578.
84. Ramírez Cuentas JH, Urtasun Erburu A, Roselló Guijarro M, Garrido Jareño M, Peman García J, Otero Reigada MDC. Estudio descriptivo de los casos de malaria en la población pediátrica en un hospital de referencia de Valencia, España, entre 1993 y 2015. *An Pediatr (Engl Ed).* 2020;92(1):21-27. doi: 10.1016/j.anpedi.2019.03.008.
85. Mc Gready R, Wongsan K, Chu CS, Tun NW, Chotivanich K, White NJ et al. Uncomplicated *Plasmodium vivax* malaria in pregnancy associated with mortality from acute respiratory distress syndrome. *Malar J.* 2014; 13:191. doi: 10.1186/1475-2875-13-191.
86. Conroy AL, Hawkes M, Elphinstone RE, Morgan C, Hermann L, Barker KR et al. Acute kidney injury is common in pediatric severe malaria and is associated with increased mortality. *Open Forum Infect Dis.* 2016;3(2):ofw046. doi: 10.1093/ofid/ofw046.

87. Von Seidlein L, Olaosebikan R, Hendriksen IC, Lee SJ, Adedoyin OT, Agbenyega T et al. Predicting the clinical outcome of severe falciparum malaria in african children: findings from a large randomized trial. *Clin Infect Dis*. 2012;54(8):1080-90. doi: 10.1093/cid/cis034.
88. Bruneel F, Tubach F, Corne P, Megarbane B, Mira JP, Peytel E, et al. Severe Imported Malaria in Adults (SIMA) Study Group. Severe imported falciparum malaria: a cohort study in 400 critically ill adults. *PLoS One*. 2010;5(10):e13236. doi: 10.1371/journal.pone.0013236.
89. Dondorp AM, Lee SJ, Faiz MA, Mishra S, Price R, Tjitra, et. al. The relationship between age and the manifestations of and mortality associated with severe malaria. *Clin Infect Dis*. 2008;47(2):151-7. doi: 10.1086/589287.
90. John CC, Kutamba E, Mugarura K, Opoka RO. Adjunctive therapy for cerebral malaria and other severe forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(9):997-1008. doi: 10.1586/eri.10.90.
91. Zimmerman GA, Castro-Faria-Neto H. Persistent cognitive impairment after cerebral malaria: models, mechanisms and adjunctive therapies. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(11):1209-12. doi: 10.1586/eri.10.117.
92. Shikani HJ, Freeman BD, Lisanti MP, Weiss LM, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Cerebral malaria: we have come a long way. *Am J Pathol*. 2012;181(5):1484-92. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.08.010.
93. Bangirana P, Opoka RO, Boivin MJ, Idro R, Hodges JS, Romero RA et al. Severe malarial anemia is associated with long-term neurocognitive impairment. *Clin Infect Dis*. 2014;59(3):336-44. doi: 10.1093/cid/ciu293.
94. Boivin MJ. Effects of early cerebral malaria on cognitive ability in Senegalese children. *J Dev Behav Pediatr*. 2002;23(5):353-64. doi: 10.1097/00004703-200210000-00010.
95. Fernando SD, Rodrigo C, Rajapakse S. The 'hidden' burden of malaria: cognitive impairment following infection. *Malar J*. 2010;9:366. doi: 10.1186/1475-2875-9-366.

