

MALARIA Y LA RESISTENCIA A ANTIMALARICOS

Dary Luz Mendoza Meza*

RESUMEN

La resistencia del parásito *Plasmodium falciparum* a antimaláricos es uno de los factores contribuyentes al aumento de la prevalencia de la malaria en el mundo. La aparición de cepas resistentes a la cloroquina, llevó al desarrollo de nuevos medicamentos a los que el parásito a logrado desarrollar resistencia. En la actualidad la combinación pirimetamina- sulfadoxina más amodiaquina, es la terapéutica utilizada cuando hay resistencia a cloroquina; sin embargo, la resistencia a la primera, ya se ha reportado en algunas regiones endémicas. El resurgimiento y rápida dispersión de la resistencia han motivado el desarrollo de diferentes estrategias para su estudio y detección temprana, tales como la determinación de la resistencia *In vivo*, la evaluación *In vitro* de la sensibilidad del parásito a drogas antimaláricas y las pruebas moleculares, tales como el estudio de polimorfismos genéticos. Sin embargo, se ha encontrado baja correlación entre la prevalencia *In vivo* y la resistencia *In vitro* a los antimalaricos. Investigaciones recientes en malaria sobre las relaciones entre el genotipo del parásito y la clínica de la enfermedad permitirían el uso de las pruebas moleculares para obtener información sobre fallas terapéuticas con antimalaricos en zonas endémicas.

Palabras clave: *P. falciparum*, resistencia, antimalaricos, métodos de diagnóstico, polimorfismos.

SUMMARY

The *Plasmodium falciparum* resistance to antimalarial drugs is one of the contributing factors which influence the increasing prevalence of malaria all over the world. The appearance of parasite strain resistance to chloroquine conducted to the development of new drugs to which the plasmodium had also created resistance. Now a days the combination pyrimethamine-sulfadoxine in addition to amodiaquine is so far the therapeutic form used when there is chloroquine resistance; however resistance to pyrimethamine-sulfadoxine has been already reported in some endemic regions. The resurgence and fast dispead of this resistance is the main reason for the development and improvement of diferent strategies for it's study so as the resistance determination *In vivo*, *In vivo* evaluation of the parasite strain sensitivity to drugs and molecular test such as genetic polymorphism studies. But a low correlation was founded between the *In vivo* prevalence and *In vitro* resistance to antimalarial drugs. Trends in malaria on the relationship between parasite genotype and clinical outcome would alow the use molecular test to obtain information on treatment failure with antimalarial drugs in endemic zones.

Key words: *P. falciparum*, resistance, antimalarial drugs, diagnostic methods, polymorphism.

* Química Farmacéutica. Magister en Ciencias Bioquímicas. Docente e investigadora del grupo de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Magdalena.

Trabajo recibido el 22 de junio de 2004 y aceptado el 10 de agosto de 2004

INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad infecciosa causada por parásitos del género *Plasmodium*, de los cuales *P. falciparum* es el causante de la forma más severa de malaria humana; es transmitida por el mosquito *Anopheles sp*, vector que inocula el parásito en el torrente sanguíneo del reservorio humano, quien sufre la enfermedad. Entre las enfermedades transmitidas por vectores la malaria es la causante de los mayores índices de morbilidad y mortalidad a nivel mundial¹. Cerca de 2.400 millones de personas, 40% del total de la población mundial, vive en áreas maláricas y se estima que cada año entre 500 a 300 millones de personas se infectan de malaria, de las cuales 1.5 a 2.7 millones mueren, siendo la población más vulnerable los niños menores de 5 años y las mujeres embarazadas². El 90% de los casos de malaria se dan en el África, el resto se encuentra distribuida en países tropicales como Colombia.

Esta revisión tiene por objeto divulgar aspectos generales y resumir lo encontrado en la literatura sobre la resistencia a medicamentos antimalaricos y su asociación con la prevalencia de la enfermedad en el mundo, tema objeto de intenso estudio durante los últimos años y que ha llevado a un mayor entendimiento de los mecanismos moleculares

implicados en la resistencia y el diseño de metodologías apropiadas para una detección temprana que permitan implementar medidas de intervención en salud pública.

Prevalencia de la Malaria en Colombia y en el Municipio del Magdalena:

En Colombia, cerca del 65% de la población habita en zonas con altitudes inferiores a 1.800 metros sobre el nivel del mar, donde las condiciones de temperatura, humedad y lluvias facilitan la reproducción del vector *Anopheles sp* y propician condiciones para la transmisión de la malaria, constituyéndose así en zonas endémicas para esta enfermedad³. El mayor porcentaje de los casos de malaria reportados en Colombia son causados por *P. vivax*, seguido por *P. falciparum* y en menor porcentaje, aproximadamente el 0,1%, por *P. malariae*⁴. Según el Ministerio de la Protección social, en 1998 y 1999 los departamentos con mayor número de casos reportados de malaria fueron: Choco, Córdoba, Antioquia, Meta, Guaviare y Nariño⁵.