96. Reyburn H, Mbatia R, Drakeley C, Bruce J, Carneiro I, Olomi R, et al. Association of transmission intensity and age with clinical manifestations and case fatality of severe *Plasmodium falciparum* malaria. *JAMA*. 2005;293(12):1461-70. doi: 10.1001/jama.293.12.1461.
97. Ranque S, Safeukui I, Poudiougou B, Traoré A, Keita M, Traoré D, et al. Familial aggregation of cerebral malaria and severe malarial anemia. *J Infect Dis*. 2005 Mar 1;191(5):799-804. doi: 10.1086/427238.
98. Idro R, Ndiritu M, Ogutu B, Mithwani S, Maitland K, Berkley J, et al. Burden, features, and outcome of neurological involvement in acute falciparum malaria in Kenyan children. *JAMA*. 2007;297(20):2232-40. doi: 10.1001/jama.297.20.2232.
99. Hochman SE, Madaline TF, Wassmer SC, Mbale E, Choi N, Seydel KB, et al. Fatal pediatric cerebral malaria is associated with intravascular monocytes and platelets that are increased with HIV coinfection. *mBio*. 2015;6(5):e01390-15. doi: 10.1128/mBio.01390-15.
100. Idro R, Jenkins NE, Newton CR. Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria. *Lancet Neurol*. 2005;4(12):827-40. doi: 10.1016/S1474-4422(05)70247-7.
101. Murphy SC, Breman JG. Gaps in the childhood malaria burden in Africa: cerebral malaria, neurological sequelae, anemia, respiratory distress, hypoglycemia, and complications of pregnancy. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;64(1-2 Suppl):57-67. doi: 10.4269/ajtmh.2001.64.57.
102. Krishna S, Waller DW, ter Kuile F, Kwiatkowski D, Crawley J, Craddock CF, et al. Lactic acidosis and hypoglycaemia in children with severe malaria: pathophysiological and prognostic significance. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994;88(1):67-73. doi: 10.1016/0035-9203(94)90504-5.
103. Conroy AL, Hawkes M, Elphinstone RE, Morgan C, Hermann L, Barker KR, et al. Acute Kidney Injury Is Common in Pediatric Severe Malaria and Is

- Associated With Increased Mortality. *Open Forum Infect Dis.* 2016;3(2):ofw046. doi: 10.1093/ofid/ofw046.
104. Barsoum RS. Malarial acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11(11):2147-2154. doi: 10.1681/ASN.
105. Taylor WRJ, Hanson J, Turner GDH, White NJ, Dondorp AM. Respiratory manifestations of malaria. *Chest.* 2012;142(2):492-505. doi: 10.1378/chest.11-2655.
106. Muñoz J, Rojo-Marcos G, Ramírez-Olivencia G, Salas-Coronas J, Treviño B, Perez Arellano JL, et al. Diagnóstico y tratamiento de la malaria importada en España: recomendaciones del Grupo de Trabajo de Malaria de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015;33(6):e1-e13. doi: 10.1016/j.eimc.2013.12.014.
107. WHO. Management of severe malaria. A Practical Handbook. 3rd ed. World Health Organization; 2012.
108. Morpeth SC, Ramadhani HO, Crump JA. Invasive non-Typhi Salmonella disease in Africa. *Clin Infect Dis.* 2009;49(4):606-11. doi: 10.1086/603553.
109. Patrick Kachur S, Schulden J, Goodman CA, Kassala H, Elling BF, Khatib RA et al. Prevalence of malaria parasitemia among clients seeking treatment for fever or malaria at drug stores in rural Tanzania 2004. *Trop Med Int Health.* 2006;11(4):441-51. doi: 10.1111/j.1365-3156.2006.01588.x.
110. Hopkins H, Bebell L, Kambale W, Dikomajilar C, Rosenthal PJ, Dorsey G. Rapid diagnostic tests for malaria at sites of varying transmission intensity in Uganda. *J Infect Dis.* 2008 ;197(4):510-8. doi: 10.1086/526502.
111. Olivar M, Develoux M, Chegou Abari A, Loutan L. Presumptive diagnosis of malaria results in a significant risk of mistreatment of children in urban Sahel. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991;85(6):729-30. doi: 10.1016/0035-9203(91)90432-x.
112. Varo R, Chaccour C, Bassat Q. Update on malaria. *Med Clin (Barc).* 2020;155(9):395-402. doi: 10.1016/j.medcli.2020.05.010.

113. Cañavate C, Cuadros J, Martinez Ruiz R, Martin-Rabadan P. El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas. Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2009. [Consultado 12-04-2022]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia35.pdf>
114. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(6 Suppl):119-27.
115. Bell D, Peeling RW; WHO-Regional Office for the Western Pacific/TDR. Evaluation of rapid diagnostic tests: malaria. *Nat Rev Microbiol.* 2006;4(9 Suppl):S34-8. doi: 10.1038/nrmicro1524.
116. Ho MF, Baker J, Lee N, Luchavez J, Ariey F, Nhem S et al. Circulating antibodies against *Plasmodium falciparum* histidine-rich proteins 2 interfere with antigen detection by rapid diagnostic tests. *Malar J.* 2014;13:480. doi: 10.1186/1475-2875-13-480.
117. Snounou G, Singh B. Nested PCR analysis of *Plasmodium* parasites. *Methods Mol Med.* 2002;72:189-203. doi: 10.1385/1-59259-271-6:189.
118. Rubio JM, Post RJ, van Leeuwen WM, Henry MC, Lindergard G, Hommel M. Alternative polymerase chain reaction method to identify *Plasmodium* species in human blood samples: The semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96:199-204. doi: 10.1016/s0035-9203(02)90077-5.
119. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(12):E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63.
120. Poon LL, Wong BW, Ma EH, Chan KH, Chow LM, Abeyewickreme W et al. Sensitive and inexpensive molecular test for falciparum malaria: detecting *Plasmodium falciparum* DNA directly from heat-treated blood by loop-mediated

- isothermal amplification. *Clin Chem.* 2006;52(2):303-6. doi: 10.1373/clinchem.2005.057901.
121. Hopkins H, González IJ, Polley SD, Angutoko P, Ategeka J, Asiimwe C et al. Highly sensitive detection of malaria parasitemia in a malaria-endemic setting: performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. *J Infect Dis.* 2013;208(4):645-52. doi: 10.1093/infdis/jit184.
 122. Patel JC, Lucchi NW, Srivastava P, Lin JT, Sug-Aram R, Aruncharus S, et al. Field evaluation of a real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification assay, RealAmp, for the diagnosis of malaria in Thailand and India. *J Infect Dis.* 2014;210(8):1180-7. doi: 10.1093/infdis/jiu252.
 123. Perera RS, Ding XC, Tully F, Oliver J, Bright N, Bell D, et al. Development and clinical performance of high throughput loop-mediated isothermal amplification for detection of malaria. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171126. doi: 10.1371/journal.pone.0171126.
 124. Serra-Casas E, Manrique P, Ding XC, Carrasco-Escobar G, Alava F, Gave A, et al. Loop-mediated isothermal DNA amplification for asymptomatic malaria detection in challenging field settings: Technical performance and pilot implementation in the Peruvian Amazon. *PLoS One.* 2017;12(10):e0185742. doi: 10.1371/journal.pone.0185742.
 125. Achan J, Talisuna AO, Erhart A, Yeka A, Tibenderana JK, Baliraine FN, et al. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. *Malar J.* 2011;10:144. doi: 10.1186/1475-2875-10-144.
 126. Sagara I, Fofana B, Gaudart J, Sidibe B, Togo A, Toure S, et al. Repeated artemisinin-based combination therapies in a malaria hyperendemic area of Mali: Efficacy, safety, and public health impact. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87(1):50-6. doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0649.
 127. Zwang J, Olliaro P, Barennes H, Bonnet M, Brasseur P, Bukirwa H, et al. Efficacy of artesunate-amodiaquine for treating uncomplicated falciparum

- malaria in sub-Saharan Africa: a multi-centre analysis. *Malar J.* 2009;8:203. doi: 10.1186/1475-2875-8-203.
128. Bouchaud O, Mühlberger N, Parola P, Calleri G, Matteelli A, Peyerl-Hoffmann G, et al. Therapy of uncomplicated falciparum malaria in Europe: MALTHER – a prospective observational multicentre study. *Malar J.* 2012;11:212. doi: 10.1186/1475-2875-11-212.
 129. Adjei A, Narh-Bana S, Amu A, Kukula V, Nagai RA, Owusu-Agyei S et al. Treatment outcomes in a safety observational study of dihydroartemisinin/piperazine (Eurartesim[®]) in the treatment of uncomplicated malaria at public health facilities in four African countries. *Malar J.* 2016; 15(1):43. doi: 10.1186/s12936-016-1099-7.
 130. Plewes K, Leopold SJ, Kingston HWF, Dondorp AM. Malaria: What’s new in the management of malaria? *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(1):39-60. doi: 10.1016/j.idc.2018.10.002.
 131. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, Chhaganlal KD, et al. South East Asian Quinine Artesunate Malaria Trial (SEAQUAMAT) group. Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria: a randomised trial. *Lancet* 2005; 366(9487):717–25. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67176-0.
 132. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, Chhaganlal KD, et al. Artesunate versus quinine in the treatment of severe falciparum malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. *Lancet.* 2010; 376(9753) :1647-57. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61924-1.
 133. Eder M, Farne H, Cargill T, Abbara A, Davidson RN. Intravenous artesunate versus intravenous quinine in the treatment of severe falciparum malaria: a retrospective evaluation from a UK centre. *Pathog Glob Health.* 2012; 106(3):181-7. doi: 10.1179/2047773212Y.0000000032.
 134. Kurth F, Develoux M, Mechain M, Clerinx J, Antinori S, Gjørup IE, et al. Intravenous artesunate reduces parasite clearance time, duration of intensive care