Durante los últimos años la notificación de casos de malaria estuvo aumentada en Colombia, situación que se vio reflejada en el Departamento del Magdalena (figuras 1 y 2), donde el comportamiento epidemiológico de la enfermedad parece estar influenciado por los cambios moderados en la

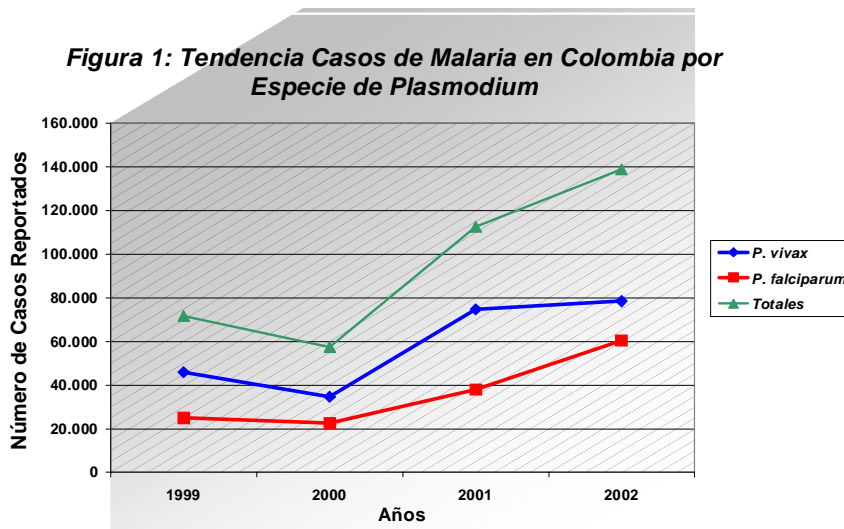


Figura 2: Tendencia Casos de Malaria en el Departamento del Magdalena por Especie de Plasmodium

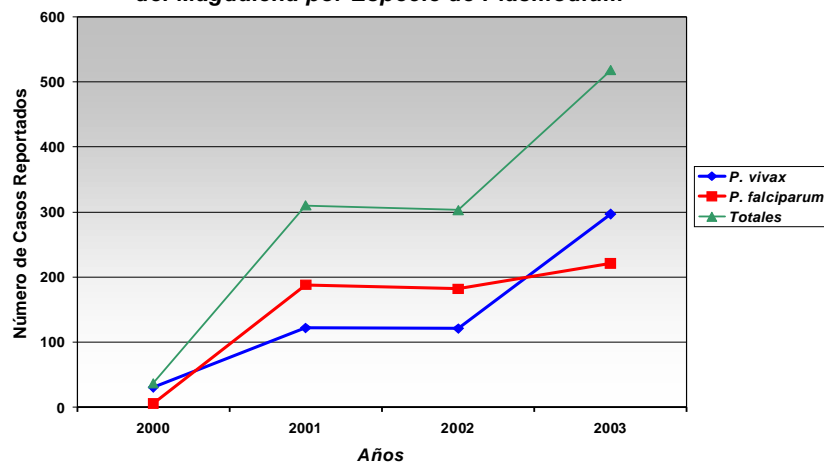
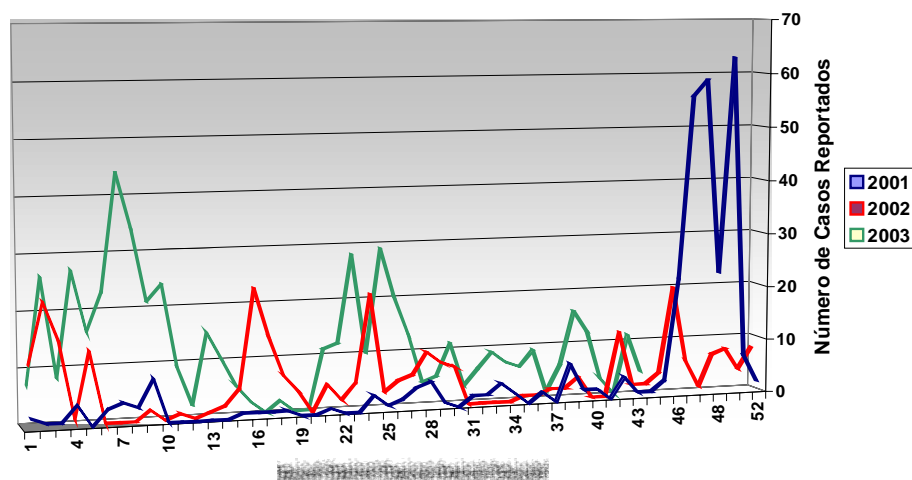


Figura 3: Tendencia de Casos de Malaria en el Departamento del Magdalena por Semana Epidemiologica



Las figuras 1, 2 y 3 se realizaron con los datos publicados por el Ministerio de Salud en los Informes Epidemiológicos Quincenales (www.ins.gov.co) de los años, 2000, 2001, 2002 y 2003. Para el 2003 solo se reportan datos hasta la semana epidemiológica número 42.

temperatura, la humedad relativa y la densidad de vectores anofelinos eficientes (figura 3). El desplazamiento de poblaciones provenientes de zonas endémicas también ha sido asociado con el aumento en el número de casos reportado en las zonas consideradas de bajo y mediano riesgo³.