- and hospital treatment in patients with severe malaria in Europe: the TropNet Severe Malaria Study. *Clin Infect Dis*. 2015;61(9):1441-4. doi: 10.1093/cid/civ575.
135. Ippolito MM, Johnson J, Mullin C, Mallow C, Morgan N, Wallender E, et al. The relative effects of artemether-lumefantrine and non-artemisinin antimalarials on gametocyte carriage and transmission of *Plasmodium falciparum*: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2017; 65:486. doi: 10.1093/cid/cix336.
 136. White NJ, Qiao LG, Qi G, Luzzatto L. Rationale for recommending a lower dose of primaquine as a *Plasmodium falciparum* gametocytocide in populations where G6PD deficiency is common. *Malar J* 2012; 11:418. doi: 10.1186/1475-2875-11-418.
 137. Smithuis F, Kyaw MK, Phe O, Win T, Aung PP, Oo AP, et al. Effectiveness of five artemisinin combination regimens with or without primaquine in uncomplicated falciparum malaria: an open-label randomised trial. *Lancet Infect Dis* 2010; 10:673. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70187-0.
 138. Brejt JA, Golightly LM. Severe malaria: update on pathophysiology and treatment. *Curr Opin Infect Dis*. 2019;32(5):413-418. doi: 10.1097/QCO.0000000000000584.
 139. Ashley EA, Poespoprodjo JR. Treatment and prevention of malaria in children. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020;4(10):775-789. doi: 10.1016/S2352-4642(20)30127-9.
 140. Seringe E, Thellier M, Fontanet A, Legros F, Bouchaud O, Ancelle T, et al. Severe imported *Plasmodium falciparum* malaria, France, 1996-2003. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(5):807-13. doi: 10.3201/eid1705.101527.
 141. Baird JK. Severe and fatal vivax malaria challenges 'benign tertian malaria' dogma. *Ann Trop Paediatr*. 2009;29(4):251-2. doi: 10.1179/027249309X12547917868808.

142. Cox-Singh J, Hiu J, Lucas SB, Divis PC, Zulkarnaen M, Chandran P, et al. Severe malaria - a case of fatal *Plasmodium knowlesi* infection with post-mortem findings: a case report. *Malar J.* 2010;9:10. doi: 10.1186/1475-2875-9-10.
143. Gomes MF, Faiz MA, Gyapong JO, Warsame M, Agbenyega T, Babiker A, et al; Study 13 Research Group. Pre-referral rectal artesunate to prevent death and disability in severe malaria: a placebo-controlled trial. *Lancet.* 2009;373(9663):557-66. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61734-1.
144. Rolling T, Schmiedel S, Wichmann D, Wittkopf D, Burchard GD, Cramer JP. Post-treatment haemolysis in severe imported malaria after intravenous artesunate: case report of three patients with hyperparasitaemia. *Malar J.* 2012;11:169. doi: 10.1186/1475-2875-11-169.
145. Kreeftmeijer-Vegter AR, van Genderen PJ, Visser LG, Bierman WF, Clerinx J, van Veldhuizen CK, et al. Treatment outcome of intravenous artesunate in patients with severe malaria in the Netherlands and Belgium. *Malar J.* 2012;11:102. doi: 10.1186/1475-2875-11-102.
146. Zoller T, Junghanss T, Kapaun A, Gjorup I, Richter J, Hugo-Persson M, et al. Intravenous artesunate for severe malaria in travelers, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(5):771-7. doi: 10.3201/eid1705.101229.
147. Caramello P, Balbiano R, De Blasi T, Chiriotto M, Deagostini M, Calleri G. Severe malaria, artesunate and haemolysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(8):2053-4. doi: 10.1093/jac/dks139.
148. Angus BJ, Chotivanich K, Udomsangpetch R, White NJ. In vivo removal of malaria parasites from red blood cells without their destruction in acute falciparum malaria. *Blood.* 1997;90(5):2037-40.
149. Chotivanich K, Udomsangpetch R, Dondorp A, Williams T, Angus B, Simpson JA et al. The mechanisms of parasite clearance after antimalarial treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 2000;182(2):629-33. doi: 10.1086/315718.