Generalidades sobre el ciclo de vida del parásito *P. falciparum*.

Los parásitos del género *Plasmodium* se desarrollan en dos huéspedes, el mosquito vector *Anopheles*

sp y el humano. En el huésped humano ocurre la reproducción asexual del parásito y en el mosquito la sexual⁶.

Ciclo de vida asexual o esquizogónico: Este está constituido por una etapa exoeritrocítica y otra etapa eritrocítica. La primera comienza cuando la hembra del mosquito *Anopheles* inyecta esporozoitos en el torrente sanguíneo humano, aproximadamente en 30 minutos los esporozoitos llegan al hígado donde invaden a los hepatocitos y

comienzan su división asexual. Al completar esta etapa miles de merozoitos son liberados desde los hepatocitos a la sangre periférica. Este proceso toma entre 8-25 días para *P. falciparum* y de 8-27 días para *P. vivax*. En el caso de *P. vivax*, algunos esporozoitos pueden entrar en un período de hibernación llamado fase criptobiótica, en el cual ellos son llamados hypnozoitos y pueden estar latentes por meses o años.

La fase eritrocítica se da cuando los merozoitos que fueron liberados al torrente sanguíneo invaden a los eritrocitos mediante un proceso de invaginación. Dentro de los eritrocitos empiezan su división asexual pasando por varios estados de desarrollo: anillos, trofozoitos, esquizontes tempranos y esquizontes maduros. Cada esquizonte maduro origina entre 16-32 merozoitos que son liberados al torrente sanguíneo por lisis de los eritrocitos y que inmediatamente invaden a otros eritrocitos. Este ciclo repetitivo toma cerca de 48 horas en *P. vivax*, *P. ovale* y *P. falciparum* y 72 horas en *P. malariae*.

Todas las características clínicas de la malaria son causadas por la esquizogonia eritrocítica. El crecimiento progresivo del parásito consume y degrada proteínas intracelulares del eritrocito, principalmente hemoglobina, resultando en la formación del pigmento malárico. La lisis del eritrocito por los merozoitos se liberan ciertos factores de crecimiento y toxinas, los cuales inducen a la liberación de citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleuquina 1, por parte de los macrófagos. Estos eventos causan la aparición de escalofríos y de los estados febriles⁷.

Ciclo de vida sexual o esporogónico: Una pequeña porción de los merozoitos en los eritrocitos experimenta transformación a gametocitos: macho (microgametocitos) y hembra (macrogametocitos). Los gametocitos aparecen en la sangre periférica en periodos variables y se constituyen en la forma infectante del mosquito cuando este pica a un individuo infectado. Los gametocitos continúan su de-

sarrollo en el mosquito donde se fusionan y forman un cigoto, el cual posteriormente se transforma en un ookinete, que penetra en la pared del intestino del mosquito y se transforma en un oocito, el cual se divide asexualmente en numerosos esporozoitos que migran a las glándulas salivales del mosquito. La esporogonia en el mosquito toma de 10 a 20 días y el mosquito permanece infeccioso de 1 a 2 meses.

Medicamentos antimaláricos:

La eficacia de los medicamentos antimaláricos radica en su habilidad para inhibir o interrumpir funciones de vida esenciales para el parásito. De acuerdo con su eficacia frente a las diferentes formas del parásito los antimaláricos se pueden clasificar en⁸:

- ***Esquizonticidas Tisulares Primarios:*** Los medicamentos de esta categoría, utilizados en la profilaxis casual, actúan sobre las formas pre eritrocíticas del parásito (formas tisulares primarias o formas exo eritrocítica primarias) que en términos de un mes o menos inician la etapa eritrocítica de la infección. De este modo impiden por completo la invasión de los eritrocitos y la transmisión persistente de la infección. Pertenecen a esta clasificación la primaquina, utilizada en la prevención de recaídas y la cloroguanida o proguanil utilizado en la profilaxis causal.
- ***Esquizonticidas Hemáticos:*** Utilizados en la curación clínica y de supresión. Los medicamentos de este grupo actúan sobre las formas eritrocíticas asexuadas de los parásitos interrumpiendo la esquizogonia eritrocítica terminando así las manifestaciones clínicas. Los fármacos de esta clase también producen cura sorpresiva que denota la eliminación completa de parásitos del cuerpo por medio de terapia interrumpida. También actúan sobre las formas eritrocíticas sexuadas de *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae* pero no directamente sobre los gametocitos maduros de *P. falciparum*. Entre

los esquizotocidas de acción rápida esta la Cloroquina, Quinina y sus derivados similares como la quinidina y el amefloquina. La atovaquona, la artemisina y derivados también pertenecen a este grupo. Entre los esquizotocidas de acción lenta están los antifolatos, como las sulfonamidas y sulfonas, la pirimetamina, cloroguanida y la combinación pirimetamina/ sulfadoxina, esta última utilizada en casos de resistencia a cloroquina.