150. Hall SA, Wilks NE. A trial of chloroquine-medicated salt for malaria suppression in Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 1967;16(4):429–42. doi: 10.4269/ajtmh.1967.16.429.
151. Ashley EA, Pyae Phyo A, Woodrow CJ. Malaria. *Lancet*. 2018;391(10130):1608-1621doi: 10.1016/S0140-6736(18)30324-6.
152. WHO. Report on antimalarial drug efficacy, resistance and response: 10 years of surveillance (2010–2019). Geneva: World Health Organization; 2020.
153. Noedl H, Se Y, Schaecher K, Smith BL, Socheat D, Fukuda MM; Artemisinin Resistance in Cambodia 1 (ARC1) Study Consortium. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med*. 2008;359(24):2619-20. doi: 10.1056/NEJMc0805011.
154. Hassett MR, Roepe PD. Origin and spread of evolving artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malarial parasites in Southeast Asia. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;101(6):1204-1211. doi: 10.4269/ajtmh.19-0379.
155. Dogovski C, Xie SC, Burgio G, Bridgford J, Mok S, McCaw JM, et al. Targeting the cell stress response of *Plasmodium falciparum* to overcome artemisinin resistance. *PLoS Biol*. 2015;13(4):e1002132. doi: 10.1371/journal.pbio.1002132.
156. Tun KM, Imwong M, Lwin KM, Win AA, Hlaing TM, Hlaing T. Spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Myanmar: a cross-sectional survey of the K13 molecular marker. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(4):415-21. doi: 10.1016/S1473-3099(15)70032-0.
157. Kayiba NK, Yobi DM, Tshibangu-Kabamba E, Tuan VP, Yamaoka Y, Devleeschauwer B, et al. Spatial and molecular mapping of Pfk13 gene polymorphism in Africa in the era of emerging *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(4):e82-e92. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30493-X.
158. Chenet SM, Akinyi Okoth S, Huber CS, Chandrabose J, Lucchi NW, Talundzic E, et al. Independent emergence of the *Plasmodium falciparum* Kelch propeller

- domain mutant allele C580Y in Guyana. *J Infect Dis.* 2016;213(9):1472-5. doi: 10.1093/infdis/jiv752.
159. Hermsen CC, Telgt DS, Linders EH, van de Locht LA, Eling WM, Mensink EJ, et al. Detection of *Plasmodium falciparum* malaria parasites in vivo by real-time quantitative PCR. *Mol Biochem Parasitol.* 2001;118(2):247-51. doi: 10.1016/s0166-6851(01)00379-6.
160. Moncunill G, Mayor A, Jiménez A, Nhabomba A, Casas-Vila N, Puyol L, et al. High antibody responses against *Plasmodium falciparum* in immigrants after extended periods of interrupted exposure to malaria. *PLoS One.* 2013;8(8):e73624. doi:10.1371/journal.pone.0073624.
161. Doolan DL, Dobaño C, Baird JK. Acquired immunity to malaria. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):13-36. doi: 10.1128/CMR.00025-08.
162. De Mast Q, Brouwers J, Syafruddin D, Bousema T, Baidjoe AY, de Groot PG, et al. Is asymptomatic malaria really asymptomatic? Hematological, vascular and inflammatory effects of asymptomatic malaria parasitemia. *J Infect.* 2015;71(5):587-96. doi: 10.1016/j.jinf.2015.08.005.
163. Akiyama T, Pongvongsa T, Phrommala S, Taniguchi T, Inamine Y, Takeuchi R, et al. Asymptomatic malaria, growth status, and anaemia among children in Lao People's Democratic Republic: a cross-sectional study. *Malar J.* 2016;15(1):499. doi: 10.1186/s12936-016-1548-3.
164. Cottrell G, Moussiliou A, Luty AJ, Cot M, Fievet N, Massougbodji A, et al. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* infections are associated with maternal anemia, premature births, and low birth weight. *Clin Infect Dis.* 2015;60(10):1481-8. doi: 10.1093/cid/civ122.
165. Monge-Maillo B, Norman F, Pérez-Molina JA, Díaz-Menéndez M, Rubio JM, López-Vélez R. *Plasmodium falciparum* in asymptomatic immigrants from sub-Saharan Africa, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(2):356-7. doi: 10.3201/eid1802.111283.