- **Gametocidas:** Actúan contra las formas eritrocíticas sexuales de los Plasmodium y así evitan la transmisión del paludismo a los mosquitos. La cloroquina y quinina poseen actividades gametocida contra *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae* en tanto que la primaquina tiene actividad especialmente potente contra *P. falciparum*.
- **Esporontocidas:** Los medicamentos de esta categoría previenen o inhiben la formación de ooquistes y esporozoitos en los mosquitos infectados impidiendo la transmisión de la malaria aunque no actúen directamente sobre los gametocitos en el huésped humano. La cloroquina es un ejemplo de este grupo de medicamentos con acción esporontocida.

Resistencia a antimalaricos:

Uno de los mayores problemas en el control de la malaria a nivel mundial es la propagación de la resistencia a antimalaricos llegando incluso a ser considerada como una de las principales causas del aumento en la morbilidad y mortalidad de la enfermedad en el mundo. La fármaco resistencia en la malaria se define como «la capacidad de los parásitos de una cepa para sobrevivir o multiplicarse a pesar de la administración y la absorción de un medicamento en las dosis iguales a las recomendaciones, o superiores a las que se prescriben habitualmente, pero comprendidas dentro de los límites de tolerancia del enfermo»⁹. La anterior definición nos indica que la resistencia es una caracterís-

tica del parásito, el cual es capaz de mutar de manera esporádica adaptándose a la droga. Otros mecanismos mediante los cuales el parásito puede evitar al medicamento son: alterando la permeabilidad la membrana celular o de sus organelos para dificultar la entrada de la droga o activando rutas metabólicas alternas.

A pesar de que la fármaco resistencia es un fenómeno que afecta a todas las especies de Plasmodium y se puede dar hacia todos los medicamentos, en la práctica la que ha tomado mayor interés en salud pública es la resistencia que *P. falciparum* ha desarrollado hacia los esquizotocidas hemáticos, como la cloroquina. Por décadas la cloroquina se constituyó en el prototipo de las drogas antimaláricas, usada ampliamente en el tratamiento de todos los tipos de infección malarica. La cloroquina es hasta ahora el medicamento antimalárico más económico y que produce menos efectos secundarios,⁹ sin embargo, en muchas áreas endémicas en el mundo, esta droga se a vuelto inefectiva debido a que el parásito ha desarrollado resistencia^{10,11}. En Colombia la resistencia a cloroquina se reportó por primera vez en el año de 1961¹² y su rápida propagación llevó al uso de otros antimaláricos para el tratamiento de la enfermedad, uno de ellos consiste en una combinación de Pirimetamina - Sulfadoxina (Fansidarr Hoffman-La Roche, Basel), medicamento al cual ya se ha reportado resistencia en varias zonas endémicas del mundo, incluida Colombia¹³⁻¹⁹.

Los mecanismos responsables del desarrollo de la resistencia a cloroquina y Sulfadoxina por parte del parásito aún no son bien entendidos, se cree que uno de los factores responsable podría ser la presión farmacológica ejercida por el uso masivo y la toma de niveles sub- óptimos de medicamentos, en la mayoría de los casos relacionado con incumplimiento en los regímenes de dosificación. Un estudio realizado en Brasil propone, como posible explicación para la alta prevalencia de genes asociados con resistencia a Sulfonas y Sulfonamidas el uso

indiscriminado y sin supervisión de estas drogas en el tratamiento de infecciones producidas por bacterias (*Streptococcus* spp, *Neisseria* spp y *Mycobacterium* spp), en algunas regiones endémicas para la malaria en ese país²⁰. Otro aspecto se relaciona con la aparición de cepas del parásito con genes de resistencia a los medicamentos. Factores intrínsecos como son las diferencias metabólicas individuales y cambios en la absorción gastrointestinal inducidos por la dieta o el uso de fármacos, parecen tener un papel importante para la resistencia a medicamentos²¹.

Actividad antimalárica de la Cloroquina: El mecanismo de acción de la cloroquina se fundamenta en la interferencia del fármaco sobre el mecanismo de digestión de la hemoglobina por parte del parásito. *P. falciparum* digiere la hemoglobina dentro de su vacuola digestiva, en donde la hemoglobina es hidrolizada, el producto de la hidrólisis es la ferrito porfirina IV, el cual es altamente tóxico para el parásito, dado que causa un aumento en la permeabilidad de sus membranas, conduciendo finalmente la lisis celular. Para evitar esto el parásito posee un mecanismo de desintoxicación, que consiste en la polimerización de la ferrito porfirina IV en hemozoína (un cristal inerte). La cloroquina actúa inhibiendo una de las enzimas involucradas en el proceso de desintoxicación y causando la muerte del parásito²².

La resistencia de *P. falciparum* a cloroquina a sido asociada con fallas en los mecanismos de acumulación del medicamento en el parásito, lo que resulta en la exclusión del medicamento de la acción local; por esta razón los estudios de mecanismos de resistencia a cloroquina se han enfocado en la búsqueda de mutaciones en genes codificantes para proteínas transportadores de membrana en el parásito. La resistencia a cloroquina se ha asociado a mutaciones en el gen *PfCRT* que codifica para una proteína transportadora localizada en la membrana de la vacuola digestiva del parásito. La presencia de un residuo de

Tirosina en la posición 76 de la proteína *PfCRT* ha sido asociada con resistencia a cloroquina, indicando que ella cumple un papel importante en la modulación de los niveles elevados de resistencia a este medicamento. Adicionalmente, mutaciones en otro gen, llamado *pfmdr1*, el cual codifica para otra proteína transportadora en la membrana de la vacuola digestiva del parásito ha sido asociado con la resistencia a Cloroquina²²⁻²⁴.

Actividad antimalárica de Pirimetamina-Sulfadoxina: La combinación pirimetamina sulfadoxina es uno de los pocos medicamentos alternativos en el tratamiento de las infecciones maláricas producidas por parásitos resistentes a cloroquina, que es económico, bien tolerado y cuya terapia consiste en una sola dosis oral²⁵. El mecanismo de acción de estos medicamentos es bien conocido, la pirimetamina es un inhibidor de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR) de *P. falciparum*, por su parte sulfadoxina actúa inhibiendo a la enzima dihidropteroato sintetasa (DHPS) del parásito. Ambas enzimas son componentes de la ruta biosintética de folatos, DHPS cataliza la condensación de ácido p-aminobenzoico (PABA) con el 6-hidroximetildihidroptereína pirofosfoquinasa para producir 7,8- dihidropteroato²⁶. *P. falciparum* genera la gran mayoría de sus folatos por síntesis de novo, por lo tanto la inhibición de DHFR y DHPS por Pirimetamina-Sulfadoxina produce una disminución de dTTP y por consiguiente una disminución en la síntesis de ADN. La actividad inhibitoria de la pirimetamina y la sulfadoxina se ve aumentada cuando se usan en combinación bloqueando la división celular del parásito.

La resistencia «In Vitro» se ha asociado con mutaciones puntuales en los genes que codifican para las enzimas DHFR y DHPS de *P. falciparum*. Experimentos de mutagénesis sitio dirigida han demostrado claramente que la resistencia a pirimetamina esta asociada con mutación en el aminoácido Serina a Asparagina en el codon 108 de DHFR. Además, el cambio de una Asparagina por una Isoleucina en el

codon 51 y de una Cisteína por una Arginina en el codon 59 se han asociado con un incremento de la resistencia. Un nivel alto de resistencia a pirimetamina ocurre en la presencia de la mutación puntual de Isoleucina por Leucina en el codon 164^{27,28}. La resistencia a sulfadoxina está, por su parte, relacionada con cambios en el aminoácido Alanina por Glicina en el codon 437 de DHPS. Además, se ha observado que cambios de una Serina a Fenilalanina o Alanina en el residuo 436, Alanina a Glicina en el residuo 581, lisina a glutamina en el residuo 540 y Alanina a Serina o Treonina en el codon 613, están asociadas con niveles altos de resistencia a sulfadoxina^{29,30}.

Técnicas para determinar la resistencia:

Test de Sensibilidad «in vitro»: Este es el método usado como estándar para monitorear la sensibilidad a los medicamentos antimaláricos y consiste en determinar el porcentaje de inhibición de la invasión y el desarrollo del parásito en presencia de los medicamentos³¹. El procedimiento se realiza sobre microplacas de titulación conteniendo micro cultivos sincrónicos de formas eritrocíticas maduras de *Plasmodium*. Los cultivos se realizan en un medio de cultivo apropiado suplementado con hipóxantina, HEPES, glucosa, antibióticos y plasma humano O⁺ y con un hematocrito de 5%. El ensayo parte de un cultivo con la parasitemia apropiada (número de glóbulos rojos infectados por el parásito) y como control usa un cultivo del parásito sin medicamento. EL porcentaje de inhibición se calcula con base en la relación entre la parasitemia calculada para cada cultivo con o sin medicamento y con las diferentes dosis del medicamento y se interpretan con base en una gráfica de dosis frente a la respuesta. Los resultados se expresan en CI₅₀.

Las pruebas de sensibilidad «in vitro» tienen como desventaja, requerir de condiciones adecuadas para la conservación de los parásitos, el cultivo y sincronización de los mismos, por lo que estarían restringidos a laboratorios con procedimientos

estandarizados y con experiencia en el desarrollo de las pruebas.