166. Salas-Coronas J, Soriano-Pérez MJ, Lozano-Serrano AB, Pérez-Moyano R, Porrino-Herrera C, Cabezas-Fernández MT. Symptomatic falciparum malaria after living in a nonendemic area for 10 years: recrudescence or indigenous transmission? *Am J Trop Med Hyg.* 2017;96(6):1427-1429. doi: 10.4269/ajtmh.17-0031.
167. Okell LC, Ghani AC, Lyons E, Drakeley CJ. Submicroscopic infection in *Plasmodium falciparum*-endemic populations: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis.* 2009;200(10):1509-17. doi: 10.1086/644781.
168. Matisz CE, Naidu P, Shokoples SE, Grice D, Krinke V, Brown SZ, et al. Post-arrival screening for malaria in asymptomatic refugees using real-time PCR. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(1):161-5. doi: 10.4269/ajtmh.2011.10-0494.
169. Ouédraogo AL, Bousema T, Schneider P, de Vlas SJ, Ilboudo-Sanogo E, Cuzin-Ouattara N, et al. Substantial contribution of submicroscopical *Plasmodium falciparum* gametocyte carriage to the infectious reservoir in an area of seasonal transmission. *PLoS One.* 2009;4(12):e8410. doi: 10.1371/journal.pone.0008410.
170. Moonen B, Cohen JM, Snow RW, Slutsker L, Drakeley C, Smith DL, et al. Operational strategies to achieve and maintain malaria elimination. *Lancet.* 2010;376(9752):1592-603. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61269-X.
171. Hsiang MS, Hwang J, Kunene S, Drakeley C, Kandula D, Novotny J, et al. Surveillance for malaria elimination in Swaziland: a national cross-sectional study using pooled PCR and serology. *PLoS One.* 2012;7(1):e29550. doi: 10.1371/journal.pone.0029550.
172. Ramírez-Olivencia G, Rubio JM, Rivas P, Subirats M, Herrero MD, Lago M, et al. Imported submicroscopic malaria in Madrid. *Malar J.* 2012;11:324. doi: 10.1186/1475-2875-11-324.
173. Kolbaum J, Tartz S, Hartmann W, Helm S, Nagel A, Heussler V, et al. Nematode-induced interference with the anti-*Plasmodium* CD8+ T-cell response

- can be overcome by optimizing antigen administration. *Eur J Immunol.* 2012;42(4):890-900. doi: 10.1002/eji.201141955.
174. Metenou S, Kovacs M, Dembele B, Coulibaly YI, Klion AD, Nutman TB. Interferon regulatory factor modulation underlies the bystander suppression of malaria antigen-driven IL-12 and IFN- γ in filaria–malaria co-infection. *Eur J Immunol.* 2012; 42(3): 641–650. doi:10.1002/eji.201141991.
175. Metenou S, Babu S, Nutman TB. Impact of filarial infections on coincident intracellular pathogens: *Mycobacterium tuberculosis* and *Plasmodium falciparum*. *Curr Opin HIV AIDS.* 2012;7(3):231-8. doi: 10.1097/COH.0b013e3283522c3d.
176. Specht S, Ruiz DF, Dubben B, Deininger S, Hoerauf A. Filaria-induced IL-10 suppresses murine cerebral malaria. *Microbes Infect.* 2010;12(8-9):635-42. doi: 10.1016/j.micinf.2010.04.006.
177. Danquah II, Ziniel P, Eggelte TA, Ehrhardt S, Mockenhaupt FP. Influence of haemoglobins S and C on predominantly asymptomatic *Plasmodium* infections in northern Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104(11):713-9. doi: 10.1016/j.trstmh.2010.08.001.