Técnicas Moleculares: Los técnicas moleculares han surgido como una alternativa para detectar en forma rápida cepas del parásito que podrían ser resistentes a antimaláricos³². Estas técnicas no requieren de grandes volúmenes de sangre infectada, ni de cultivo de parásitos, ya que el análisis puede realizarse a partir de una gota de sangre fijada en papel filtro o a partir de las láminas de diagnóstico.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una de las técnicas moleculares usada para el diagnóstico de la malaria y para detectar la presencia de mutaciones puntuales en genes del parásito, las cuales han sido asociadas con resistencia «In Vitro» a los antimaláricos³³. La técnica de PCR consiste en la amplificación de un fragmento del gen de interés donde se encuentran las mutaciones, para esto se utilizan oligonucleótidos sintéticos («iniciadores») cuya secuencia ha sido previamente diseñada con ayuda de los bancos de secuencias de genes como el GENBANK. Los productos de la amplificación se analizan mediante electroforesis de ácidos nucleicos. Generalmente la técnica de PCR se combina con otras herramientas de la biología molecular como es la restricción enzimática, en la cual los productos de PCR son sometidos a digestión con una enzima de restricción cuyo motivo de corte involucra el sitio de la mutación, de esta forma si la mutación esta presente la enzima no podrá cortar el fragmento^{34,35}. Recientemente una adaptación de la PCR fue diseñada para detectar en forma rápida secuencias que difieren en un solo par de bases, obviando el paso de la restricción enzimática y permitiendo el análisis de un gran número de muestras¹⁷.

Otra técnica que se usa junto con la PCR es la secuenciación, en este caso los productos de PCR son ligados inicialmente a un vector de secuenciación para luego ser analizados mediante secuenciación automatizada, según el método descrito por Sanger³⁶ y posteriormente analizada por electrofo-

resis capilar. Esta técnica permite obtener la secuencia del fragmento sobre la cual se pueden detectar las posibles mutaciones al alinearla con las existentes en las bases de datos del genoma de *Plasmodium*. La secuenciación del ADN ha sido empleada en estudios de la prevalencia a mutaciones en áreas con diferentes resistencias a pirimetamina y sulfadoxina²⁸, sin embargo sus costos limitan su uso en estudios epidemiológicos a gran escala.

Finalmente, para la investigación de la resistencia se ha empleado otra técnica molecular denominada mutagénesis sitio dirigida, que consiste en introducir cambios puntuales en los genes de interés y determinar experimentalmente como afectan estas mutaciones a la actividad de la enzima blanco²⁷.

Estudios In Vivo: Los estudios in vivo se constituyen en el método más seguro para detectar resistencia a antimalaricos, ya que se ha demostrado que la presencia de mutaciones en genes que codifican para las enzimas DHFR y DHPS no siempre se correlaciona con falla terapéutica a pirimetamina y sulfadoxina, lo que sugeriría que la falla terapéutica estaría relacionada con la progresiva acumulación de mutaciones en los genes implicados³³. Adicionalmente existen factores intrínsecos en el huésped que pueden influir en la resistencia, la interacción medicamento/ respuesta del huésped no puede ser detectada en las pruebas «*In vitro*». A este respecto, estudios realizados por el grupo de malaria de la Universidad de Antioquia sugieren que los altos niveles de parasitismo intestinal en la población rural del municipio de Turbo (Antioquia), pueden estar influyendo en la diferencias observadas de resistencia in Vitro y resistencia In vivo a Cloroquina¹⁹.

Los estudios de resistencia «*In vivo*» utilizan como criterios de resistencia parámetros clínicos y parasitológicos, por lo que los pacientes infectados deben someterse a un seguimiento continuo de la evolución de la enfermedad en un centro hospitalario. Durante la primera fase del estudio se determina el diagnóstico de la especie de *Plasmodium*, la parasitemia inicial y se le realiza un examen clíni-

co. También se tramita la correspondiente ficha epidemiológica donde se registran los datos sociodemográficos, profilaxis antimalarica, automedicación o toma de antimalaricos en días previos. Inmediatamente se le suministra el tratamiento en las dosis recomendadas, seguidamente son sometidos a exámenes clínicos y parasitológicos periódicos durante 14 días seguidos al tratamiento³⁷. La respuesta al tratamiento se evalúa de acuerdo a los parámetros clínicos y parasitológicos.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La malaria es una de las enfermedades parasitarias humanas de mayor incidencia mundial según la Organización Mundial de Salud. En Colombia la malaria es considerada uno de los problemas de salud pública en el 85% del territorio nacional, esto debido a factores como la ubicación y topografía del territorio Colombiano, la cual favorece la existencia de zonas geo- ecológicas con alta receptividad para la transmisión de la malaria; además, los conflictos sociales que se desarrollan en varias zonas del país generan desplazamientos de población que aumenta la vulnerabilidad y producen diferentes niveles de riesgo.

Uno de los grandes problemas de la malaria es el desarrollo de la resistencia por parte del parásito *Plasmodium* hacia los antimalaricos existentes. En Colombia los medicamentos más utilizados para el tratamiento de la enfermedad son cloroquina y la combinación pirimetamina- sulfadoxina, que se administra en casos de resistencia a cloroquina y a la cuál ya se ha reportado resistencia. Los estudios de resistencia a antimalaricos en Colombia están enfocados a algunas zonas endémicas de la región del Pacífico, Antioquia y la Amazonía, quedando aún sin conocer el comportamiento de la resistencia en otras regiones del país susceptibles a la enfermedad, como la costa caribe colombiana.

La detección en forma temprana de la resistencia a estos medicamentos se constituye en una priori-

dad para la implementación de medidas de intervención que eviten la dispersión de la malaria en Colombia. Las técnicas experimentales que se han desarrollado para la determinación de la resistencia van desde ensayos «*In vitro*» de sensibilidad a medicamentos, determinación de falla terapéutica mediante ensayos «*In vivo*», hasta técnicas moleculares que permiten identificar mutaciones en genes del parásito y que han sido asociados en otras instancias con resistencia a cloroquina, pirimetamina y sulfadoxina. Adicionalmente las técnicas moleculares pueden ser usadas para establecer polimorfismo genético de los parásitos circulantes, identificar infecciones mixtas, establecer y relacionar patrones genéticos con ubicación geográfica de cepas del parásito. Toda esta variedad de herramientas tienen como propósito generar conocimiento encaminado a la planeación de control de la enfermedad.

REFERENCIAS

- WHO - World Health Organization. Twelfth program report of the UNPD/World Bank/WHO special program for research and training in tropical disease (TDR). Bull World Health Organ 1996; 71:17-24.
- Organización Panamericana de Salud (OPS). Las condiciones de salud en las Américas. Publicación Científica 1996; 2:549.
- González A, Velondia MP, Acosta J, et al. Situación actual de las enfermedades transmisibles en Colombia y propuesta organizativa. M.N.S. – I.N.S. Informe quincenal epidemiológico Nacional, IQEN. 2000; 5(15):227-230.
- Ministerio Nacional de Salud- Instituto Nacional de Salud. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional, IQEN 2000; 5(24):382.
- Ministerio Nacional de Salud–Oficina de Epidemiología. Informe especial: Situación de las enfermedades transmisibles que son sujeto de vigilancia intensificada en salud pública, Colombia, 1999. Disponible en Internet: <http://www.saludcolombia.com/actual/salud45/informe.htm>
- Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humana. Corporación para investigaciones biológicas. Tercera edición, Medellín 2003.
- WHO The biology of malaria parasite. (WHO, Geneva) 1987.
- Clyde D.F. Quimioterapia del paludismo. 2ed. Medellín: Organización Mundial de la Salud. 1992; p.33, 84.
- Guía de atención de la malaria (On line): 2000. Disponible en Internet: <http://www.saludcolombia.com/actual/htmlnormas/ntmalaria.htm>
- WHO-World Health Organization. Expert Committee on Malaria. WHO Technical report Series 735 (WHO, Geneva) 1986.
- Bloland, P:B., Lackritz EM, Kazembe PN, Were JB, Steketee R, Campbell CC. Beyond Chloroquine: Implications of drug resistance for evaluating malaria therapy efficacy and treatment policy in Africa. J. Infect Dis. 1993; 167:932-937.
- Payne D. Spread of chloroquine resistance in *P. falciparum*. Parasitol. Today 1987; 3: 241-246.
- I,J, González. Resistencia de Plasmodium falciparum a los Antimalaricos en Colombia. Biomédica 2002; 22(Supl1)46.
- Nzila-Mounda A, Mberu EK, Sibley CH, Plowe CV, Winstanley PA. Kenyan *Plasmodium falciparum* field isolated: Correlation between pyrimethamine and Chlorocycloquanil activity in vitro and point mutations in the dihydrofolate reductase domain. Antimicrob. Agents Chemother 1998; 42(1):164-169.
- Nagesha HS, Din-Syafuruddin, Casey GJ, Susanti AI, Fryauff DJ, Reeder JC,. Mutation in the pfmdr1, dhfr and dhps genes of *Plasmodium falciparum* are associated with *in-vivo* drug resistance in West Papua, Indonesia. Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg. 2001; 95(1): 43-49.
- Biswas S, Escalante A, Chaiyaroj S, Angkasekwinai P, Lai A. Prevalence of point mutations in the dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthetase genes of *Plasmodium falciparum* isolates from India and Thailand: a molecular epidemiologic study. Trop Med Int Health 2000; 5(10): 737-743.
- Vasconcelos KE, Plowe CV, Fontes CJ, Kyle D, Wirth DF, pereira da Silva LH, Zalis MG. Mutations in *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase of isolates from the Amazon region of Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2000; 95(5):721-728.
- Osorio LE Giraldo LE, Garajales LF, Arriaga AL, Andrade AL, Ruebush TK,. Assessment of therapeutic response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine in an area of low malaria transmission in Colombia. Am. J. Trop: Med Hyg 1999; 61(6):968-72.
- Blair S, Lacharme L, Fonseca J, Tobon A. Resistance of *P. falciparum* to 3 antimalarials in Turbo (Antioquia, Colombia, 1998). Rev. Panam. Salud Publica. 2001; 9(1): 23.29.
- Cravo P, E.do Rosario V. Aspectos de genética da resistencia aos fármacos antimaláricos. Bio-medicina e Saúde Pública. 1996.
- Longwoeth DL. Drug resistant malaria in children and in travelers. Pediatr. Clin. North Am. 1995; 42:849-664.

22. Manoj Duraisingh T, Reed M, Hipgrave D. Analysis of PFCRT, PFMDR1, DHFR and DHPS Mutations and Drugs Sensitivities in *Plasmodium falciparum* Isolates From Patients In Vietnam Before and After Treatment With Artemisinin. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003; 68(3): 350-356.
23. Fidock DA, Nomura T, Talley AK, Cooper RA, Dzekunov SM, Ferdig MT, Ursos LM, Sidhu AB, Naude B, Deitsch KW, Su XZ, Wootton JC, Roepe PD, Wellems TE, 2000. Mutations in the *P falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol Cell* 6: 861–871.
24. Duraisingh MT, Roper C, Walliker D, Warhurst DC, 2000. Increased sensitivity to the antimalarials mefloquine and artemisinin is conferred by mutations in the *pfmdr1* gene of *Plasmodium falciparum*. *Mol Microbiol* 36: 955.
25. Ferone, R. Dihydrofolate reductase from pyrimethamine resistant *Plasmodium berghei*. *J. Biol. Chem* 1970; 245:850-854.
26. Brooks DR., Wang P, Read M, Walkins M, Sims PFG, Hyde JE. Sequence Variation Of The Hydroxymethylhydropterin Pyrophosphokinase: Dihydropterolate Synthase Gene In Lines Of The Human Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum* With Differing Resistance To Sulfadoxine. *Eur.J. Biochem.* 1994; 2:397-405.
27. Basco LK, Eldin de Pécoulas P, Le Bras J, Wilson CM. *Plasmodium falciparum*: molecular characterization of multidrug-resistant Cambodian isolates. *Ex Parasitol* 1996;82:97-103.
28. Basco LK, Eldin de Pécoulas P, Wilson CM, Le Bras J, Mazabraud A. Point mutations in the dihydrofolate reductase thymidylate synthase gene and pyrimethamine and cycloguanil resistance in *Plasmodium falciparum*. *Mol. Biochem. Parasitol* 1995; 69:135-138.
29. Triglia T, Cownan AF, Meting JG, Wilson C. Mutations in dihydropterolate synthase are responsible for sulfone and sulfonamide resistance in *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acade. Sci. USA.* 1997; 94:13944-13949.
30. Triglia T, Wang P, Sims PF, Hyde JE, Crowman. Allelic exchange at the endogenous genomic locus in *Plasmodium falciparum* proves the role of dihydropterolate synthase in sulfadoxine-resistant malaria. *EMBO J.* 1998;17:3807-3815.
31. World Health Organization. In vitro test (mark II) for assessment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, quinine, sulfadoxine/pyrimethamine and amodiaquine. Document MAP/87.2 revision 1, 1990.
32. Plowe CV, Djimde A, Wellems TE, Diop S, Kouriba B, Doumbo OK. Community pyrimethamine-sulfadoxine use and prevalence of resistant *Plasmodium falciparum* genotypes in Mali: a model for deterring resistance. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55: 467-471.
33. D' Alessandro U. Antimalarial Drug Resistance: Surveillance and Molecular Methods for National Malaria Control Programmes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2000; 93(5):627-630.
34. Eldin de Pécoulas P, Basco LK, Abdalak B, Djé MK, Le Bras J, Mazabraud A. *Plasmodium falciparum*: detection of antifolate resistance by specific restriction enzyme digestion. *Exp. Parasitol* 1995; 80:483-487.
35. Zindrou S, Dao D, Xuyen PT, Dung NP, Sy ND, Skold O, Swedberg G. Rapid detection of pyrimethamine susceptibility or *Plasmodium falciparum* by restriction endonuclease digestion of the dihydrofolate reductase gen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996; 5:185-188.
36. Sanger, F, Nicklen, S. & Coulson, A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1977;74, 5463-5467
37. WHO-World Health Organization. Assessment of therapeutic efficacy of antimalarial drugs for uncomplicated *falciparum* malaria in areas with intense transmission. WHO/MAL.1996; 1077.